

## **DYSTROFIE MIĘŚNIOWE SPOWODOWANE USZKODZENIAMI BIAŁEK SARKOLEMMY I BŁONY PODSTAWNEJ**

MUSCULAR DYSTROPHIES DUE TO DISORDERS  
IN SARCOLEMMAL AND BASAL LAMINA PROTEINS

Mirosława FERENS-SIECZKOWSKA

Katedra Chemii i Immunochemii Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich  
we Wrocławiu

*Streszczenie:* Dla integralności komórki mięśnia niezbędna jest znaczna liczba białek, a genetycznie uwarunkowane zaburzenia ich syntezy prowadzą do dystrofii mięśniowych, chorób związanych z postępującym zwyrodnieniem mięśni szkieletowych, prowadzącym do niepełnosprawności. Niekiedy dochodzi także do uszkodzenia mięśni oddechowych, co może być przyczyną przedwczesnej śmierci. Współdziałanie białek umiejscowionych wewnątrz komórki z rezydującymi w sarkolemmie i błonie podstawnej zapewnia prawidłowe połączenie i komunikację komórki mięśniowej z jej zewnętrznym środowiskiem. Dobrze poznanym mechanizmem dystrofii typu Duchenne'a i Beckera jest niedobór dystrofiny, peryferyjnego białka wewnętrznej strony sarkolemmy. Równie istotne znaczenie mają białka integralne sarkolemmy oraz zewnątrzkomórkowe, których zadaniem jest zakotwiczenie komórek w macierzy. Deficyt białek błony podstawnej, kolagenu i lamininy, skutkuje dystrofią mięśniową Ullricha, miopatią Bethlem i merozynozależną wrodzoną dystrofią mięśniową MDC1A. Wśród białek sarkolemmy dystrofie mięśniowe powodują uszkodzenia sarkoglikanów, kompleksu czterech białek stabilizujących strukturę kompleksu glikoprotein związanych z dystrofina, a także integryn. Odrębną grupę schorzeń stanowią dystroglikanopatie, wywołane zmienioną glikozylacją dystroglikanu. Poznanie mechanizmów leżących u podstaw tej zróżnicowanej grupy chorób pozwala mieć nadzieję na opracowanie terapii umożliwiających tworzenie metabolicznych pomostów omijających wadliwe białka, ograniczających postępy choroby i niepełnosprawność pacjentów.

*Słowa kluczowe:* dystrofia mięśniowa, błona podstawna, sarkoglikan, dystroglikan, integryny, laminina, kolagen, kompleks glikoprotein związanych z dystrofina.

*Summary:* Muscular cell integrity is assured by a number of proteins of different structure, function and localization. Their defective synthesis of genetic background results in muscular dystrophies. In these diseases progressive damage of skeletal muscle leads to disability, and in some cases affection of respiratory muscles may be a cause of early death. There is no doubt now that proper muscle function demands undisturbed collaboration of a great number of proteins, located inside the cell as well as in sarcolemma and extracellular matrix. This collaboration ensures appropriate indispensable communication of the muscle

cells with their external environment. Molecular background is well known for the most common Duchenne muscular dystrophy and Bethlem myopathy, both resulting from a damage of dystrophin. Less is known about sarcolemmal and extracellular matrix proteins. Defects in collagen VI and laminin, proteins responsible for a proper anchoring of the cell in extracellular matrix, result in Ullrich muscular dystrophy, Bethlem myopathy and merosin-dependent muscular dystrophy MDC1A. Among proteins localized in sarcolemma, defects resulting in muscular dystrophies were found in integrins and a complex of sarcoglycans, four proteins responsible for stabilization of dystrophin-glycoprotein complex in the cell membrane. A special group of muscular dystrophies called dystroglycanopathies is a result of defective glycosylation of  $\alpha$ -dystroglycan. Uncovering the molecular background of muscular dystrophies brings a hope for novel therapies, creating molecular by-passes omitting defective proteins and limiting disease progress and patients disability.

*Key words:* muscular dystrophy, basal lamina, dystroglycan, sarcoglycan, integrin, laminin, collagen, dystrophin glycoprotein complex.

*Wykaz skrótów:* **BM** – miopatia Bethlem; **CMD** – wrodzona dystrofia mięśniowa; **CNX** – kalneksyna; **CRT** – kalretikulina; **DG** – dystroglikan; **DGC** – kompleks glikoprotein związanych z dystrofiną; **ECM** – macierz zewnątrzkomórkowa; **ER** – siateczka śródplazmatyczna; **ERAD** – system degradacji białek związany z siateczką śródplazmatyczną; **FCMD** – twarzowo-szczękowa dystrofia mięśniowa; **LGMD** – kończynowo-obręczowa dystrofia mięśniowa; **LM** – laminina, **MDC1A** – merozyno-zależna dystrofia mięśniowa; **MEB** – dystrofia mięśniowo-oczno-mózgowa; **MMP** – metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej; **NOS** – syntaza tlenu azotu; **SG** – sarkoglikan; **UCMD** – dystrofia mięśniowa Ullricha.

## WSTĘP

Mianem dystrofii mięśniowych określa się wrodzone schorzenia, związane z postępującym osłabieniem i zwyrodnieniem mięśni poprzecznie prążkowanych. Do grupy tej zalicza się obecnie około 30 jednostek chorobowych o różnym przebiegu [18, 26, 30, 31, 33]. Dla klinicystów użyteczne kryteria diagnostyczne dotyczą wieku, w którym pojawiają się pierwsze objawy, stopnia zajęcia określonych grup mięśni, a także tempa progresji choroby. Takie też kryteria obowiązują w klasyfikacji dystrofii mięśniowych, zatwierdzonej przez Światową Organizację Zdrowia [26, 33]. W zależności od konkretnej jednostki chorobowej objawy mogą pojawiać się w niemowlęctwie bądź też w późniejszym okresie życia. Do najwcześniejszych objawów zalicza się uogólnioną wiotkość dziecka, której często towarzyszą przykurcze pewnych stawów i równocześnie nadmierna ruchomość innych. W innych przypadkach (dystrofia mięśniowa Duchenne'a) pierwszym niepokojącym objawem może być opóźnienie dziecka w stosunku do rówieśników w opanowaniu kolejnych umiejętności motorycznych: siedzenia bez podparcia, raczkowania, chodzenia, biegania. Z czasem postępujące zwyrodnienie mięśni uniemożliwia samodzielne chodzenie i przykuwa pacjenta do wózka inwalidzkiego. Ostry przebieg choroby może obejmować także osłabienie mięśni oddechowych. W tym przypadku powikłania prowadzą zazwyczaj do przedwczesnego zgonu [11]. Niektóre dystrofie mięśniowe mają przebieg zdecydowanie łagodniejszy (dystrofia mięśniowa Beckera): pacjenci, choć nie w pełni sprawni ruchowo, pozostają względnie samodzielni i osiągają bliską przeciętną długość życia [30].

Najczęstsza postać choroby, dystrofia mięśniowa Duchenne'a oraz dystrofia Beckera o łagodniejszym przebiegu, będące wynikiem uszkodzenia tego samego genu dystrofiny, zostały dobrze poznane i opisane [11, 16, 19, 49]. W ostatniej dekadzie wzrasta zainteresowanie znaczeniem innych niż dystrofina białek w patogenezie dystrofii mięśniowych. Część z nich umiejscowiona jest w sarkolemmie, inne w błonie podstawnej, a ich oddziaływanie umożliwiają właściwe przekazywanie sygnałów pomiędzy komórką a jej wewnętrznym środowiskiem.

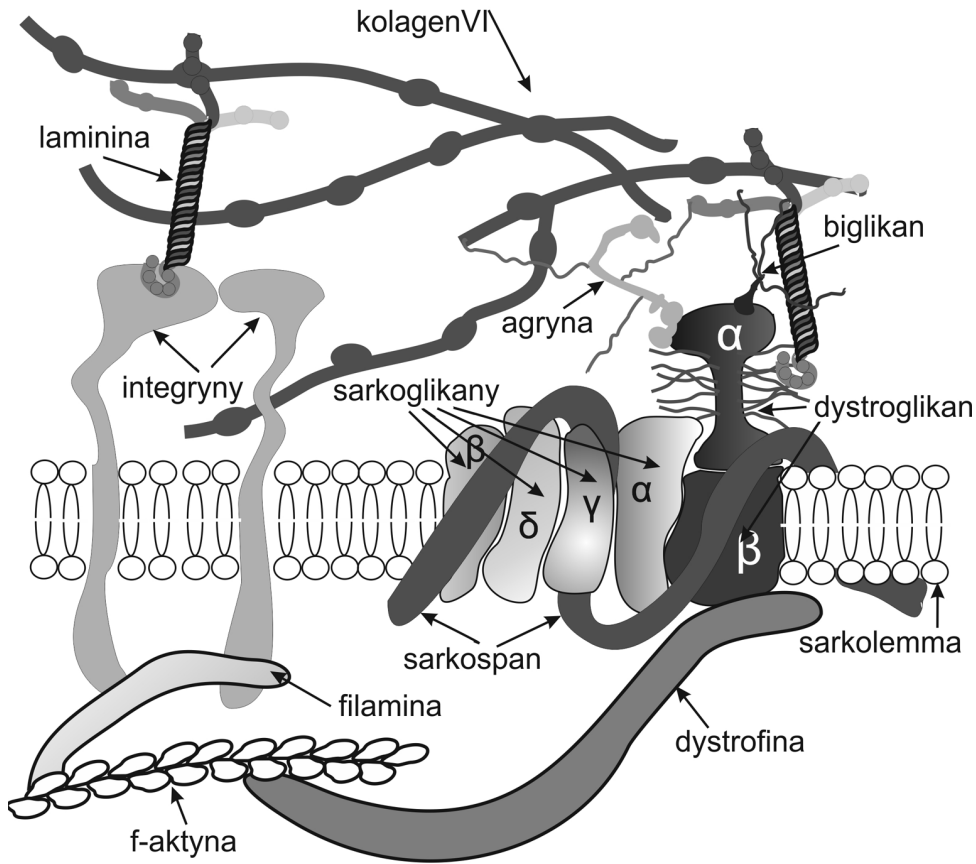
Dane eksperymentalne wskazują, że także w przypadku białek błonowych i zewnątrzkomórkowych dystrofie traktowane dotąd jako różne jednostki chorobowe mogą być związane z różnymi mutacjami tego samego genu, które w niejednakowym stopniu wpływają na dysfunkcyjność białka i tym samym przebieg choroby [28, 30, 34]. Z drugiej strony w obrębie klasyfikowanych łącznie dystrofii o zbliżonym obrazie klinicznym identyfikuje się całkowicie odmienne mechanizmy molekularne [13, 33, 47].

Szczególną grupę dystrofii mięśniowych stanowią dystroglukanopatie, omówione we wcześniejszym artykule [20]. Schorzenia te są związane z zaburzeniami glikozylacji  $\alpha$ -dystroglukanu. W tym przypadku uszkodzeniu nie ulega samo białko błony komórkowej, a enzymy umożliwiające jego unikalną potranslacyjną modyfikację.

## ODDZIAŁYWANIE KOMÓRKI MIĘŚNIOWEJ Z BŁONĄ PODSTAWNĄ I JEJ ELEMENTAMI

Prawidłowe funkcjonowanie komórki mięśniowej związane jest z właściwym działaniem mechanizmu przekazania sygnałów pomiędzy zewnętrznym środowiskiem komórki a jej wnętrzem, a także zachowania integralności sarkolemmy mimo silnych naprężeń będących wynikiem skurczu mięśnia. W procesach tych bierze udział znaczna ilość białek i proteoglikanów, umiejscowionych w macierzy zewnątrzkomórkowej i błonie podstawnej, w błonie komórki mięśniowej (sarkolemmie), a także we wnętrzu komórki. Rycina 1 przedstawia podstawowe białka, które odgrywają rolę w utrzymaniu prawidłowego funkcjonowania komórki mięśniowej.

Zintegrowana z wewnętrzną stroną sarkolemmy jest dystrofina, pośrednicząca w oddziaływaniu białek membranowych z aktyną cytoszkieletu komórki. Jej prawidłowa struktura umożliwia interakcje filamentów aktynowych z  $\beta$ -dystroglukanem, integralnym białkiem błony komórki mięśniowej [19]. Wśród integralnych białek błonowych na uwagę zasługują integryny oraz wieloelementowy kompleks glikoprotein związanych z dystrofiną – DGC (*dystrophin glycoprotein complex*) [1]. W jego skład wchodzi dystroglukan w formie dwóch podjednostek  $\alpha$  i  $\beta$  o różnej strukturze, funkcji i lokalizacji błonowej, cztery białka sarkoglikanów ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$ ) oraz sarkospan [2, 7, 17]. Osobną grupą białek istotnych dla procesu komunikacji komórki mięśniowej z otoczeniem są te umiejscowione w macierzy zewnątrzkomórkowej. Położona peryferyjnie po zewnętrznej stronie sarkolemmy podjednostka  $\alpha$ -dystroglukanu odpowiada za kontakt z białkami błony podstawnej – lamininą i kolagenem [5, 26, 46].



RYCINA 1. Białka odpowiedzialne za integralność i funkcjonowanie komórki mięśnia szkieletowego. Fragment ryciny związany z glikozylacją dystroglikanu został wykorzystany we wcześniejszym artykule [20]

FIGURE 1. Proteins responsible for muscle integrity and proper function. A part of this figure, concerning dystroglycan glycosylation, was presented in the previous article [20]

Błona podstawna stanowi nie tylko mechaniczną podporę i skuteczną barierę fizyczną, ale poprzez system złożonych oddziaływań decyduje o losie komórki, zarządzając kaskadą procesów przekazywania sygnału z zewnątrzkomórkowego środowiska do wnętrza komórki i odwrotnie [26, 32, 33]. Jej wewnętrzną warstwę stanowi sieć włókien kolagenowych połączonych z lamininą bezpośrednio lub poprzez elementy sieciujące, których funkcję pełnią niewielkie proteoglikany: perlekan, biglikan i agryna, a także białko nidogen [8, 18, 40, 53].

Uszkodzenie któregośkolwiek z opisanych wyżej elementów jest przyczyną dezintegracji komórki mięśniowej, które w aspekcie klinicznym obserwujemy jako osłabienie funkcji mięśni szkieletowych zaliczane do dystrofii mięśniowych. W tym opracowaniu chcę skupić uwagę czytelnika na oddziaływaniach po zewnątrzkomórkowej stronie sarkolemmy i znaczeniu właściwego połączenia komórki mięśniowej z błoną podstawną dla prawidłowego funkcjonowania mięśni szkieletowych oraz znaczeniu zaburzeń tych oddziaływań w patomechanizmach chorób mięśni.

## KOLAGEN TYPU VI. DYSTROFIA ULRICHA I MIOPATIA BETHLEM

Kolagen VI budują trzy polipeptydy:  $\alpha 1$ -VI,  $\alpha 2$ -VI (oba o masach około 140 kDa) oraz  $\alpha 3$ -VI (około 260–300 kDa), będące produktami trzech genów *COLA1-3* [28, 34]. Centralna część każdego z nich zawiera liczne sekwencje Gly-X-Y, gdzie w pozycji Y często pojawia się podlegająca hydroksylacji prolina. Taka sekwencja umożliwia zwinięcie się łańcuchów wokół siebie z utworzeniem charakterystycznej potrójnej helisy. Fragment superhelikalny jest flankowany z obu stron domenami globularnymi. Ich liczba w różnych łańcuchach i ich wariantach allelicznych jest różna. Łańcuchy  $\alpha 1$  i  $\alpha 2$  zawierają po 2 globularne domeny C-końcowe i 1 N-końcową; łańcuch  $\alpha 3$  może zawierać od 6 do 10 domen globularnych we fragmencie N-końcowym [5, 6, 27, 28]. Domeny te często podlegają glikozylacji. Powstały w ten sposób monomer kolagenu asocjuje w antyrównoległy dimer o tendencji do skręcania się w superhelisę, stabilizowany dodatkowo mostkami disiarczkowymi w regionie superhelikalnym. Dimery tworzą tetramer, wydzielany poza komórkę. W przestrzeni zewnątrzkomórkowej tetramery kolagenu VI asocjują w obrębie globularnych domen N-końca, tworząc włókienkowe struktury z powtarzalnymi co około 100 nm zgrubieniami o wyglądzie nanizanych na nitkę koralików. Włókienka kolagenu VI mogą tworzyć rozgałęzioną sieć. N-końcowe domeny kolagenu VI silnie oddziałują z domenami C-końca kolagenu IV, mocując tym samym błonę podstawną i jej elementy do otaczającej tkanki łącznej [5, 6]. Kolagen VI oddziałuje także z kolagenami I, II i XIV oraz proteoglikanami: perlekanem, biglikanem i dekoryną. Obok roli molekularnego „kleju” coraz częściej sugeruje się udział tego białka w przekazywaniu sygnałów, prawdopodobnie właśnie poprzez interakcje z glikozoamino-glikanami proteoglikanów.

Mutacja w obrębie każdego z trzech kodujących składowe kolagenu VI genów prowadzi do dystrofii mięśniowej Ulricha (UCMD) lub, w łagodniejszej postaci, miopatii Bethlem (BM) [28, 29, 39]. Mięśnie pacjentów z UCMD charakteryzują się słabym napięciem, wręcz wiotkością i zawierają znaczne ilości tkanki łącznej. Charakterystyczne objawy to przykurcze w stawach proksymalnych, a nadmierna ruchomość w stawach dystalnych, znaczna wiotkość palców przy niewielkim osłabieniu w obrębie dużych mięśni. Szorstka skóra na udach i przedramionach przypomina papier ścierny, podczas gdy na dłoniach i podszwach stóp jest gładka i jedwabista. Dzieci z UCMD, które we wczesnym dzieciństwie chodzą, tracą tę umiejętność, kiedy stają się wyższe i cięższe, inne nigdy nie opanowują umiejętności chodzenia. Z wiekiem narastają także problemy oddechowe i częstość infekcji, wskazane staje się wspomaganie respiracji zwłaszcza nocą. Miopatia Bethlem jest chorobą łagodnie postępującą; szacuje się, że około 2/3 pacjentów po 50-tym roku życia potrzebuje wspomagania w chodzeniu [28, 30].

W obu opisywanych typach dystrofii w badaniach laboratoryjnych obserwuje się niewielki wzrost poziomu kinazy keratynowej w surowicy. Zmiany mikroskopowe mają charakter niespecyficzny, nie dają się wykorzystać w diagnostyce różnicowej. Pewnych informacji może dostarczać histochemiczne barwienie bioptatów w

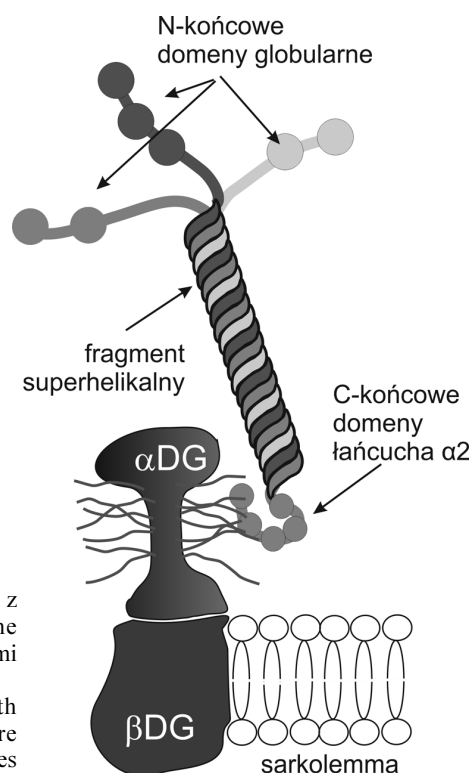
celu wykazania obecności kolagenu VI, ale brak białka stwierdza się tylko w UCMD, a nie w BM [28].

W obrębie trzech genów kodujących kolagen VI opisano ponad 60 mutacji różnego typu. U pacjentów z UCMD najczęściej obserwuje się delecje, duplikacje i insercje zmieniające ramkę odczytu i skutkujące przedwczesną terminacją białka. W BM mamy do czynienia z substytucjami pojedynczych aminokwasów niszczącymi motyw Gly-X-Y lub delecjami *in frame*, które utrudniają lub uniemożliwiają asocjację łańcuchów polipeptydowych w stabilne dimery i tetramery [28, 29, 39]. Co ciekawe, w UCMD dziedziczenie ma charakter recesywny, w BM opisywane jest jako cecha dominująca. [4, 27].

## LAMININA I DYSTROFIE MEROZYNOZALEŻNE

Lamininy stanowią kolejny kluczowy składnik błony podstawnej, zaangażowany w jej organizację i architekturę. Ich oddziaływanie między sobą oraz z innymi białkami regulują zachowanie przylegających komórek: ich różnicowanie, migrację i właściwości adhezyjne. Zróżnicowanie funkcji laminin strukturalnie osiągnane jest przez zmienną ekspresję 16 izoform [3, 44, 46].

Lamininy są heterotrimerami łańcuchów  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ . Natywna cząsteczka osiąga rozmiary od 400 do 900 kDa, jest uglikozylowana i przyjmuje charakterystyczny kształt miecza. Dotychczas opisano 5 rodzajów łańcuchów  $\alpha$ , 4 łańcuchy  $\beta$  i 3 łańcuchy  $\gamma$ . W procesie transkrypcji, na skutek alternatywnego składania genów, mogą zostać utworzone ich dodatkowe warianty. Nazewnictwo laminin wywodzi się od rodzaju łańcuchów, wchodzących w skład danej cząsteczki [3, 44]. I tak, LM 523 oznacza glikoproteinę zbudowaną z łańcuchów  $\alpha 5$ ,  $\beta 2$  i  $\gamma 3$ . W każdym łańcuchu lamininy (ryc. 2) można wyróżnić fragmenty struktury o kształcie globularnym i pałeczkowatym (*rod-like*), a także fragment tworzący w natywnej cząsteczce superhelisę, zbudowaną z owiniętych wokół siebie łańcuchów  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ . Ten fragment stanowi długie ramię cząsteczki lamininy, a dodatkowo stabilizują go łączące łańcuchy mostki disiarczkowe. Trzy krótkie ramiona to N-końcowe części łańcuchów, składające się z domen globularnych połączonych pałeczkowatymi łącznikami [35, 46]. Lamininy mają zdolność do wapniozależnej niekowalencyjnej polimeryzacji poprzez N-końcowe globularne domeny poszczególnych łańcuchów, zwłaszcza łańcuchów  $\beta$  i  $\gamma$ . Taka autopolimeryzacja prowadzi do utworzenia sieci izoform lamininy, stanowiącej zrąb formującej się błony podstawnej [32, 35, 44]. Lamininy o skróconych ramionach, np. 322, nie są zdolne do autopolimeryzacji, mogą jednak tworzyć sieci z innymi izoformami (311 i 321), a także z kolagenem VII poprzez łańcuch  $\beta 3$ , a z nidogenem, fibuliną i kolagenem VII poprzez łańcuch  $\gamma 2$ . Połączenie z nidogenem umożliwia włączenie lamininy do sieci kolagenu IV [26]. Za interakcje laminin z komórkami i elementami ECM odpowiadają domeny globularne, umiejscowione zarówno w C-, jak i N-końcowej części białka. Na C-końcu łańcucha  $\alpha$  znajduje się pięć homologicznych domen LG1-LG5, każda zbudowana z około



RYCINA 2. Struktura lamininy i jej oddziaływanie z  $\alpha$ -dystroglukanem: C-końcowe domeny globularne lamininy zapewniają oddziaływanie z oligosacharydami  $\alpha$ -dystro-glikanu

FIGURE 2. Laminin structure and interaction with  $\alpha$ -dystroglycan: C-terminal domains of laminin are responsible for binding of  $\alpha$ -dystroglycan oligosaccharides

180–210 reszt aminokwasowych. Odpowiadają one za oddziaływania z ligandami na powierzchni komórki: integrynami i  $\alpha$ -dystroglukanem. Swoiste wiązanie lamininy do  $\alpha$ -dystroglukanu wymaga tandemowego oddziaływania domen LG 1 i 3 lub LG4 i 5, a proteolityczne usunięcie LG 4 i 5 zmienia zdolność wiązania laminin do komórek [35, 46].

W obrębie ER poszczególne podjednostki lamininy są kotranslacyjnie N-glikozylowane, a sekwony umożliwiające przyłączenie oligosacharydu znajdują się głównie w obrębie części N-końcowej. Ilość miejsc glikozylacji w poszczególnych izoformach jest różna. Składanie trimera rozpoczyna się od utworzenia stabilnego połączenia łańcuchów  $\beta$  i  $\gamma$ , z tym dimerem dopiero może połączyć się łańcuch  $\alpha$ . Trimer jest przenoszony do cystern aparatu Golgiego, gdzie finalizowany jest proces glikozylacji. Po jego zakończeniu kompletne cząsteczki są wydzielane poza komórkę i składowane w błonie podstawnej [35, 43, 46]. Proces dojrzewania białka kończą wspomniane wyżej modyfikacje proteolityczne, w których partycypują głównie metaloproteiny (MMP2, MT1MMP, BMP1) i plazmina. Interakcje laminin z komórkowymi, zarówno integrynowymi, jak i nieintegrynowymi receptorami, są kluczowe dla stabilnego zakotwiczenia komórki w błonie podstawnej. Utrata domen globularnych odpowiedzialnych za wiązanie ligandów (LG4 i LG5, fragmentu C-końcowego łańcucha  $\alpha$ 3) może prowadzić do „uwolnienia” komórek i umożliwiać ich poruszanie się. Ten dynamiczny mechanizm ma znaczenie w regulacji proce-

sów fizjologicznych i patologicznych, w tym gojenia zranień oraz rozprzestrzeniania się inwazyjnych komórek nowotworowych [43, 46, 53].

W mięśniach oraz połączeniach nerwowo-mięśniowych dominują lamininy zawierające łańcuch  $\alpha 2$ : 211, 221 i 213. Deficyt łańcucha  $\alpha 2$  laminin, zwanego także merozyną, wynikający z mutacji genu kodującego odpowiednie białko, powoduje wrodzoną dystrofię mięśniową MDC1A [33, 44]. Ten typ schorzenia stanowi 30–40% wszystkich przypadków CMD. Choroba dziedziczona jest w sposób autosomalny recesywny. Obraz kliniczny, jak na tę grupę schorzeń, jest wyjątkowo jednorodny: niedowład obserwuje się już u noworodków, we wczesnym dzieciństwie pojawiają się przykurcze stawów, brak zdolności do samodzielnego stania i chodzenia. U większości pacjentów nie obserwuje się zahamowania rozwoju umysłowego. Rzadkim zjawiskiem w MDC1A jest osłabienie mięśni oddechowych [33, 44].

U homozygotycznych doświadczalnych myszy *knock-out* w obrębie genu *LAMA2* powoduje ciężką dystrofię mięśni i zaburzenia mielinizacji w centralnym układzie nerwowym, prowadzące do śmierci pomiędzy 6–16 tygodniem życia [44]. W ostatnich latach zaobserwowano zarówno u myszy, jak i u ludzi z deficytem merozyny wzrost ekspresji izoformy lamininy zawierającej łańcuch  $\alpha 4$ . Być może pozwala to na częściową kompensację niedoboru łańcucha  $\alpha 2$ , jako że LM 411 wiąże się zarówno do integryn, jak i  $\alpha DG$ , jednak z mniejszym niż LM 211 powinowactwem. Skrócone N-końcowe fragmenty ramion LM411 uniemożliwiają także samopolimeryzację białka [32, 43, 53]

Łańcuch  $\alpha 2$  lamininy ma dwa główne receptory na powierzchni komórki:  $\alpha DG$  i integrynę  $\alpha 7 \beta 1$ .

## INTEGRYNOZALEŻNA DYSTROFIA MIĘŚNIOWA

Integryny są białkami transmembranowymi o strukturze heterodimeru złożonego z łańcuchów  $\alpha$  i  $\beta$ . W błonie komórkowej mięśnia sercowego i mięśni szkieletowych obecna jest integryna  $\alpha 7 \beta 1$ , przy czym łańcuch  $\alpha 7$  podlega ekspresji przede wszystkim w tych tkankach [9, 10, 33]. Integryny stanowią łącznik pomiędzy elementami ECM i wnętrzem komórki. I tak, po stronie zewnątrzkomórkowej oddziałują z lamininami o łańcuchach  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  i  $\alpha 4$ . Po stronie wewnątrzkomórkowej w interakcji integryny z cytoszkieletem aktynowym pośredniczą talina i filamina C [18]. Mutacje w obrębie genu kodującego łańcuch  $\alpha 7$  integryn opisano dotychczas u czterech niespokrewnionych pacjentów o zróżnicowanych objawach klinicznych, niezdolnych do samodzielnego chodzenia w wieku kilku lat [22, 33]. Homozygotyczne myszy z *knock-outem* w obrębie genu, choć żywotne i płodne, wykazywały objawy postępującej dystrofii w obrębie mięśni szkieletowych, a także ich połączeń ze ścięgnami [24]. Integrynowe połączenie pomiędzy włóknem mięśniowym a macierzą zewnątrzkomórkową jest niezależne od kompleksu DGC. Co więcej wydaje się, że to połączenie może częściowo kompensować dysfunkcję połączenia cytoszkieletu aktynowego z ECM *via* dystroglikan i dystrofina, na co



wskazuje zarówno wzmożona ekspresja integryny  $\alpha7\beta1$  u pacjentów z uszkodzonym kompleksem dystrofinowo-glikoproteinowym, jak i badania modelowych myszy z wyciszonym genem dystrofiny i nadekspresją integryny  $\alpha7\beta1$  [22, 24, 33].

## SARCOGLIKAN I JEGO ROLA

Kompleks sarkoglikanów obecny w mięśniach szkieletowych i w mięśniu sercowym tworzą cztery zakotwiczone w membranie białka: SG  $\alpha$  (50 kDa),  $\beta$  (43 kDa),  $\gamma$  (35 kDa) i  $\delta$  (35 kDa) [2, 25, 42, 45]. Są to białka integralne sarkolemy, z krótkim odcinkiem wewnątrzkomórkowym, pojedynczą domeną transmembranową oraz wielką częścią zewnątrzkomórkową, podlegającą N-glikozylacji i zakończoną kłosem konserwatywnych reszt cysteinowych. Poszczególne sarkoglikany zawierają od 1 do 3 potencjalnych miejsc glikozylacji, konserwatywnych ewolucyjnie, choć prawdopodobnie nie wszystkie z nich są obsadzone w natywnym białku. W odcinku wewnątrzkomórkowym zidentyfikowano sekwencję aminokwasów, która potencjalnie może stanowić miejsce fosforylacji. SG  $\alpha$  jest białkiem transmembranowym typu I, to jest z zewnątrzkomórkowym N-końcem, pozostałe – typu II [2, 25, 42]. W przeciwieństwie do dystroglikanu, obecnego w różnych tkankach, sarkoglikany znajdujemy wyłącznie w mięśniach, przy czym składowe kompleksu różnią się w mięśniach gładkich i poprzecznie prążkowanych.

Subkompleks sarkoglikanów jest ściśle związany z głównym kompleksem glikoprotein związanych z dystrofiną (DGC), niezbędnym dla zachowania integralności sarkolemy [1]. Tworzenie kompleksu inicjuje ściśle wiązanie  $\beta$  SG do podjednostki  $\delta$ , do tych dwóch równie ściśle przyłącza się białko  $\gamma$ , a następnie, nieco luźniej,  $\alpha$  [25, 45]. Dokładny sposób przyłączenia podjednostki  $\alpha$  nie jest jasny. N-glikozylacja wydaje się kluczowa dla trwałego ulokowania kompleksu w błonie.

Po stronie cytoplazmatycznej kompleks sarkoglikanów partycypuje w wiązaniu dystrofiny, łącznika pomiędzy sarkolemą i cytoszkieletem aktynowym [1, 2, 48]. W tej interakcji bierze także udział specyficzna dla komórek mięśniowych forma filaminy. Subkompleks sarkoglikanów jest stabilizowany w błonie przez oddziaływanie z sarkospanem [17], kolejnym białkiem transmembranowym, którego rola nie została dostatecznie wyjaśniona. Szczególnie istotna wydaje się w mięśniach gładkich, w których SG  $\alpha$  i  $\beta$  są nieobecne [2, 15]. Postulowanymi wewnątrzkomórkowymi ligandami SG są dystrobrewina, syntrofina i syntaza tlenu azotu neuronów (nNOS) [19, 37, 52]. Uważa się, że w oddziaływaniu sarkoglikanów z dystroglikanem bierze udział także biglikan, proteoglikan ECM [40]. Oczywistym zadaniem sarkoglikanów jest stabilizowanie struktury DGC poprzez oddziaływania z jego licznymi składnikami, postuluje się jednak także udział sarkoglikanów w transdukcji sygnału, o czym świadczyć może interakcja z nNOS, a potencjalnie także z ATPazą, dla której miejsce wiążące stwierdzono na podjednostce  $\alpha$  [52]. Rolą kompleksu SG wydaje się szczególnie przenoszenie naprężeń związanych ze skurczem mięśnia do ECM w taki sposób, aby uchronić sarkolemę przed uszkodzeniem. Ważną

sprawą dla wypełnienia tej funkcji wydaje się nie tylko obecność poszczególnych białek, ale prawidłowa asocjacja kompleksu w sarkolemnie [1, 25, 38, 45].

Białka czterech sarkoglikanów muszą być syntetyzowane jednocześnie. W ER system kontroli jakości ułatwia fałdowanie aż do osiągnięcia prawidłowej, natywnej konformacji. W procesie tym uczestniczą lektynowe białka opiekuńcze: kalneksyna (CNX) i kalretikulina (CRT). W czasie przejścia przez cysterny aparatu Golgiego podjednostki SG asocjują do błony komórkowej. Kompleks, istniejący w ER niezależnie od pozostałych elementów DGC, asocjuje z nimi już w czasie przemieszczania się w kierunku błony komórkowej, a w momencie włączenia do błony dołączana jest do niego dystrofina, która jako peryferyjne białko przyłączone do wewnętrznej powierzchni sarkolemmy pełni funkcję łącznika pomiędzy błoną i cytoszkieletem komórki [2, 25, 38, 45]. Tylko pełny, multimeryczny kompleks może być zignorowany przez system ubikwitylacji i degradacji proteasomowej, a zatem uznany za prawidłowy.

Obecnie dystrofie spowodowane przez deficyty sarkoglikanów, określa się wspólnym mianem sarkoglikanopatii. Pod względem klinicznym zaliczane są one do grupy obręczowo-kończynowych dystrofii mięśniowych (LGMD). Mutacje prowadzące do niedoboru któregośkolwiek z czterech białek są przyczyną czterech spośród około 18 podtypów LGMD [13, 21, 42]. Postępujące osłabienie dotyczy mięśni proksymalnych obręczy barkowej i lędźwiowej. Fenotyp kliniczny jest heterogenny pod względem wieku wystąpienia objawów oraz progresji choroby. W ciężkich przypadkach choroba może prowadzić do problemów z oddychaniem i przedwczesnej śmierci.

Zidentyfikowano mutacje w obrębie wszystkich czterech genów kodujących białka sarkoglikanów [38, 42]. Uważa się, że mechanizm patogenezy może dotyczyć trzech obszarów: fałdowania defektywnej podjednostki sarkoglikanu, niemożności połączenia podjednostek w aktywny kompleks, lub też wbudowania kompleksu w odpowiedni sposób w błonę komórki. W większości sarkoglikanopatii mamy do czynienia z mutacjami typu *missense*, które prowadzą do pojedynczych substytucji aminokwasów. Skutkiem jest nieprawidłowe fałdowanie białka. Takie białko nie przechodzi przez system kontroli jakości fałdowania CNX/CRT i w konsekwencji podlega ubikwitynylacji i degradacji w proteasomach [14, 23]. W błonie komórkowej mięśni jest więc nieobecne lub obecne jedynie w śladowych ilościach. Delecje związane ze skróceniem exonów genu skutkują chorobą o cięższym przebiegu. Mutacje w obrębie genu  $\delta$ SG szczególnie często związane są z kardiomiopatiami [15, 45].

Jest sprawą dyskusyjną, na ile defekt w każdym pojedynczym z czterech białek destabilizuje cały kompleks. Z jednej strony wydaje się, że system kontroli jakości fałdowania jest w tym przypadku szczególnie restrykcyjny. Obserwowano, że mutacja w obrębie jednego z SG prowadzi do redukcji ilości także pozostałych. Defekt  $\alpha$ SG powoduje wtórną nieobecność białek  $\beta$  i  $\delta$ , a także ostrą redukcję  $\gamma$  [1, 45]. Zmutowane białko, nawet jeśli nie zostanie zdegradowane, nie jest w stanie utworzyć stabilnego tetrameru z pozostałymi składnikami kompleksu albo też kompleks nie będzie zdolny do prawidłowego osadzenia się w sarkolemnie [25, 38].

Nieobecność kompleksu sarkoglikanu u pacjentów wydaje się eksponować podjednostki DG na działanie metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej [43]. Ostatnio donoszono jednak, że wadliwy kompleks SG może być „uratowany” poprzez fałdowanie w asyście białek opiekuńczych, a ominięcie systemu degradacji proteasomowej mogłoby stanowić specyficzną strategię terapeutyczną [14, 23].

## PERSPEKTYWY TERAPII DYSTROFII MIĘŚNIOWYCH

Skuteczne leczenie wrodzonych dystrofii mięśniowych ciągle jeszcze nie jest możliwe. Gwałtowny rozwój wiedzy na temat mechanizmów tych schorzeń pozwala jednak żywić nadzieję na bliski postęp w tej dziedzinie. Wobec zróżnicowania typów i mechanizmów dystrofii trudno oczekiwać jednego rodzaju terapii. Zawsze będzie ona musiała być dopasowana do rodzaju defektywnego białka i rodzaju jego uszkodzenia [12, 30]. Podobnie, jak w przypadku wielu chorób związanych z destrukcją funkcjonalnych komórek, także w przypadku dystrofii mięśniowych prowadzone są, choć dotychczas bez większego powodzenia, prace nad możliwością wykorzystania w leczeniu komórek macierzystych.

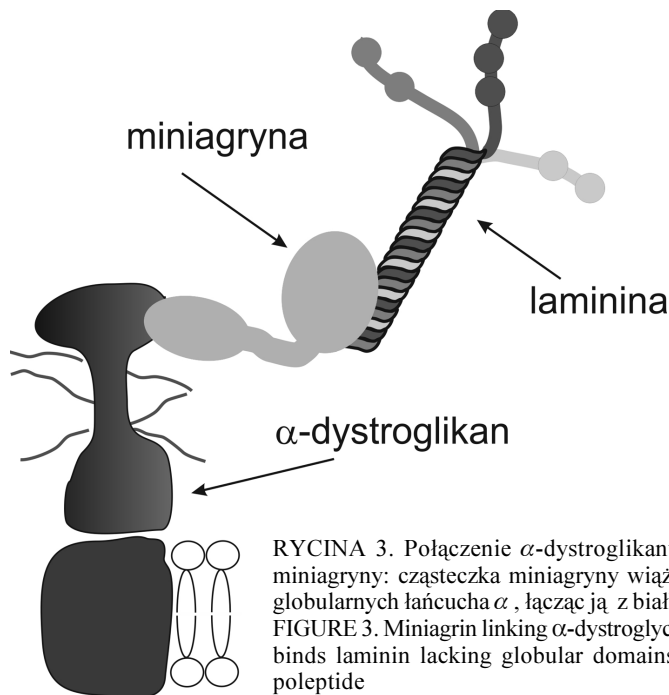
Dla niektórych dystrofii mięśniowych mechanizmy molekularne są podobne, jak w przypadkach innych genetycznie uwarunkowanych schorzeń. I tak, delecje powodujące przedwczesną terminację białka, częste w dystrofii mięśniowej Duchenne'a, prawdopodobnie będą mogły być skutecznie leczone za pomocą terapeutyków blokujących przedwczesny stop-kodon. Takim związkiem jest PTC124, 1,2,4 oksadiazol umożliwiający „przeskoczenie” przedwczesnego stop-kodonu w mRNA w procesie translacji, co w rezultacie umożliwi syntezę białka pełnej długości [12, 41, 50]. W badania kliniczne II fazy włączeni zostali pacjenci z dwoma genetycznie uwarunkowanymi schorzeniami: mukowiscydozą i dystrofią mięśniową Duchenne'a, ale ten mechanizm jest obserwowany także w UMCD i sarkoglikano-patiach. W skali globalnej uważa się, że co najmniej 5–15% mutacji jednogenowych powodujących genetycznie uwarunkowane choroby stanowią właśnie mutacje nonsensowne. Szacuje się, że w większości tego typu schorzeń zwiększenie ilości funkcjonalnego białka z <1% do około 5% normalnego fizjologicznego stężenia pozwala znacznie ograniczyć ostrość objawów chorobowych lub nawet całkowicie je wyeliminować [12, 41, 50].

W wielu sarkoglikanopatiach podstawowym problemem wydaje się degradacja nieprawidłowo sfałdowanego białka. Wspomaganie systemu fałdowania poprzez syntetyczne chaperony (niekoniecznie białkowe), pożądane w terapii chorób konformacyjnych białka, może okazać się skuteczne także w przypadkach tego rodzaju dystrofii mięśniowych. Inną strategią, odmienną niż w przypadku chorób związanych z gromadzeniem złogów nieprawidłowego białka, może być zablokowanie systemu degradacji proteasomowej ERAD, co pozwoli mutantowi na utworzenie stabilnego kompleksu błonowego [14, 23].

Swoiste dla terapii określonych dystrofii mięśniowych wydają się dwie interesujące strategie związane z terapią genową, a mianowicie wykorzystanie transgeny mini-agryny i wzmożenie ekspresji genu *LARGE* w dystroglikanopatiach.

Złożoność składników macierzy zewnątrzkomórkowej oraz ich zakotwiczone w sarkolemnie ligandów powoduje, że w niektórych wypadkach białka te mogą wzajemnie przejmować i uzupełniać swoje funkcje. Takie nadzieje wiąże się w ostatnich latach z mini-agryną, sklonowaną jako fragment genu agryny. Agryna jest proteoglikanem zawierającym siarczan heparanu (HSPG). Białko osiąga masę molową około 220 kDa i zawiera motywy wspólne z innymi białkami: 9 domen przypominających inhibitor proteazy typu Casala, 3 domeny zbliżone do globulinowej domeny lamininy, 4 podobne do EGF. W obrębie części N-końcowej obecne są liczne miejsca N- i O-glikozytacji. Uglykozylowana cząsteczka może osiągać masę molową przekraczającą 400 kDa, co jest w znacznej mierze związane z obecnością glikozoaminoglikanów siarczanu heparanu. Aktywność biologiczna białka w obrębie synapsy, związana z agregacją receptorów acetylocholinowych, przypisywana jest fragmentowi C-końcowemu [8, 51].

Moll i wsp. [36] zaproponowali zastosowanie szczególnego łącznika, który byłby zdolny do silniejszego wiązania lamininy 411 z powierzchnią komórki mięśniowej. Rolę tego zewnątrzkomórkowego kleju powierzono zminiaturyzowanej cząsteczce agryny (ryc. 3). Wykorzystano alternatywne składanie mRNA, aby uzyskać białko zawierające dwie istotne domeny: wiążącą  $\alpha$ DG i wiążącą lamininy. Obie domeny wykazują wysokie powinowactwo do rozpoznawanych ligandów. Z genu kodującego mięśniową izoformę agryny usunięto 2/3 sekwencji, pozostawiając dwie wymie-



RYCINA 3. Połączenie  $\alpha$ -dystroglikanu z lamininą poprzez cząsteczkę miniagryny: cząsteczka miniagryny wiąże lamininę niezawierającą domen globularnych łańcucha  $\alpha$ , łącząc ją z białkową częścią  $\alpha$ -dystroglikanu.  
FIGURE 3. Miniagrin linking  $\alpha$ -dystroglycan and laminin: miniagrin molecule binds laminin lacking globular domains in a chain with  $\alpha$ -dystroglycan polypeptide

nione wcześniej domeny funkcjonalne oraz łączącą je pierwszą domenę folistatynopodobną. Transgen poddano ekspresji u homozygotycznych myszy z wyciszonym genem *LAMA2*. Transgeniczne zwierzęta nadal nie syntetyzowały łańcucha  $\alpha 2$  lamininy, ale wykazywały wysoką ekspresję białka miniagryny w mięśniach szkieletowych. Owocowało to większą wielkością i aktywnością fizyczną oraz pięciokrotnie wydłużonym czasem życia zwierząt (z 8 do 40 tygodni). Wydaje się, że cząsteczka mini-agryny może w tym przypadku tworzyć pomost pomiędzy  $\alpha$ -dystroglikanem a lamininami o innych niż  $\alpha 2$  łańcuchach [8, 32, 36].

## PODSUMOWANIE

Badania ostatnich lat, zwłaszcza wykorzystanie technik wyciszania genów u myszy, pozwoliły rzucić całkowicie nowe światło na mechanizmy dystrofii mięśniowych i w dużej mierze zmienić i usystematyzować klasyfikację zaliczanych do tej grupy jednostek chorobowych. Dzięki wprowadzeniu testów genetycznych identyfikujących określoną mutację oraz immunochemicznych, umożliwiających detekcję deficytów określonych białek możliwe jest usprawnienie diagnostyki. Poznano strukturę licznych (choć nie wszystkich) białek, których deficyty powodują chorobę i po części określono ich udział w oddziaływaniach na styku macierzy zewnątrzkomórkowej/błony podstawnej i powierzchni komórki mięśniowej. Ta wiedza pozwoliła na opracowanie całkowicie nowych strategii terapeutycznych, umożliwiając konstrukcję transgenów, które przejmując funkcję wadliwych białek, pozwalają utworzyć szlaki metabolicznych pomostów, omijających defekt. Prace te, choć na razie we wstępnej fazie, dają realne szanse na poprawę jakości życia wielu pacjentów cierpiących na dystrofię mięśniową.

Coraz większą wagę przywiązuje się także do znaczenia glikozylacji jako modyfikacji potranslacyjnej, w decydujący sposób wpływającej na ostateczne funkcjonowanie białka. W dużej grupie dystrofii mięśniowych, określanych obecnie mianem dystroglikanopatii, właśnie zaburzenia glikozylacji stanowią podstawowy mechanizm patogenezy. Ta odrębna grupa schorzeń, ze względu na odmienne podłoże, została wcześniej omówiona w osobnym opracowaniu [20].

## PIŚMIENNICTWO

- [1] ALLIKIAN MJ, MCNALLY EM. Processing and assembly of the dystrophin glycoprotein complex. *Traffic* 2007; **8**: 177–183.
- [2] ANASTASI G, CUTRONEO G, RIZZO G, FAVALORO A. Sarcoglycan subcomplex in normal and pathological human muscle fibers. *Eur J Histochem* 2007; **51** Suppl 1: 29–33.
- [3] AUMAILLEY M, BRUCKNER-TUDERMAN L, CARTER WG, DEUTZMANN R, EDGAR D, EKBLUM P, ENGEL J, ENGVALL E, HOHENESTER E, JONES JC, KLEINMAN HK, MARINKOVICH MP, MARTIN GR, MAYER U, MENEGUZZI G, MINER JH, MIYAZAKI K, PATARROYO M, PAULSSON M, QUARANTA V, SANES JR, SASAKI T, SEKIGUCHI K, SOROKIN LM, TALTS JF, TRYGGVASON K, UITTO J, VIRTANEN I, VON DER MARK K, WEWER UM, YAMADA Y, YURCHENCO PD. A simplified laminin nomenclature. *Matrix Biol* 2005; **24**: 326–332.

- [4] BAKER NL, MÖRGELIN M, PEAT R, GOEMANS N, NORTH KN, BATEMAN JF, LAMANDÉ SR. Dominant collagen VI mutations are a common cause of Ullrich congenital muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2005; **14**: 279–293.
- [5] BALDOCK C, SHERRATT MJ, SHUTTLEWORTH CA, KIELTY CM. The supramolecular organization of collagen VI microfibrils. *J Mol Biol* 2003; **330**: 297–307.
- [6] BALL S, BELLA J, KIELTY C, SHUTTLEWORTH A. Structural basis of type VI collagen dimer formation. *J Biol Chem* 2003; **278**: 15326–15332.
- [7] BARRESI R, CAMPBELL KP. Dystroglycan: from biosynthesis to pathogenesis of human disease. *J Cell Sci* 2006; **119**: 199–207.
- [8] BEZAKOVA G, RUEGG MA. New insights into the roles of agrin. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; **4**: 295–308.
- [9] BÖKEL C, BROWN NH. Integrins in development: moving on, responding to, and sticking to the extracellular matrix. *Dev Cell* 2002; **3**: 311–321.
- [10] BURKIN DJ, KAUFMAN SJ. The  $\alpha7\beta1$  integrin in muscle development and disease. *Cell Tissue Res* 1999; **296**: 183–190.
- [11] BUSHBY K, FINKEL R, BIRNKRANT DJ, CASE LE, CLEMENS PR, CRIFE L, KAULA, KINNETT K, MCDONALD C, PANDYA S, POYSKY J, SHAPIRO F, TOMEZSKO J, CONSTANTIN C; DMD Care Considerations Working Group. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *Lancet Neurol* 2010; **9**: 77–93.
- [12] BUSHBY K, LOCHMÜLLER H, LYNN S, STRAUB V. Interventions for muscular dystrophy: molecular medicines entering the clinic. *Lancet* 2009; **374**: 1849–1856.
- [13] BUSHBY K. Diagnosis and management of the limb girdle muscular dystrophies. *Pract Neurol* 2009; **9**: 314–323.
- [14] CARAMELO JJ, PARODI AJ. Getting in and out from calnexin/calreticulin cycles. *J Biol Chem* 2008; **283**: 10221–10225.
- [15] CHENG L, GUO XF, YANG XY, CHONG M, CHENG J, LI G, GUI YH, LU DR. Delta-sarcoglycan is necessary for early heart and muscle development in zebrafish. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **344**: 1290–1299.
- [16] COSSU G, SAMPAOLESI M. New therapies for Duchenne muscular dystrophy: challenges, prospects and clinical trials. *Trends Mol Med* 2007; **13**: 520–526.
- [17] CROSBIE RH, LIM LE, MOORE SA, HIRANO M, HAYS AP, MAYBAUM SW, COLLIN H, DOVICO SA, STOLLE CA, FARDEAU M, TOMÉ FM, CAMPBELL KP. Molecular and genetic characterization of sarcospan: insights into sarcoglycan-sarcospan interactions. *Hum Mol Genet* 2000; **9**: 2019–2027.
- [18] DAVIES KE, NOWAK KJ. Molecular mechanisms of muscular dystrophies: old and new players. *Nature Rev Moll Cell Biol* 2006; **7**: 762–773.
- [19] ERVASTI JM. Dystrophin, its interactions with other proteins, and implications for muscular dystrophy. *Biochim Biophys Acta* 2007; **1772**: 108–117.
- [20] FERENS-SIECZKOWSKA M. Dystrofie mięśniowe spowodowane zaburzeniami glikozylacji dystroglikanu. *Post Biol Kom* 2011; **38**: 219–230.
- [21] HACK AA, GROH ME, MCNALLY EM. Sarcoglycans in muscular dystrophy. *Microsc Res Tech* 2000; **48**: 167–180.
- [22] HAYASHI YK, CHOU FL, ENGVALL E, OGAWA M, MATSUDA C, HIRABAYASHI S, YOKOCHI K, ZIOBER BL, KRAMER RH, KAUFMAN SJ, OZAWA E, GOTO Y, NONAKA I, TSUKAHARA T, WANG JZ, HOFFMAN EP, ARAHATA K. Mutations in the integrin  $\alpha7$  gene cause congenital myopathy. *Nature Genet* 1998; **19**: 94–97.
- [23] HEBERT DN, MOLINARI M. In and out of the ER: protein folding, quality control, degradation, and related human diseases. *Physiol Rev* 2007; **87**: 1377–1408.
- [24] HODGES BL, HAYASHI YK, NONAKA I, WANG W, ARAHATA K, KAUFMAN SJ. Altered expression of the alpha7beta1 integrin in human and murine muscular dystrophies. *J Cell Sci* 1997; **110**: 2873–2881.
- [25] HOLT KH, CAMPBELL KP. Assembly of the sarcoglycan complex. Insights for muscular dystrophy. *J Biol Chem* 1998; **273**: 34667–34670.
- [26] KANAGAWA M, TODA T. The genetic and molecular basis of molecular dystrophy: roles of cell-matrix linkage in the pathogenesis. *J Hum Genet* 2006; **51**: 915–926.
- [27] LAMANDÉ SR, MÖRGELIN M, SELAN C, JÖBSIS GJ, BAAS F, BATEMAN JF. Kinked collagen VI tetramers and reduced microfibril formation as a result of Bethlem myopathy and introduced triple helical glycine mutations. *J Biol Chem* 2002; **277**: 1949–1956.

- [28] LAMPE AK, BUSHBY KM. Collagen VI related muscle disorders. *J Med Genet* 2005; **42**: 673–685.
- [29] LAMPE AK, DUNN DM, VON NIEDERHAUSERN AC, HAMIL C, AOYAGIA, LAVAL SH, MARIE SK, CHU ML, SWOBODA K, MUNTONI F, BONNEMANN CG, FLANIGAN KM, BUSHBY KM, WEISS RB. Automated genomic sequence analysis of the three collagen VI genes: applications to Ullrich congenital muscular dystrophy and Bethlem miopathy. *J Med Genet* 2005; **42**: 108–120.
- [30] MANZUR AY, MUNTONI F. Diagnosis and treatment in muscular dystrophies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009; **80**: 706–714.
- [31] MARTIN PT. Mechanisms of disease: congenital muscular dystrophies-glycosylation takes center stage. *Nat Clin Pract Neurol* 2006; **2**: 222–230.
- [32] MEINEN S, BARZAGHI P, LIN S, LOCHMÜLLER H, RUEGG MA. Linker molecules between laminins and dystroglycan ameliorate laminin- $\alpha$ 2-deficient muscular dystrophy at all disease stages. *J Cell Biol* 2007; **176**: 979–993.
- [33] MENDELL JR, BOUÉ DR, MARTIN PT. The congenital muscular dystrophies: recent advances and molecular insights. *Pediatr Dev Pathol* 2006; **9**: 427–443.
- [34] MERLINI L, BERNARDI P. Therapy of collagen VI-related myopathies (Bethlem and Ullrich). *Neurotherapeutics* 2008; **5**: 613–618.
- [35] MINER JH, YURCHENCO PD. Laminin functions in tissue morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004; **20**: 255–284.
- [36] MOLL J, BARZAGHI P, LIN S, BEZAKOVA G, LOCHMÜLLER H, ENGVALL E, MÜLLER U, RUEGG MA. An agrin minigene rescues dystrophic symptoms in a mouse model for congenital muscular dystrophy. *Nature* 2001; **413**: 302–307.
- [37] NEWAY SE, HOWMAN EV, PONTING CP, BENSON MA, NAWROTZKI R, LOH NY, DAVIES KE, BLAKE DJ. Syncoilin, a novel member of the intermediate filament superfamily that interacts with alpha-dystrobrevin in skeletal muscle. *J Biol Chem* 2001; **276**: 6645–6655.
- [38] OZAWA E, MIZUNO Y, HAGIWARA Y, SASAOKA T, YOSHIDA M. Molecular and cell biology of the sarcoglycan complex. *Muscle Nerve* 2005; **32**: 563–576.
- [39] PEPE G, LUCARINI L, ZHANG RZ, PAN TC, GIUSTI B, QUIJANO-ROY S, GARTIOUX C, BUSHBY KM, GUICHENEY P, CHU ML. COL6A1 genomic deletions in Bethlem and Ullrich muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2006; **59**: 190–195.
- [40] RAFII MS, HAGIWARA H, MERCADO ML, SEO NS, XU T, DUGAN T, OWENS RT, HOOK M, MCQUILLAN DJ, YOUNG MF, FALLON JR. Biglycan binds to alpha- and gamma-sarcoglycan and regulates their expression during development. *J Cell Physiol* 2006; **209**: 439–447.
- [41] ROWE SM, CLANCY JP. Pharmaceutical targeting nonsense mutations in genetic diseases. Progress in development. *Biodrugs* 2009; **23**: 165–174
- [42] SANDONÁ D, BETTO R. Sarcoglycanopathies: molecular pathogenesis and therapeutic prospects. *Expert Rev Mol Med* 2009; **11**: e28.
- [43] SASAKI T, FÄSSLER R, HOHENESTER E. Laminin: the crux of basement membrane assembly. *J Cell Biol* 2004; **164**: 959–963.
- [44] SCHÉELE S, NYSTRÖM A, DURBEEJ M, TALTS JF, EKBLÖM M, EKBLÖM P. Laminin isoforms in development and disease. *J Mol Med* 2007; **85**: 825–836.
- [45] SHI W, CHEN Z, SCHOTTENFELD J, STAHL RC, KUNKEL LM, CHAN YM. Specific assembly pathway of sarcoglycans is dependent on beta- and delta-sarcoglycan. *Muscle Nerve* 2004; **29**: 409–419.
- [46] TZU J, MARINKOVICH MP. Bridging structure with function: structural, regulatory, and developmental role of laminins. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; **40**: 199–214.
- [47] VAJSAR J, SCHACHTER H. Walker-Warburg syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2006; **1**: 29.
- [48] VAN DER VEN PFM, WIESNER S, SALMIKANGAS P, AUERBACH D, HIMMEL M, KEMPA S, HAYEB K, PACHOLSKY D, TAIVAINEN A, SCHRÖDER R, CARPÉN O, FÜRST DO. Indications for a Novel Muscular Dystrophy Pathway:  $\gamma$ -Filamin, the Muscle-Specific Filamin Isoform, Interacts with Myotilin. *J Cell Biol* 2000; **151**: 235–248.
- [49] WAGNER KR. Approaching a new age in Duchenne muscular dystrophy treatment. *Neurotherapeutics* 2008; **5**: 583–591.
- [50] WELCH EM, BARTON ER, ZHUO J, TOMIZAWA Y, FRIESEN WJ, TRIFILLIS P, PAUSHKIN S, PATEL M, TROTTA CR, HWANG S, WILDE RG, KARP G, TAKASUGI J, CHEN G, JONES S, REN H, MOON YC, CORSON D, TURPOFF AA, CAMPBELL JA, CONN MM, KHAN A, ALMSTEAD NG, HEDRICK J, MOLLIN A, RISHER N, WEETALL M, YEH S, BRANSTROM AA, COLACINO JM, BABIAK J, JU WD, HIRAWAT S, NORTH CUTT VJ, MILLER LL, SPATRICK P, HE F, KAWANA M, FENG H, JACOBSON A, PELTZ SW, SWEENEY HL. PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations. *Nature* 2007; **447**: 87–91.

- [51] WILLIAMS S, RYAN C, JACOBSON C. Agrin and neuregulin, expanding roles and implications for therapeutics. *Biotechnol Adv* 2008; **26**: 187–201.
- [52] XIONG Y, ZHOU Y, JARRETT HW. Dystrophin glycoprotein complex-associated Gbetagamma subunits activate phosphatidylinositol-3-kinase/Akt signaling in skeletal muscle in a laminin-dependent manner. *J Cell Physiol* 2009; **219**: 402–414.
- [53] YURCHENCO PD, CHENG YS, CAMPBELL K, LI S. Loss of basement membrane, receptor and cytoskeletal lattices in a laminin-deficient muscular dystrophy. *J Cell Sci* 2004; **117**: 735–742.

*Redaktor prowadzący – Wincenty Kilarski*

*Otrzymano: 14.01.2011 r*

*Przyjęto: 21.09. 2011 r.*

*Mirosława Ferens-Sieczkowska*

*Katedra Chemii i Immunochemii Akademii Medycznej*

*ul. O. Bujwida 44A; 50-035 Wrocław*

*e-mail: mferens@immchem.am.wroc.pl*