

Molekularne mechanizmy niewydolności serca w dystrofii mięśniowej Duchenne'a i Beckera

Dystrofia mięśniowa Duchenne'a (DMD) to nieuleczalna choroba rozwijająca się u około 1 na 5000 chłopców w wieku około 2-5 lat, powodująca utratę zdolności poruszania się we wczesnym wieku nastoletnim i nieuchronnie prowadząca do śmierci, obecnie najczęściej w drugiej lub trzeciej dekadzie życia. DMD spowodowana jest mutacjami w genie dystrofiny (*DMD*), znajdującym się w chromosomie X. Jest to największy z genów człowieka, a liczba znanych mutacji prowadzących do całkowitego braku tego białka wynosi obecnie ponad 7000. Ponieważ kobiety posiadają dwa chromosomy X, a mężczyźni tylko jeden, choroba ujawnia się u chłopców, w sytuacji, gdy matka przekazuje synowi zmutowany chromosom X. Jednak w znacznej części przypadków (około 30%) mamy do czynienia z mutacjami *de novo*.

Brak dystrofiny, niezbędnej dla prawidłowego funkcjonowania mięśni szkieletowych, oddechowych (przepony) oraz serca, a także w pewnym stopniu układu nerwowego prowadzi w pierwszej kolejności do uszkodzenia mięśni kończyn. Postęp choroby, który może być częściowo powstrzymany przez stosowanie kortykosterydów, prowadzi nieuchronnie do utraty zdolności chodzenia w wieku 10-15 lat. Zajęcie mięśni oddechowych upośledza także oddychanie, które obecnie wspomagane jest przez mechaniczną wentylację, niemniej brak dystrofiny powoduje uszkodzenie komórek mięśnia sercowego, rozwój kardiomiopatii i w konsekwencji niewydolność serca.

Oprócz wspomnianych kortykosterydów brak jest leków skutecznie powstrzymujących rozwój choroby. Stosowane terapie nie poprawiają także funkcji mięśnia sercowego pacjentów z DMD. Z tych powodów istnieje potrzeba dogłębnego zbadania mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój kardiomiopatii w DMD. W zgłaszanym projekcie podejmiemy się tego zadania wykorzystując strategię indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC) – metodę opracowaną przez prof. Shinya Yamanakę z uniwersytetu Kioto w Japonii, wyróżnionego za to odkrycie Nagrodą Nobla w roku 2012. Wykorzystując łatwo dostępne komórki (np. białe krwinki), poprzez odpowiednie (przejściowe) manipulacje genetyczne możemy je przekształcić do komórek iPSC, a te następnie różnicować do kardiomiocytów – kurczliwych komórek mięśnia sercowego, a także komórek śródbłonna (tworzących naczynia w sercu) i fibroblastów (innej ważnej populacji komórek w sercu). Uzyskując w ten sposób komórki iPSC a następnie komórki serca pacjentów z DMD będziemy badać ich właściwości (ekspresję genów) i porównywać z komórkami zdrowymi. Zbadamy także właściwości podobnie uzyskanych komórek od pacjentów z dystrofią Beckera – rzadszą i łagodniejszą chorobą, w której mutacja w genie dystrofiny nie powoduje całkowitej utraty białka, lecz powstanie jego skróconej formy. Uzyskamy również komórki iPSC od matek – nosicielek zmutowanego genu DMD. W badaniach wykorzystamy także najnowsze techniki inżynierii genetycznej – tzw. edytowanie genetyczne, które pozwalają na precyzyjną naprawę mutacji. Uzyskane dane będziemy porównywać z wynikami badań przeprowadzonych na modelu zwierzęcym dystrofii – tzw. myszach *mdx*, które także pozbawione są dystrofiny, a wykorzystując ponadto nasze ostatnio opracowane modele, sprawdzimy, w jaki sposób brak innych genów wpływa na rozwój kardiomiopatii u myszy *mdx*.

Uzyskane wyniki z badań iPSC oraz modeli zwierzęcych będą podstawą do przeprowadzenia próby terapii komórkowej kardiomiopatii, polegającej na podaniu do serca myszy *mdx* ludzkich funkcjonalnych kardiomiocytów (zawierających dystrofinę), a także kardiomiocytów dodatkowo wzbogaconych w geny, których ochronne właściwości odkryliśmy w dotychczasowych badaniach oraz tych, które okażą się przydatnym celem terapeutycznym na podstawie analizy komórek różnicowanych z iPSC.

Według naszej wiedzy będą to pierwsze tak wszechstronne badania mechanizmów kardiomiopatii w DMD. Spodziewamy się, że uzyskane wyniki pozwolą na lepsze zrozumienie procesów prowadzących do śmierci pacjentów z DMD z powodu niewydolności serca, a tym samym umożliwią w przyszłości znalezienie nowych sposobów przynajmniej częściowego leczenia tej dramatycznej choroby.