

Rola utrofiny w kardiomiopatii towarzyszącej dystrofii mięśniowej Duchenne'a

Dystrofia mięśniowa Duchenne'a (DMD) jest chorobą genetyczną spowodowaną mutacjami w genie kodującym dystrofinę – białko odpowiedzialne za połączenie cytoszkieletu z kompleksem glikoproteinowym znajdującym się w błonie komórkowej (głównie komórek mięśniowych). Brak dystrofiny prowadzi do uszkodzenia tej błony, a w konsekwencji degeneracji komórek mięśniowych i postępującego, nieodwracalnego zaniku mięśni. Choroba dziedziczona jest w sposób sprzężony z płcią, zatem chorują przede wszystkim chłopcy. Pierwsze objawy pojawiają się około 3-5. roku życia i są one związane z osłabieniem mięśni szkieletowych – trudnościami w podnoszeniu się, wchodzeniu po schodach czy bieganiu. W rezultacie w wieku ok. 10 lat pacjenci z DMD przestają samodzielnie chodzić i zaczynają poruszać się na wózku inwalidzkim. W dalszym przebiegu choroby (około 20. roku życia) dochodzi do rozwoju niewydolności oddechowej i niewydolności serca (kardiomiopatii), która jest główną przyczyną śmierci pacjentów. DMD jest chorobą nieuleczalną. W celu złagodzenia objawów choroby oraz wydłużenia funkcjonalnego stanu pacjentów stosuje się glukokortykoidy, natomiast żaden rodzaj farmakoterapii nie wykazuje właściwości leczących. W dodatku mechanizmy kardiomiopatii nie są do końca znane. W celu modelowania tej choroby w warunkach *in vitro* wykorzystywane są ludzkie indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (iPSC). Takie komórki otrzymywane są z łatwo dostępnych komórek somatycznych – pobranych zwykle z wycinka skóry lub kilku mililitrów krwi obwodowej, a następnie mogą być różnicowane do kardiomiocytów, czyli przekształcone z komórek macierzystych w bardziej wyspecjalizowane komórki obecne w mięśniu sercowym. W niniejszym projekcie zaplanowano zbadanie roli utrofiny, homologu dystrofiny o bardzo podobnej strukturze i funkcji, w patogenezie kardiomiopatii u pacjentów z dystrofią mięśniową Duchenne'a. W związku z tym projekt ten przewiduje wyprowadzenie linii komórek iPSC z mutacją w genie kodującym dystrofinę i jednocześnie ze zwiększoną ekspresją utrofiny przy pomocy systemu CRISPR/Cas9, nowoczesnej strategii wykorzystywanej do modyfikowania genomu. Jako kontrole zostaną wykorzystane komórki posiadające mutację w dystrofinie bez nadekspresji utrofiny oraz kontrole, wyjściowe komórki bez żadnych modyfikacji genetycznych. Następnie komórki będą różnicowane do kardiomiocytów i zostaną w nich porównane właściwości elektrofizjologiczne oraz aktywność kanałów jonowych, a także ekspresja wybranych małych, niekodujących cząsteczek RNA - mikroRNA, zaangażowanych w procesy związane z niewydolnością serca. Ponadto zaplanowano także sprawdzenie potencjału terapeutycznego komórek z nadekspresją utrofiny po podaniu ich do uszkodzonego mięśnia sercowego myszy *mdx/utr^{-/-}*, posiadających mutacje w genach kodujących dystrofinę oraz utrofinę i będących modelem DMD. Standardowo jako zwierzęcy model DMD wykorzystuje się myszy *mdx*, które posiadają mutację w genie dla dystrofiny, natomiast poziom utrofiny pozostaje u nich niezmienny. U ludzi utrofina ekspresjonowana jest tylko w okresie prenatalnym, po urodzeniu jej poziom zanika, gdyż zastępowana jest przez dystrofinę. Ta różnica ma także odzwierciedlenie w dotkliwości objawów – u myszy *mdx* uszkodzenie mięśni pojawia się nieco później, ponadto nie rozwijają one tak ciężkiej postaci kardiomiopatii, a długość ich życia nie ulega dużemu skróceniu. Uważa się więc, że utrofina może pełnić funkcje kompensujące brak dystrofiny i stanowić potencjalne rozwiązanie terapeutyczne dla pacjentów z DMD. Dotychczasowe badania przeprowadzone w kontekście regeneracji mięśni szkieletowych potwierdziły korzystne działanie tego białka, natomiast potencjał terapeutyczny utrofiny w ludzkim sercu nie został jeszcze dobrze poznany. Zaplanowane doświadczenia i uzyskane wyniki pozwolą na poszerzenie wiedzy o roli utrofiny w sercu oraz zweryfikowanie potencjału terapeutycznego nadekspresji utrofiny w ludzkich kardiomiocytach po podaniu do serca modelowych myszy, a także pozwolą na poszukiwanie nowych podejść terapeutycznych w kardiomiopatii towarzyszącej dystrofii mięśniowej Duchenne'a.