

Streszczenie

Stwardnienie guzowate (ang. *tuberous sclerosis complex*, TSC) to wielonarządowa choroba genetyczna spowodowana mutacją w genach *TSC1* lub *TSC2*, kodujących białka hamartynę i tuberynę. Białka te tworzą kompleks hamujący aktywność kompleksu 1 kinazy mTOR (ang. *mechanistic target of rapamycin complex 1*, mTORC1). mTORC1 funkcjonuje jako ważny ośrodek integrujący wiele wewnątrz- oraz zewnątrzkomórkowych ścieżek sygnałowych. Do neurologicznych objawów TSC należą epilepsja, niezłośliwe guzy mózgu, oraz tzw. zaburzenia neuropsychiatryczne powiązane z TSC (ang. *TSC-associated neuropsychiatric disorders*, TANDs). Mianem TANDs określane jest szerokie spektrum zaburzeń poznawczych, behawioralnych oraz psychiatrycznych; między innymi, należą do nich zaburzenia lękowe oraz spektrum autyzmu (ang. *autism spectrum disorder*, ASD). Dokładne przyczyny występowania różnorodnych objawów TANDs u pacjentów z TSC nie zostały jeszcze w pełni poznane. W odniesieniu do uprzednio przeprowadzonych w naszym zespole badań, celem niniejszej rozprawy było odkrycie mechanizmów molekularnych leżących u podłoża atypowych zachowań zaobserwowanych w modelu TSC w danio pręgowanym (*tsc2^{vu242}*). Pierwszy rozdział dostarcza informacji dotyczących TSC oraz TANDs. W kolejnej części pracy (rozdziały 3-4) przedstawiono zalety danio pręgowanego jako modelu do badań nad epilepsją, oraz zaprezentowano nowoczesne metody analizy aktywności mózgu oraz testy behawioralne w danio pręgowanym. W rozdziale 5 wykazano mechanizm nieprawidłowej odpowiedzi na bodźce świetlne w wyniku nadmiernej aktywacji kinazy mTor w neuronach grzbietowej części lewej uzdeczki (ang. *left dorsal habenula*, LdHb). Przy pomocy przyżyciowego obrazowania mózgu stwierdzono, że w neuronach LdHb mutantów *tsc2^{vu242/vu242}* zaburzone jest przetwarzanie oraz habituacja do bodźców świetlnych. W rezultacie, larwy *tsc2^{vu242/vu242}* wykazują niższą preferencję światła w porównaniu do larw typu dzikiego. Potwierdzono również, że prewencyjne podanie inhibitora mTorC1, rapamycyny, uregulowało zarówno aktywność neuronów w LdHb, jak i reakcję na światło w teście jasnego-ciemnego pola. Wyniki te wskazują na potencjalny mechanizm prowadzący do nadwrażliwości na światło u pacjentów z ASD. Dodatkowo, w rozdziałach 6-7 zamieszczono dwie publikacje szczegółowo opisujące wykorzystaną w powyższej pracy metodologię barwień immunofluorescencyjnych oraz iniekcji rapamycyny bezpośrednio do mózgu. W rozdziale 8 zbadano rolę szlaku sygnałowego TrkB w zaburzeniach lękowych, oraz aktywność neuronów w obszarach przodomózgowia odpowiadających za lęk. Za pomocą testów behawioralnych potwierdzono nasilone zachowania lękowe u mutantów *tsc2^{vu242/vu242}*, oraz ich odwrócenie pod wpływem inhibitora szlaku TrkB, ANA-12. W mózgu mutantów *tsc2^{vu242/vu242}* znaleziono również obszary o niższej lub wyższej aktywności w porównaniu do ryb typu dzikiego. Podanie ANA-12 wpłynęło na aktywność wielu z tych obszarów, wskazując na kluczową rolę szlaku TrkB w regulacji lęku. Obszary te zostały wstępnie zidentyfikowane jako części ciała migdałowatego na podstawie ich lokalizacji oraz ekspresji wybranych markerów. Dotychczas, szeroko zakrojone badania porównujące morfologię i funkcjonowanie ciała migdałowatego u ssaków oraz danio pręgowanego prowadzone były na osobnikach dorosłych. Niniejsze badania, skupione na rozwijającym się mózgu larw *tsc2^{vu242}*, dostarczają zatem nowych informacji o wczesnym podłożu zaburzeń lękowych. W ostatnim rozdziale przedyskutowano wnioski oraz potencjalne kierunki przyszłych badań dotyczących wybranych zaburzeń towarzyszących TSC. Podsumowując, wyniki tej pracy przedstawiają nowo odkryte mechanizmy prowadzące do wybranych zaburzeń z grupy TANDs, oraz mogą posłużyć za punkt wyjścia do dalszych badań nad etiologią ASD i zaburzeń lękowych w stwardnieniu guzowatym.