

Dystrofia mięśniowa Duchenna (DMD) jest najczęstszą neuro-mięśniową chorobą genetyczną człowieka. Jest ona spowodowana brakiem dystrofiny na skutek mutacji w genie kodującym to białko. Gen dystrofiny zlokalizowany jest na chromosomie X, a zatem choroba dotyka jedynie chłopców z częstością ok. 1 na 5000 urodzin. Brak dystrofiny prowadzi do stopniowego zaniku mięśni, który pojawia się od samego początku życia i nasila się wraz ze zwiększaniem się aktywności fizycznej dziecka prowadząc do całkowitej niesprawności i przedwczesnej śmierci. Dystrofina jest obecna w wielu typach komórek ale zagrażające życiu skutki braku pełnowymiarowej dystrofiny (tkankowo specyficzne krótsze formy dystrofiny nie zastępują białka o pełnej długości) są spowodowane poważną dysfunkcją mięśni. Dlatego uwaga naukowców i lekarzy szukających metod leczenia DMD skupia się na jej mięśniowych objawach. Dystrofina jest zlokalizowana po wewnętrznej stronie sarkolemy i jest przyłączona do kompleksu białek błonowych zwanych kompleksem DAP (ang. *dystrophin-associated proteins*) oraz do szkieletu aktynowego komórki zbudowanego z filamentów aktynowych i mikrotubul. To stwarza połączenie między cytoszkieletem a błoną komórkową i poprzez kompleks DAP ze środowiskiem pozakomórkowym. Taka struktura wzmacnia błonę komórkową podczas skurczu mięśnia. Jej brak jest ważnym ale nie jedynym czynnikiem w patologii DMD. Wiadomo bowiem, że zaburzenie homeostazy wapniowej komórek, które nie może być wyjaśnione wprost uszkodzeniem błony komórkowej jest traktowane jako istotny czynnik powodujący dysfunkcje mięśni. Jedną z powszechnie występujących cech dystrofii zarówno u myszy *mdx* (zwierzęcy model dystrofii Duchenne'a) jak i u ludzi chorujących na DMD jest stopniowe zwłóknienie i kalcyfikacja (wapnienie) mięśni. W efekcie komórki mięśniowe są zastępowane przez fibroblasty i adipocyty oraz minerały wapnia. Ostatecznie masa mięśni jest pozornie niezmieniona (a nawet powiększona) natomiast rzeczywista objętość mięśnia i jego wydolność oraz potencjał regeneracyjny są dramatycznie zmniejszone. Mimo intensywnych badań pochodzenie komórkowe złogów wapnia w mięśni dystroficznych jest nadal niepewne i wydaje się być efektem procesów bardzo złożonych. W istocie nasze wstępne doświadczenia dotyczące tego zagadnienia doprowadziły nas do nieoczekiwanych wyników i zainspirowały do dalszych poszukiwań. Dlatego głównym celem niniejszego projektu jest zidentyfikowanie źródła kalcyfikacji mięśni myszy *mdx* i ostateczne wskazanie procesów biochemicznych leżących u jej podstaw. W oparciu o dane piśmiennictwa oraz nasze wstępne wyniki sformułowaliśmy kilka hipotez roboczych wyjaśniających to zjawisko. Przede wszystkim skupiliśmy naszą uwagę na anomaliach dotyczących siateczki śródplazmatycznej (tzw. stres retikularny) oraz na zaburzeniach homeostazy wapniowej szczególnie związanych ze zwiększoną aktywnością receptora P2X7 (jest to jeden z jonotropowych receptorów nukleotydowych), którego „usunięcie” zapobiega mineralizacji mięśni myszy *mdx*. W doświadczeniach wykorzystujemy „nieśmiertelne” mioblasty i miotuby pochodzące od myszy prawidłowych i *mdx*, a także mioblasty w hodowlach pierwotnych, pochodzące od myszy prawidłowych, *mdx* oraz *mdx* pozbawionych receptora P2X7. Planujemy wykorzystanie szeregu nowoczesnych metod biochemicznych i molekularnych w celu zidentyfikowania komórek odpowiedzialnych za kalcyfikację mięśni (przede wszystkim bierzemy pod uwagę mioblasty i miotuby, nie wykluczając jednak badania także innych komórek, jeżeli okaże się to konieczne) oraz wyjaśnienia biochemicznych podstaw mineralizacji mięśni i opisanie szlaków sygnałowych zaangażowanych w ten proces. Uwzględnimy też niejednorodność metaboliczną mięśni. Uważamy, że osiągnięcie tych celów będzie oznaczało wyjaśnienie interesującego zjawiska biologicznego, które poprzez ścisły związek z rzeczywistą chorobą człowieka jest dodatkowo bardzo ciekawe poznawczo. O ile rola stresu retikularnego w procesie kalcyfikacji tkanek miękkich jest dobrze udokumentowana, to potencjalny funkcjonalny związek między tym stresem a deregulacją homeostazy wapniowej spowodowanej zwiększoną wrażliwością receptora P2X7 w komórkach *mdx* w kontekście kalcyfikacji jest koncepcją zdecydowanie nowatorską. Projekt ten jest kontynuacją naszych wcześniejszych badań nad DMD prowadzonych we współpracy z prof. Dariuszem Góreckim z University of Portsmouth w Wielkiej Brytanii.