

Dystrofia mięśniowa Duchenne'a (DMD) jest najczęściej występującą dziedziczną chorobą mięśniową. Jest spowodowana całkowitym brakiem dystrofiny na skutek mutacji w genie kodującym to białko. Gen dystrofiny jest zlokalizowany na chromosomie X, a zatem DMD dotyka jedynie chłopców z częstością 1 na 3500-5000 żywych urodzeń. Brak dystrofiny prowadzi do postępującego osłabienia mięśni, które pojawia się jako pierwszy objaw i nasila się wraz ze zwiększaniem się aktywności fizycznej dziecka, doprowadzając do poważnej niesprawności i ostatecznie przedwczesnej śmierci. Dystrofina występuje w różnych tkankach i narządach, jednakże zagrażające życiu konsekwencje jej braku wynikają z poważnej dysfunkcji mięśni. Gen dystrofiny jest największym w genomie człowieka. Zawiera siedem miejsc promotorowych, to znaczy, że jego transkrypcja może rozpocząć się w siedmiu różnych miejscach. Trzy z nich położone są bardzo blisko siebie na początku genu i kodują mRNA, którego translacja prowadzi do wytworzenia białka o masie 427 kDa. Pozostałe cztery miejsca promotorowe położone dalej „wewnątrz genu” dystrofiny są odpowiedzialne za syntezę krótszych wersji dystrofiny. Ich wytwarzanie (podobnie jak białka dp427) wykazuje specyficzność tkankową i narządową. Rola krótszych dystrofin nie jest w pełni poznana, ale nie mogą zastąpić białka dp427. To bardzo duże białko występuje w mięśniach, mózgu i komórkach Purkiniego w mózdzku. Jest zlokalizowane po cytoplazmatycznej stronie błony sarkoplazmatycznej i jest łącznikiem między wielobiałkowym kompleksem zwanym DAP (od ang. nazwy Dystrophin Associated Proteins) a filamentami aktynowymi i mikrotubulami cytoszkieletu. Dzięki temu tworzy się połączenie między cytoszkieletem a białkami macierzy pozakomórkowej oddziałującymi od zewnątrz z i białkami kompleksu DAP znajdującym się w błonie sarkoplazmatycznej włókna mięśniowego. Uważa się, że zwiększa to wytrzymałość mechaniczną sarkolemy i zapobiega uszkodzeniom błony plazmatycznej w czasie skurczu. Zerwanie tych połączeń jest niewątpliwie ważne w patologii DMD, ale nie oznacza to braku udziału innych mechanizmów w rozwoju dystrofii. DAP tworzy tzw. rusztowanie molekularne dla wielu innych białek. Wśród nich są specyficzne receptory hormonów i czynników wzrostowych oraz białka ważne dla utrzymywania wewnątrzkomórkowej homeostazy jonów wapnia. Ca^{2+} mają kluczowe znaczenie w wewnątrzkomórkowej sygnalizacji we wszystkich komórkach ssaków, a zatem regulacja ich lokalnego stężenia wewnątrz komórki jest bardzo istotna. Zaburzenie homeostazy wapniowej przynajmniej częściowo tłumaczy także pozamięśniowe konsekwencje braku dystrofiny w tym zaburzenia procesów poznawczych. Chociaż główną przyczyną niesprawności i przedwczesnej śmierci pacjentów z DMD jest niewydolność mięśniowa lub w późniejszym okresie choroby kardiomiopatia, brak dystrofin(y) w innych narządach i tkankach, w tym w śródbłonku naczyniowym może powodować dodatkowe dolegliwości. Śródbłonek naczyniowy uczestniczy w relaksacji naczyń krwionośnych i regulacji przepływu krwi, a zatem jego prawidłowe funkcjonowanie jest ważne z punktu widzenia całego organizmu. Dysfunkcja śródbłonka powoduje zwiększenie przepuszczalności naczyń, zaburzenie procesów zależnych od tlenu azotu, zmiany prozakrzepowe i prozapalne, które są wspólną cechą większości chorób sercowo naczyniowych. Dane literaturowe wskazują, że mutacje genu dystrofiny powoduje upośledzenie angiogenezy, co może ograniczać dostarczanie krwi do regenerującego mięśnia. Mechanizm ten jest rozważany jako jeden z istotnych elementów w patofizjologii DMD. Nie jest jednak oczywiste, które warianty dystrofiny występują w komórkach śródbłonka. Śródbłonkowa kontrola przepływu krwi jest w dużym stopniu zależna od wewnątrzkomórkowej sygnalizacji wapniowej i regulowana przez czynniki indukujące odpowiedź wapniową w komórkach śródbłonka. Komórki ssaków zawierają wiele białek, które są molekularnymi narzędziami umożliwiającymi kontrolowany przepływ Ca^{2+} przez błony wewnątrz komórki i błonę plazmatyczną, a także buforowanie i magazynowanie jonów wapnia oraz odpowiadanie na zmiany ich stężenia zmianą aktywności biologicznej. Również mitochondria mogą przejściowo buforować Ca^{2+} i modulować sygnał wapniowy w komórce. W śródbłonku jest to relatywnie najważniejsza funkcja mitochondriów, ponieważ zapotrzebowanie na ATP jest pokrywane w większości przez glikolizę. Poprzednio pokazaliśmy szereg anomalii dotyczących odpowiedzi wapniowej w dystroficznych mioblastach myszy, a zatem komórkach mięśniowych jeszcze nie zróżnicowanych w pełni i nie kurczących się. Opisałiśmy wiele zmian dotyczących białek bezpośrednio uczestniczących w utrzymywaniu homeostazy wapniowej, a także zmian metabolizmu mitochondriów. Podobne zmiany wykryliśmy w komórkach śródbłonek traktowanych różnymi czynnikami patogennymi, w których zawsze dochodziło do zwiększenia stężenia Ca^{2+} w cytosolu. Na podstawie tych obserwacji stawiamy hipotezę, że zmiany funkcjonalne opisywane w śródbłonku w warunkach DMD są w dużej mierze spowodowane zaburzoną sygnalizacją wapniową. Uważamy, że zidentyfikowanie tych zaburzeń rzuci nowe światło na rozumienie dystrofii Duchenne'a jako choroby systemowej. Proponowany projekt ma charakter podstawowy i znaczenie poznawcze. Ale uzyskane informacje mogą być ważne w projektowaniu procedur terapeutycznych, które chociaż nie usuną przyczyny dystrofii to mogą opóźnić i złagodzić jej przebieg. Wszystkie planowane doświadczenia będą prowadzone na pierwotnych komórkach śródbłonkowych izolowanych myszy dystroficznych u których gen dystrofiny jest zmutowany w różny sposób. Wierzymy, że otrzymane wyniki będą publikowalne w prestiżowych czasopiśmie naukowych.