

Dystrofia miotoniczna typu 2 (DM2) i typu 1 (DM1) to najczęstsze formy dystrofii mięśniowej u ludzi. Są one związane z mutacjami prostych powtarzalnych sekwencji zwanych mikrosatelitami. Są to choroby postępujące i śmiertelne, związane z zaburzeniami nerwowo-mięśniowymi. Mutacją odpowiedzialną za DM2 jest ekspansja powtórzeń CCTG w pierwszym intronie genu CNBP; natomiast DM1 jest związana z ekspansją powtórzeń CTG w nieulegającym translacji regionie genu DMPK (3'-UTR). U pacjentów z DM2 powtórzenia CCTG przekraczają kilka tysięcy kopii, podczas gdy osoby zdrowe mają do 26 powtórzeń. U pacjentów z DM1 powtórzenia sięgają często setek, a nawet tysięcy kopii. Patogeneza DM2 i DM1 jest związana z zaburzeniami metabolizmu transkryptów niosących mutacje CCUG i CUG (mutRNA). Przejawia się ona w ich jądrowej akumulacji w charakterystycznych ogniskach (foci), co ma niekorzystny wpływ na funkcje komórki. Wyzwała to serię nieprawidłowości, które obejmują wiązanie i sekwestrowanie różnych białek n.p. białek z rodziny muscleblind (MBNL). Zubożenie funkcjonalnej puli tych białek na skutek wiązania do wydłużonych powtórzeń prowadzi m.in. do nieprawidłowości w splicingu pre-mRNA, który jest charakterystyczną cechą patogenezy w DM2 i DM1. Obecnie nie ma lekarstwa ani skutecznej formy zatrzymania lub odwrócenia postępu tych chorób. Jednak najnowsze badania opublikowane w Science Translation Medicine wskazują na możliwość opracowania terapii przy użyciu niskocząsteczkowych związków chemicznych. W hodowlach komórek pochodzących od pacjentów DM1 odnotowano złagodzenie symptomów patogenezy gdy poddawano je działaniu inhibitorów kinaz białkowych. Podobne wyniki otrzymano na mysim modelu tej choroby. Szczególnie skuteczne okazało się targetowanie jednej z kinaz cyklicznych t.j. CDK12. Co istotne, wstępne testy in vitro na komórkach DM2 również wykazały złagodzenie objawów towarzyszących patogenezie pod wpływem niskocząsteczkowych związków chemicznych. Biorąc pod uwagę te najnowsze wyniki badań, konieczne jest przeprowadzenie wyskoprzepustowych testów przesiewowych na różnej grupie związków w celu wybrania cząsteczek o najwyższej aktywności. Punktem wyjścia do opracowania terapii dla DM2 będzie określenie spektrum zmian molekularnych łagodzących objawy molekularne DM2. Główny cel projektu: Wyskoprzepustowe testy przesiewowe na różnych bibliotekach związków chemicznych w hodowanych ludzkich fibroblastów DM2 i wybór cząsteczek najsilniej redukujących ogniska CCUG RNA. Podstawowe zadania projektu: **a)** pierwszorzędowe badanie przesiewowe związków niskocząsteczkowych w komórkach DM2 pod kątem ich wpływu na redukcję ognisk CCUG RNA; **b)** drugorzędowe badania przesiewowe wybranych związków uzupełnione o analizę ich cytotoksyczności w komórkach DM2; **c)** trzeciorzędowe badania przesiewowe i wybranie najbardziej aktywnych i najmniej toksycznych związków do dalszych analiz molekularnych; **d)** charakterystyka biomarkerów molekularnych patogenezy DM2 w komórkach hodowanych z wyselekcjonowanymi cząsteczkami. Uzasadnienie podjęcia problemu nabadawczego: Proponowane badanie stanowi część większego projektu mającego na celu zbadanie skuteczności niskocząsteczkowych związków chemicznych w chorobach neurodegeneracyjnych człowieka, związanych z ekspansjami sekwencji mikrosatelitarnych. Wstępne wyniki wskazały, że traktowanie komórek DM2 związkami chemicznymi wywoływało zmiany molekularne wyrażone jako złagodzenie niektórych objawów patogenezy. Dlatego konieczne jest kontynuowanie badań i wyjaśnienie zakresu tych zmian molekularnych. Oczekiwane rezultaty: Wyniki tego projektu będą miały wielowymiarowy i dalekosiężny wpływ na badania nad zaburzeniami neurologicznymi człowieka na polu podejść terapeutycznych. W szczególności: a) pomoże w znalezieniu skutecznych form terapii w chorobach takich jak DM2; b) dostarczy nowej podstawowej wiedzy i zwiększy zrozumienie przyczyn i podstawowych mechanizmów DM2 i innych chorób neurodegeneracyjnych; c) umożliwi odkrycie nowych biomarkerów patogenezy, które będą pomocne szerokiej społeczności naukowej badającej zaburzenia neurologiczne u ludzi.