

# Molekularne osnove mišićnih distrofija

---

Jurišić, Ivana

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:815842>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Ivana Jurišić

# **Molekularne osnove mišićnih distrofija**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Ivana Jurišić

# **Molecular basis of muscular dystrophies**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023

Ovaj završni rad izrađen je u sklopu preddiplomskog sveučilišnog studija Molekularna biologija na Zavodu za molekularnu biologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Maje Matulić.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Završni rad

## Molekularne osnove mišićnih distrofija

Ivana Jurišić

Ravnice 48, 10000 Zagreb, Hrvatska

Mišićne distrofije su skupina nasljednih bolesti kojima je svojstveno progresivno slabljenje i propadanje mišića. S obzirom na kontraktilnu silu koju proizvode i kojoj su izložene, mišićne stanice moraju biti osigurane protiv mehaničkih oštećenja. U tome smislu vrlo je važna strukturna povezanost citoskeleta i izvanstaničnoga matriksa, jer upravo ona plazmatsku membranu mišićnih stanica (sarkolemu) održava postojanom. Spomenuta veza ostvaruje se posredstvom transmembranskih proteina, u prvom redu integrina, te distrofinsko-glikoproteinskog kompleksa (DGC-a). Oni s jedne strane sarkoleme vežu elemente citoskeleta, a s druge strane laminin, važnu komponentu izvanstaničnog matriksa mišića. Za stabilnost mišićnih stanica također su važne interakcije jezgrine ovojnice s citoskeletom i jezgrinom laminom. One uvjetuju strukturni integritet jezgre i genetsku stabilnost stanice. Shodno tome, poremećaji na nizu relacija: izvanstanični matriks – sarkolema – citoskelet – jezgrina ovojnica – jezgrina lamina – kromatin, kompromitiraju izdržljivost mišićnih stanica te mogu dovesti do razvoja mišićnih distrofija. Terapijski pristupi ovim bolestima većinski su usmjereni na oporavak ekspresije i povećanje funkcionalnosti defektnih proteina.

**Ključne riječi:** distrofinsko-glikoproteinski kompleks, izvanstanični matriks, jezgrina lamina (35 stranice, 4 slike, 1 tablica, 118 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv. prof. dr. sc. Maja Matulić

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Bachelor thesis

# Molecular basis of muscular dystrophies

Ivana Jurišić

Ravnice 48, 10000 Zagreb, Croatia

Muscular dystrophies are a group of inherited disorders characterized by progressive weakening and degeneration of muscles. Considering the contractile force they produce and to which they are exposed, muscle cells need to be secured against mechanical damage. In that sense, the structural linkage between the cytoskeleton and the extracellular matrix is of utmost importance, because it keeps the plasma membrane of muscle cells (sarcolemma) stable. Said linkage is achieved through transmembrane proteins, primarily integrins, and the dystrophin-glycoprotein complex (DGC). On one side of the sarcolemma, they bind elements of the cytoskeleton and on the other, laminin, an important component of the extracellular matrix of muscles. The interactions of the nuclear envelope with the cytoskeleton and the nuclear lamina are also important for the stability of muscle cells. They determine the structural integrity of the nucleus as well as the genetic stability of the cell. Accordingly, disturbances along the line: extracellular matrix – sarcolemma – cytoskeleton – nuclear envelope – nuclear lamina – chromatin, compromise the durability of muscle cells and can lead to the development of muscular dystrophies. Therapeutic approaches to these disorders are mostly aimed at restoring the expression and increasing the functionality of defective proteins.

**Keywords:** dystrophin-glycoprotein complex, extracellular matrix, nuclear lamina  
(35 pages, 4 figures, 1 table, 118 references, original in: Croatian)  
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Maja Matulić

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. POREMEĆAJI DISTROFINSKO-GLIKOPROTEINSKOGA KOMPLEKSA.....	2
2.1. POREMEĆAJI DISTROFINA.....	3
2.2. POREMEĆAJI DISTROGLIKANA .....	5
2.3. POREMEĆAJI SARKOGLIKANA .....	6
2.4. POREMEĆAJI KAVEOLINA-3.....	7
3. POREMEĆAJI IZVANSTANIČNOGA MATRIKSA.....	9
4. POREMEĆAJI JEZGRINE LAMINE.....	13
4.1. EMERY-DREIFUSSOVA MIŠIĆNA DISTROFIJA .....	17
5. OSTALI ČESTI OBLICI MIŠIĆNIH DISTROFIJA .....	19
6. TERAPIJSKI PRISTUPI MIŠIĆNIM DISTROFIJAMA.....	21
7. ZAKLJUČAK.....	23
8. LITERATURA .....	24
9. ŽIVOTOPIS .....	35

## 1. UVOD

Mišićne distrofije su skupina nasljednih bolesti koje se očituju progresivnim slabljenjem i propadanjem mišića (Gao i McNally, 2015). Genetska pozadina ovih bolesti vrlo je heterogena (Kanagawa i Toda, 2006). Drugim riječima, distrofični fenotip može se javiti kao posljedica mutacije velikoga broja proteina. Mahom se radi o proteinima koji izravno ili neizravno obnašaju važne strukturne funkcije, čime pridonose održanju integriteta mišićnih stanica. Međutim, bolesti ove skupine mogu uzrokovati i defekti enzima zaduženih za modifikaciju takvih proteina.

Da bi mišićne stanice bile funkcionalne, nužno je da ispravnim interakcijama budu čvrsto ugrađene u izvanstanični matriks. Također je važna ispravnost interakcija citoskeleta s plazmatskom membranom i jezgrom. Poremećaji navedenih interakcija čine mišićne stanice posebno osjetljivima na oštećenja inducirana djelovanjem kontraktilne sile. Normalni se mišići uslijed oštećenja obnavljaju dijeljenjem mišićnih matičnih stanica, takozvanih satelitnih stanica. S obzirom na to da kod mišićnih distrofija stupanj oštećenja nadilazi kapacitet njihove proliferacije, mogućnost obnove u tim je slučajevima vrlo ograničena (Alberts i sur., 2015). Oštećene mišićne stanice u konačnici nekrotiziraju te bivaju zamijenjene masnim i vezivnim tkivom (Kanagawa i Toda, 2006), zbog čega mišići postaju sve slabiji (Gao i McNally, 2015). Kod nekih je oblika bolesti, zbog poremećaja rada srčanog mišića (Emery, 2002) ili uslijed slabljenja mišića važnih prilikom disanja (Cooper, 2019), moguć i smrtni ishod.

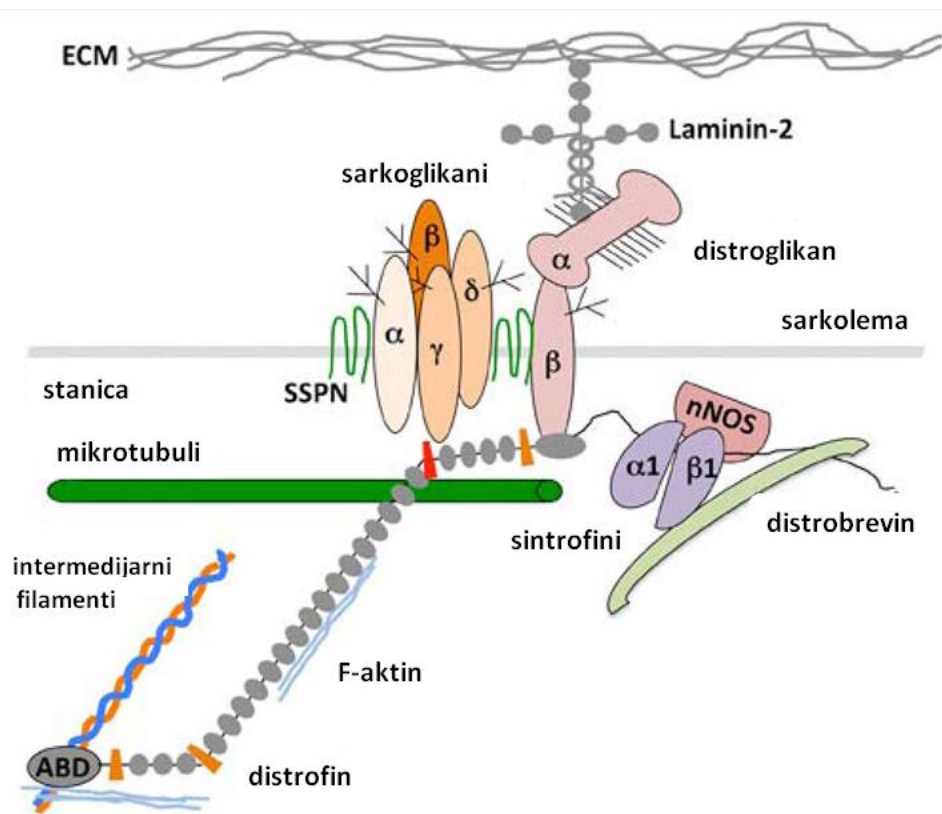
Klasifikacija mišićnih distrofija temelji se na tjelesnoj raspodjeli i stupnju propadanja mišića, dobi u kojoj nastupaju prvi simptomi te načinu nasljeđivanja i napredovanja bolesti (Kanagawa i Toda, 2006). S obzirom na velik broj gena čije mutacije vode razvoju ovih poremećaja, prednost u njihovoj klasifikaciji sve više ima molekularna patogeneza specifična za pojedino stanje (Cohn i Campbell, 2000). Do sada je opisano preko 30 različitih bolesti koje se svrstavaju u mišićne distrofije (Cooper, 2019). Brojna od tih stanja mogu biti uzrokovana mutacijama u većem broju gena. Vrijedi i obrat – u nekim slučajevima mutacije jednoga gena mogu uzrokovati više različitih bolesti.

Ovaj rad prikazuje molekularne osnove poremećaja koji se događaju na razini izvanstaničnoga matriksa mišićnih stanica te njegove poveznice s citoskeletom, takozvanog distrofinsko-glikoproteinskog kompleksa, kao i poremećaje jezgrine lamine koji rezultiraju razvojem mišićnih distrofija. Osim toga, dotiče se i nekoliko terapijskih pristupa ovim bolestima.



## 2. POREMEĆAJI DISTROFINSKO-GLIKOPROTEINSKOGA KOMPLEKSA

Mehanička stabilnost mišićnih stanica održava se vezom između aktinskoga citoskeleta i izvanstaničnoga matriksa. Ta veza ostvaruje se posredstvom distrofinsko-glikoproteinskog kompleksa (engl. *dystrophin-glycoprotein complex*; DGC) (Kanagawa i Toda, 2006). Kompleks DGC prisutan je kod skeletnih mišića te srčanoga mišića. Osim strukturne uloge, važan je i u prijenosu signala preko plazmatske membrane (Lapidos i sur., 2004). Njegove se komponente razlikuju smještajem. Citoplazmatske su komponente distrofin, distrobrevin, sintrofini te sintaza dušikova oksida (sintaza NO); transmembranske su  $\beta$ -dystroglikan, sarkoglikani i sarkospani; vanstanična je komponenta  $\alpha$ -dystroglikan (Slika 1.), dok je kaveolin-3 integralni membranski protein (Gao i McNally, 2015). Distrofin je taj koji veže komponente citoskeleta, u prvom redu aktin.



Slika 1. Struktura distrofinsko-glikoproteinskog kompleksa. ECM označava izvanstanični matriks, SSPN sarkospane, a nNOS sintazu dušikova oksida. Ogranci na sarkoglikanima te  $\beta$ -dystroglikanu, kao i kose crte na  $\alpha$ -dystroglikanu označavaju šećere, s obzirom na to da se radi o glikoziliranim proteinima. Distrofin sadrži četiri šarke obojene narančasto i crveno. Između njih

se nalaze ponavljanja nalik proteinu spektrinu prikazana u sivoj boji. Preuzeto i prilagođeno prema Gao i McNally, 2015.

Genetski poremećaji kompleksa DGC za posljedicu mogu imati razvoj raznih oblika mišićnih distrofija, među kojima je i najčešći oblik ove grupe bolesti - Duchennova mišićna distrofija (DMD). Drugi oblici uključuju Beckerovu mišićnu distrofiju (BMD), kongenitalne mišićne distrofije (engl. *congenital muscular dystrophies*; CMD) te pojasne mišićne distrofije (engl. *limb-girdle muscular dystrophies*; LGMD). Mutacije proteina distrofina mogu biti uzrok razvoju DMD-a i BMD-a, dok poremećaji ostalih komponenata kompleksa DGC za posljedicu mogu imati razvoj nekih oblika CMD-a i LGMD-a (Kanagawa i Toda, 2006).

## 2.1. POREMEĆAJI DISTROFINA

Distrofin je protein molekulske mase 427 kDa (Cooper, 2019). Kodiran je najvećim poznatim ljudskim genom (*DMD*), koji broji čak 79 eksona te je dulji od 2,2 Mb, čime zahvaća oko 0,1% ljudskoga genoma (Koenig i sur., 1987). Protein se nalazi s citoplazmatske strane membrane mišićne stanice, tj. sarkoleme. Sastoji se od četiri funkcionalne domene. N-terminalna domena ABD1 (engl. *actin-binding domain 1*) veže  $\gamma$ -aktinske filamente. Njome je distrofin povezan s citoskeletom (Gao i McNally, 2015). Također veže intermedijarni filament citokeratin 19, čime dodatno povezuje distrofin s kontraktilnom mašinerijom stanice (Stone i sur., 2005; Stone i sur., 2007). Na domenu ABD1 nadovezuje se središnja štapićasta domena, koja se sastoji od 24 ponavljanja nalik proteinu spektrinu. Između 11. i 17. ponavljanja nalazi se drugo vezno mjesto za  $\gamma$ -aktin (ABD2) (Lapidos i sur., 2004), koje je bogato bazičnim aminokiselinama, što s obzirom na kiselu prirodu aktinskih filamenata ukazuje na to da vezanje aktina počiva na elektrostatskim interakcijama (Amann i sur., 1998). Između 20. i 23. ponavljanja nalazi se vezno mjesto za mikrotubule (Slika 1.) (Belanto i sur., 2014; Prins i sur., 2009). Osim s citoskeletom, štapićasta domena ostvaruje interakcije i s fosfolipidima sarkoleme (Le Rumeur i sur., 2003). 24 spektrinska ponavljanja razlomljena su četirima šarkama bogatima prolinom, što distrofinu daje elastičnost (Koenig i sur., 1990). Na štapićastu domenu nadovezuje se domena bogata cisteinom, koja stupa u interakciju s transmembranskim proteinom  $\beta$ -distroglikanom, čime se postiže lokalizacija distrofina uz sarkolemu (Lapidos i sur., 2004). Zadnja je C-terminalna domena. Ona sadrži vezna mjesta za distrobrevin te sintrofine (Sadoulet-Puccio i sur., 1997). Njihovo vezanje i

asocijacija sa sintazom NO (Slika 1.) bitni su u putovima prijenosa signala (Gao i McNally, 2015).

Gen *DMD* nalazi se na X kromosomu, stoga se nasljeđuje na spolno vezani način. Njegove su mutacije recesivne, zbog čega DMD i BMD češće pogađaju mušku populaciju – od DMD-a obolijeva jedno muško novorođenče na njih 3500-5000 (Cooper, 2019; Hoffman i sur., 1987). Otprilike trećina oboljelih od DMD-a ne nosi nasljeđenu mutaciju. S obzirom na veličinu i kompleksnost distrofinskog gena, mutacije često nastaju *de novo* (Kanagawa i Toda, 2006). Najčešća mutacija gena *DMD* je delecija jednoga ili više eksona. Delecija se obično događa između eksona 45 i 55 ili između eksona 3 i 19. Točkaste mutacije i duplikacije eksona također su relativno česte (Gao i McNally, 2015). DMD se uglavnom javlja zbog mutacija koje uzrokuju pomak okvira čitanja i posljedično pojavu preuranjenog stop-kodona. Transkripti mutiranog gena su nestabilni pa obično podliježu razgradnji. Ako dođe do translacije, nastaje krnji protein, koji je i sam nestabilan pa prati sličnu sudbinu. Delecijske mutacije koje uzrokuju BMD zadržavaju točan okvir čitanja pa nastaje stabilni, iako krnji, protein (Gao i McNally, 2015). Prema tome, DMD se očituje potpunim ili gotovo potpunim izostankom distrofina u mišićima, dok je kod BMD-a distrofin u tkivu prisutan, međutim, samo je djelomično funkcionalan (Cooper, 2019). Oboljeli od BMD-a stoga imaju blaži oblik bolesti (Kanagawa i Toda, 2006).

Izostanak (funkcionalnog) distrofina kompleks DGC čini nepotpunim. Kao takav, on je nestabilan pa je podložan oštećenjima uslijed djelovanja kontraktilne sile (Lapidos i sur., 2004). Sarkolema stoga postaje propusnija, što vodi povišenoj razini unutarstaničnog  $Ca^{2+}$  (Gillis, 1999). Posljedično dolazi do poremećaja funkcije mitohondrija, što se očituje smanjenom proizvodnjom ATP-a i gubitkom membranskog potencijala (Kyrychenko i sur., 2015; Houang i sur., 2018; Kang i sur., 2018; Mareedu i sur., 2021). Također, deficijencija distrofina u skeletnim mišićima za posljedicu ima krivu lokalizaciju sintaze NO (Lapidos i sur., 2004). Ona je inače usidrena u sarkolemu, odakle regulira protok krvi - proizvodnjom dušikova oksida potiče lokalnu vazodilataciju (Thomas i sur., 1998). Promjena njezine lokalizacije rezultira nenormalnom vazokonstrikcijom tijekom fizičke aktivnosti (Brenman i sur., 1995; Sander i sur., 2000).

Oboljeli od DMD-a u djetinjstvu kasne s razvojem motoričkih sposobnosti poput hodanja, sjedenja i govora. Između druge i sedme godine života obično počinju osjećati slabost u mišićima, a do 12. godine većina izgubi sposobnost samostalnoga hoda (Gao i McNally, 2015).

Nakon toga nastupaju problemi s disanjem pa se javlja potreba za korištenjem respiratora. Smrt obično nastupa između dvadesete i tridesete godine života zbog poremećaja rada pluća (Cooper, 2019). S druge strane, klinička slika oboljelih od BMD-a ima širi spektar fenotipova jer ovisi o stupnju narušenosti distrofina. Gubitak sposobnosti samostalnoga hoda moguć je već u drugom desetljeću života, međutim, neki zadržavaju tu mogućnost i u šestome (Gao i McNally, 2015). Očekivani životni vijek oboljelih od BMD-a ne razlikuje se nužno od onoga u zdravih ljudi (Cooper, 2019). Kompleks DGC se osim u skeletnim mišićima nalazi i u srčanom mišiću, stoga oboljeli od DMD-a i BMD-a mogu patiti i od srčanih tegoba (Gao i McNally, 2015).

## 2.2. POREMEĆAJI DISTROGLIKANA

Vrlo važna komponenta kompleksa DGC je distroglikan. On se sastoji od  $\alpha$ -distroglikana ( $\alpha$ -DG) te  $\beta$ -distroglikana ( $\beta$ -DG). Obje podjedinice kodirane su istim genom (*DAG1*), a odvajaju se posttranslacijskim proteolitičkim cijepanjem (Ibraghimov-Beskrovnaya i sur., 1992).  $\beta$ -DG je transmembranska podjedinica, koja asocira s domenom distrofina bogatom cisteinom (Gao i McNally, 2015).  $\beta$ -DG nekovalentnim interakcijama čvrsto veže  $\alpha$ -DG (Kanagawa i Toda, 2006). On je izložen na vanjskoj strani stanice te veže komponente izvanstaničnoga matriksa, kao što su laminini, agrin, perlekan i neureksin (Michele i Campbell, 2003), za što je nužno da bude obilno glikoziliran. Glikozilaciji podliježu serinski bočni ogranci domene nalik mucinu. Dakle, riječ je o *O*-glikozilaciji (Gao i McNally, 2015). *N*-glikozilacija također je prisutna, međutim, nema utjecaja na sposobnost vezanja izvanstaničnoga matriksa (Ervasti i Campbell, 1993).

Mutacije distroglikanskog gena opažaju se vrlo rijetko, što se pridaje njegovoj velikoj važnosti u ranom embrionalnom razvoju. Naime, miševi s mutacijom koja onemogućava ekspresiju ovoga gena (engl. *null*) umiru tijekom embriogeneze (Kanagawa i Toda, 2006; Williamson i sur., 1997). Većina mutacija koja remeti funkciju distroglikana događa se u genima kojima su kodirane glikozilaze  $\alpha$ -DG-a. Rezultirajuća hipoglikozilacija smanjuje sposobnost  $\alpha$ -DG-a da veže laminine, zbog čega se narušava veza između citoskeleta i izvanstaničnog matriksa. Ovo je uzrok razvoju bolesti koje se grupno nazivaju „distroglikanopatijama“ (Kanagawa i Toda, 2006). Među njima su razne kongenitalne i pojasne mišićne distrofije. CMD su uzrokovane mutacijama gena *LARGE*, *GTDC2*, *B3GNT1*, *POMK*, *GMPPB* te *ISPD* (Buysse i sur., 2013; Carss i sur., 2013; Di Costanzo i sur., 2014; Longman i sur., 2003; Ogawa i sur., 2013; Willer i

sur., 2012). LGMD uzrokovane su mutacijama gena *POMT1*, *POMT2*, *POMGNT1*, *FKTN*, *FKRP* (Nigro i Savarese, 2014). Proteinski produkti svih navedenih gena važni su za glikozilaciju  $\alpha$ -DG-a. Primjerice, gen *LARGE* kodira glikoziltransferazu koja na  $\alpha$ -DG veže ksilozu i glukuronsku kiselinu (National Center for Biotechnology Information, 2023a).

Klinička slika distroglikanopatija ima širok raspon fenotipova. Neke bolesti mijenjaju strukturu mozga, što se može očitovati smanjenim umnim sposobnostima, dok su druge blage i ne zahvaćaju središnji živčani sustav (Muntoni, 2004). Pojasne mišićne distrofije koje spadaju u skupinu distroglikanopatija blaži su oblici bolesti, kod kojih simptomi nastupaju tek u odrasloj dobi. S druge strane, kongenitalne mišićne distrofije donose ozbiljnije poteškoće (Kanagawa, 2021). Fukuyama kongenitalna mišićna distrofija uzrokovana je insercijom retrotranspozona u gen *FKTN*, kojim je kodiran fukutin, protein uključen u glikozilacijski put  $\alpha$ -distroglikana. Neki od simptoma ove bolesti su slabost mišića, epilepsija, mentalna retardacija te problemi s očima. Drugi primjeri kongenitalnih mišićnih distrofija izazvanih poremećajima glikozilacije  $\alpha$ -DG-a su „bolest mišića, oka i mozga“ te Walker-Warburgov sindrom (WWS) (Kanagawa i Toda, 2006). Sve tri bolesti nasljeđuju se autosomno-recesivnim putem te imaju slične simptome. WWS je najteža distroglikanopatija te najteži oblik kongenitalnih mišićnih distrofija općenito, a uzrokovan je mutacijama gena *POMT1* ili *POMT2*. Većina bolesne djece umire prije treće godine života (Kanagawa i Toda, 2006; Vajsar i Schachter, 2006).

### 2.3. POREMEĆAJI SARKOGLIKANA

Sarkoglikani su transmembranski glikoproteini koji tvore evolucijski očuvane komplekse. U sisavaca je pronađeno šest različitih sarkoglikana:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\varepsilon$  i  $\zeta$ . U sastav kompleksa DGC ulazi sarkoglikanski kompleks (kompleks SG) sačinjen od sarkoglikana  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$  u omjeru 1:1:1:1. Sarkoglikani  $\beta$  i  $\delta$  čine strukturnu srž kompleksa SG, na koju se dodatnu vežu sarkoglikani  $\alpha$  i  $\gamma$  (Gao i McNally, 2015). Smatra se da sarkoglikani imaju više uloga u mišićnim stanicama, neke od kojih su još uvijek upitne. Zna se da kompleks SG pridonosi stabilnosti kompleksa DGC na više načina. Prvi način je stabilizacija vezanja  $\alpha$ -DG-a i  $\beta$ -DG-a (Gao i McNally, 2015). Osim toga, kompleks SG ostvaruje interakcije s distrobrevinom, koji je vezan za C-terminalnu domenu distrofina (Ruszczak i sur., 2009; Yoshida i sur., 2000). Dodatno, čvrsto asocira sa sarkospanima (Slika 1.), transmembranskim proteinima iz porodice tetraspanina

(Crosbie i sur., 1999). Ostvarivanjem interakcija s drugim komponentama kompleksa DGC, sarkoglikani osiguravaju njegovu postojanost te usidrenje u sarkolemi (Gao i McNally, 2015). Također je moguće da sarkoglikani štite stanicu od vanjskog stresa s obzirom na to da interagiraju s filaminom C (Thompson i sur., 2000), a poznato je da filamini imaju ulogu u polimerizaciji aktina, organizaciji membranskih receptora te mehaničkoj zaštiti (Stossel i sur., 2001). Kako bi se navedene interakcije mogle ostvariti, proteolitičkim cijepanjem C-kraja filamina C potrebno je izložiti vezno mjesto za sarkoglikane  $\gamma$  i  $\delta$  (Gao i McNally, 2015). Za to je zadužen kalpain-3, proteaza ovisna o kalciju (Guyon i sur., 2003). Još jedna potencijalna funkcija sarkoglikana je posredovanje u adheziji stanica putem interakcija s integrinima (Gao i McNally, 2015). Sarkoglikan  $\alpha$  ima posebne dodatne funkcije. Radi se o ekto-ATPazi ovisnoj o ionima  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$ , koja može hidrolizirati vanstanični ATP i time zaštititi mišićne stanice (Sandona i sur., 2004). Naime, razina vanstaničnog ATP-a povećava se uslijed oštećenja stanice i važan je signal koji vodi u apoptozu (Allen, 2001). Sarkoglikan  $\alpha$  važan je i u regulaciji proliferacije mišićnih progenitorskih stanica (Cassano i sur., 2011).

Mutacije gena koji kodiraju sarkoglikane  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$  uzrok su razvoju određenih oblika pojasnih mišićnih distrofija skupine LGMD2. Njihovo nasljeđivanje je autosomno-recesivno (Ozawa i sur., 2005). Odsustvo jednoga sarkoglikana vodi smanjenoj količini ostalih sarkoglikana (Kanagawa i Toda, 2006). Sarkolema posljedično postaje krhka te neotporna na oštećenja izazvana djelovanjem kontraktilne sile (Gao i McNally, 2015). Također, deficijencija sarkoglikana vodi metaboličkim promjenama uslijed kojih se oštećeno mišićno tkivo zamjenjuje masnim tkivom (McNally i Pytel, 2007). Osim toga, utvrđeno je da mutacije sarkoglikana  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$  za posljedicu mogu imati i razvoj kardiomiopatije (Barresi i sur., 2000), odnosno srčanih tegoba nalik onima u osoba s DMD-om (Finsterer i Stöllberger, 2003; Melacini i sur., 1999). Osim mutacija sarkoglikana, razvoju pojasnih mišićnih distrofija iste skupine mogu voditi i mutacije proteina kalpaina-3 (Gao i McNally, 2015).

#### 2.4. POREMEĆAJI KAVEOLINA-3

Protein kaveolin-3 komponenta je kompleksa DGC te glavna strukturna komponenta kaveola u mišićnim stanicama (Galbiati i sur., 2001). Kaveole su uvrnuća sarkoleme, koja služe kao sidrišta signalnih proteina (Lapidos i sur., 2004). Mutacije kaveolina-3 mogu poremetiti

njegovu oligomerizaciju, pa i formaciju kalveola. Rezultat je razvoj pojasne mišićne distrofije LGMD1C (Cohn i Campbell, 2000). Umjesto da se transportira do sarkoleme, mutirani kaveolin-3 zadržava se u Golgijevom aparatu te tvori velike nestabilne agregate (Galbiati i sur., 1999).

Mutacije ostalih komponenata kompleksa DGC ne rezultiraju razvojem mišićnih distrofija, ali mogu dovesti do razvoja nekih drugih bolesti (Gao i McNally, 2015).

### 3. POREMEĆAJI IZVANSTANIČNOGA MATRIKSA

Životinjske su stanice uronjene u izvanstanični matriks, koji ih povezuje te uvjetuje njihovo preživljavanje, oblik, polarnost, razvoj i migracije (Alberts i sur., 2015). Njegov se sadržaj mijenja tijekom rasta i migracija stanica te ovisi i o vrsti tkiva s kojim asocira. Sastoji se od polisaharidnog gela u koji su uronjeni sekretorni vlaknasti proteini, kao što su kolageni. Također sadrži adhezijske proteine, u prvom redu fibronektin, koji povezuju molekule matriksa međusobno, ali i sa stanicama (Cooper, 2019).

Kolageni su glavni strukturni proteini izvanstaničnog matriksa. Karakteristični su po strukturi trostruke uzvojnice nalik užetu, koja nastaje uvijanjem triju polipeptidnih lanaca oko zajedničke osi. Aminokiselinski motiv Gly-X-Y (gdje je X redovito prolin, a Y hidroksiprolin) omogućava stvaranje vodikovih veza, koje podržavaju opisanu strukturu. Molekule kolagena obično asociraju u dugačke kolagene fibrile, a kolagen tipa IV može se i umrežavati jer ima kratke regije koje odstupaju od motiva Gly-X-Y (Cooper, 2019).

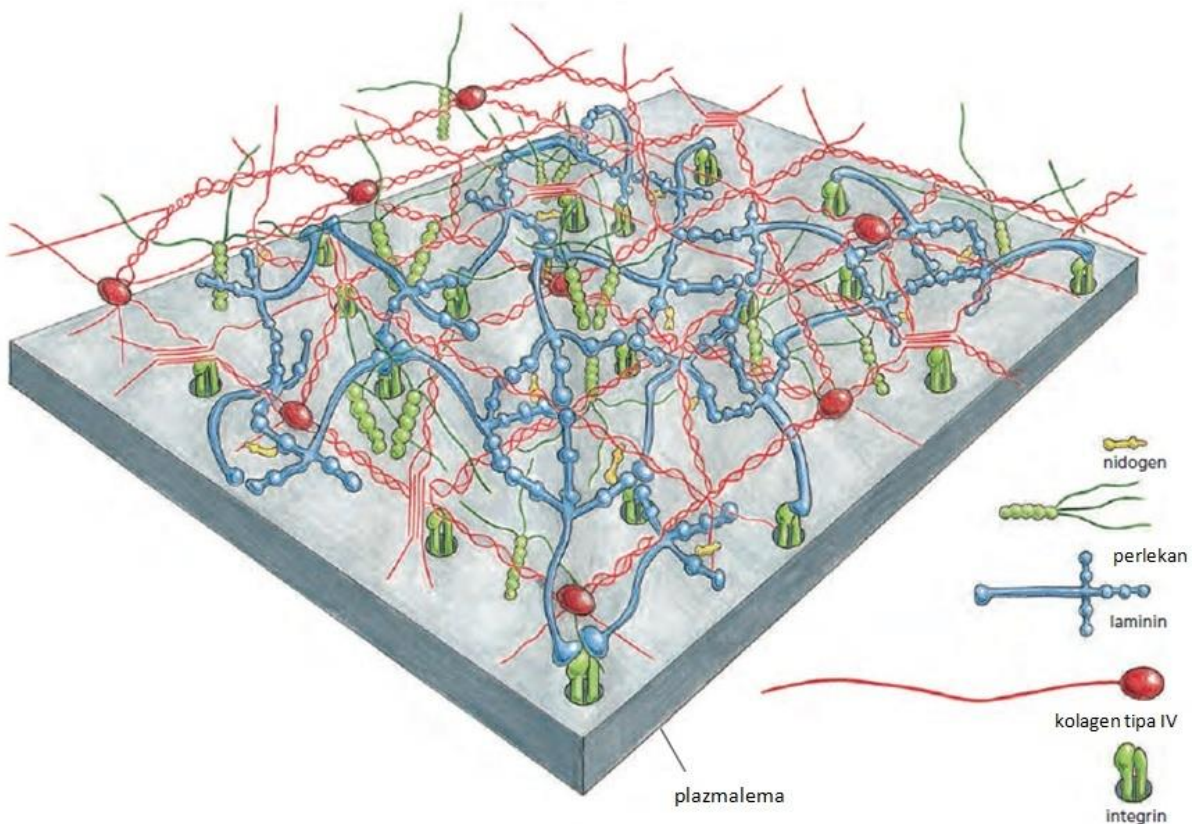
Stanica na površini ima više vrsta receptora za povezivanje s izvanstaničnim matriksom. Glavni među njima su integrini. Oni čine veliku skupinu transmembranskih proteina, koji se sastoje od nekovalentno asociranih podjedinica  $\alpha$  i  $\beta$ . Kod ljudi postoje 24 različita integrina. Nastaju različitim dimernim kombinacijama između osam različitih  $\beta$  lanaca i 16 različitih  $\alpha$  lanaca (Alberts i sur., 2015). Mogu vezati razne komponente izvanstaničnog matriksa: kolagene, fibronektin, laminin te proteoglikane (Cooper, 2019), a sposobnost vezanja ovisi o koncentraciji iona  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$  u izvanstaničnome mediju (Alberts i sur., 2015). S unutarnje strane stanice uz pomoć drugih proteina vežu elemente citoskeleta, uglavnom aktinske filamente. Dakle, premošćuju izvanstanični matriks i citoskelet, čime čvrsto povezuju stanicu s matriksom te imaju mogućnost prijenosa molekularnih i mehaničkih signala u oba smjera preko plazmatske membrane (Alberts i sur., 2015). Osim integrina, transmembranski proteoglikani također mogu vezati elemente izvanstaničnog matriksa (Alberts i sur., 2015), a u stanicama skeletnih mišića tu mogućnost ima i  $\alpha$ -dystroglikan (Kanagawa i Toda, 2006).

Vrsta izvanstaničnog matriksa koja okružuje skeletne mišiće naziva se bazalnom membranom. Smatra se da sudjeluje u lateralnom prijenosu kontraktilne sile te da mišiće čini rastezljivima (Kanagawa i Toda, 2006). Čine ju dva sloja: bazalna lamina i retikularna lamina (Sanes, 2003). Poremećaji sastavnica izvanstaničnog matriksa i njegovih membranskih receptora

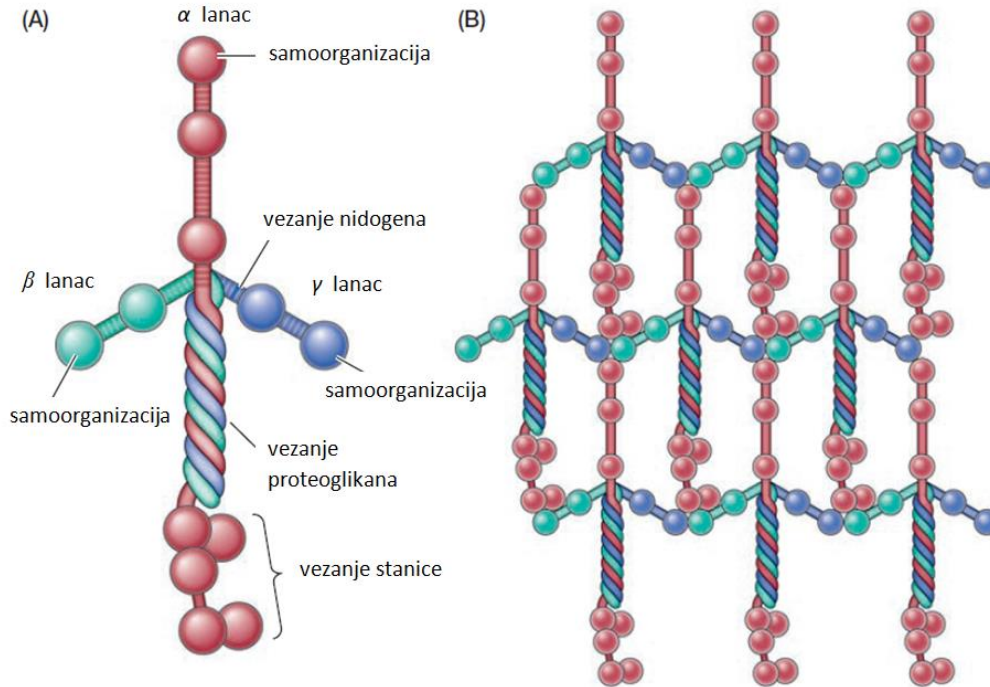


moгу dovesti do razvoja kongenitalnih i pojasnih oblika mišićnih distrofija (Kanagawa i Toda, 2006; Dowling i sur., 2021).

Bazalna lamina, kao posebna vrsta izvanstaničnog matriksa, osim mišićnih stanica okružuje i druge tipove stanica, poput masnih stanica ili Schwannovih. Nalazi se npr. ispod slojeva epitelnih stanica te ih odvaja od vezivnog tkiva derme. Ima važnu ulogu u regeneraciji tkiva nakon ozljede. Primjerice, u slučaju oštećenja mišića ili živca u području neuromuskularne veze, bazalna lamina omogućava njezinu ponovnu uspostavu na pravome mjestu (Alberts i sur., 2015). Njezine glavne komponente su kolagen tipa IV te laminini (Slika 2.). Laminini su adhezijski proteini, koji nastaju asocijacijom  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  lanaca u strukture nalik križu ili slovu T (Slika 3.). Samostalno polimeriziraju, a asociiraju i s drugim elementima bazalne lamine, kao što su adhezijski protein nidogen, kolageni te proteoglikani (npr. perlekan). Također vežu površinske stanične receptore, kao što su integrini (Slika 2.) (Cooper, 2019).



Slika 2. Struktura bazalne lamine. Njezine komponente su laminini, kolageni, adhezijski protein nidogen i proteoglikani (npr. perlekan). Važni stanični receptori bazalne lamine su integrini, koji vežu laminin. Preuzeto i prilagođeno prema Alberts i sur., 2015.



Slika 3. (A) Struktura laminina. Polipeptidni lanci  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  imaju štapićaste i globularne domene. Štapićaste domene namataju se jedna oko druge u strukturu trostruke uzvojjice. Naznačene su domene važne za samoorganizaciju, vezanje nidogena, proteoglikana te površinskih staničnih receptora. (B) Mreža laminina. Preuzeto i prilagođeno prema Cooper, 2019.

Vrlo važna komponenta bazalne lamine skeletnih mišića je laminin-2, također zvan merozin. Nastaje asocijacijom triju polipeptidnih lanaca:  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$  i  $\gamma 1$ , gdje je svaki kodiran zasebnim genom (Kanagawa i Toda, 2006). Polimerizira tvoreći razgranatu mrežu, koja prianja uz plazmatsku membranu globularnom domenom  $\alpha 2$  lanca (Colognato i Yurchenco, 2000). Mutacije gena *LAMA2*, koji kodira  $\alpha 2$  lanac, mogu uzrokovati blaže oblike pojasnih mišićnih distrofija (Dowling i sur., 2021) te kongenitalne mišićne distrofije skupine MDC1A (Helbling-Leclerc i sur., 1995). Miševi deficijentni u ekspresiji gena *LAMA2* također imaju smanjenu ekspresiju gena za  $\beta$  i  $\gamma$  lance (McDearmon i sur., 1998). Nemogućnost ispravne polimerizacije laminina-2 narušava organizaciju izvanstaničnog matriksa i njegove interakcije sa stanicama (Kanagawa i Toda, 2006). Stanični receptori laminina-2 su  $\alpha$ -distroglikan (komponenta kompleksa DGC) te integrin  $\alpha 7 \beta 1$  (Cohn i Campbell, 2000). Istraživanja su pokazala da miševi koji ne mogu sintetizirati  $\beta 1$  podjedinicu integrina  $\alpha 7 \beta 1$  ugibaju tijekom embrionalnog razvoja, dok miševi koji ne mogu sintetizirati  $\alpha 7$  podjedinicu boluju od mišićne distrofije (Alberts i sur., 2015). S druge strane, distrofični fenotip modelnih miševa za Duchennovu mišićnu distrofiju,

koji nose mutacije u genima za distrofin te njemu homologni utrofin, može se ublažiti pojačanom ekspresijom  $\alpha 7$  integrina (Burkin i sur., 2001). To u terapiji oboljelih od DMD-a otvara mogućnost manipulacije ekspresije  $\alpha 7$  integrina u svrhu kompenzacije poremećaja kompleksa DGC (Kanagawa i Toda, 2006), prikazanih u drugome poglavlju.

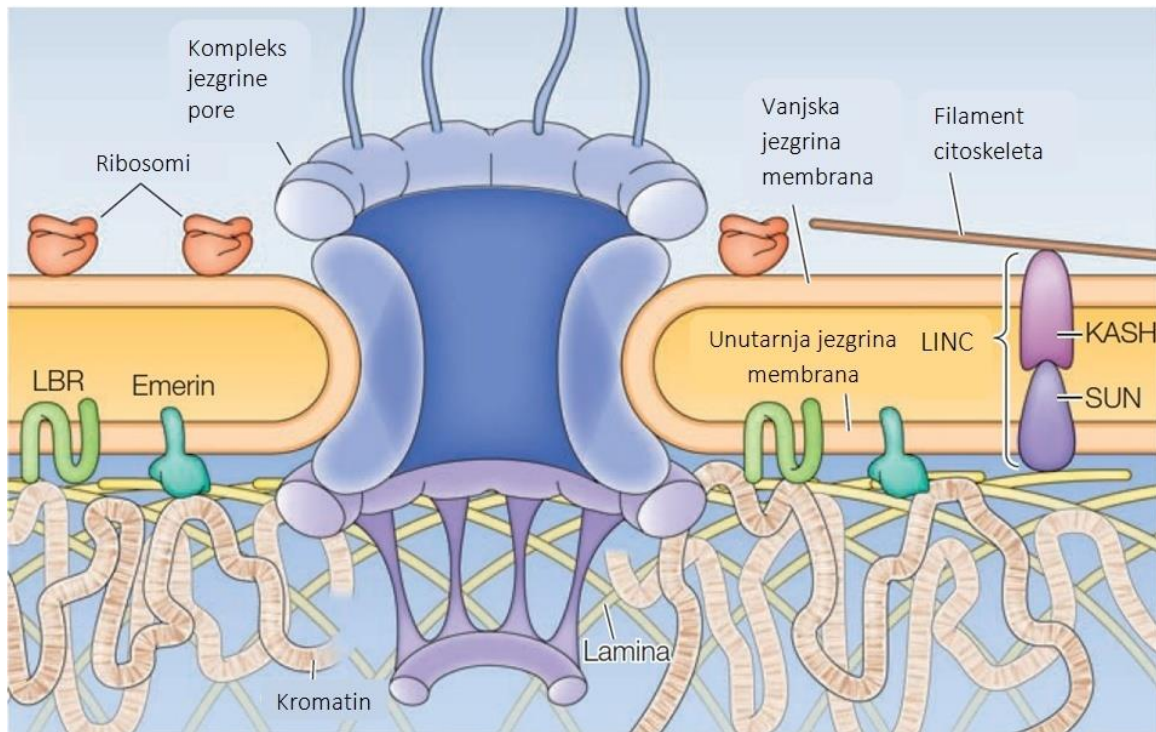
Kolagen tipa VI smješten je u sloju fibrilarne lamine. Nastaje asocijacijom lanaca  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  i  $\alpha 3$ , redom kodiranih genima *COL6A1*, *COL6A2* i *COL6A3*. Polimerizira dajući mikrofilamentoznu mrežu, koja stupa u interakciju s fibronektinom, biglikanom i kolagenom tipa IV. Važan je za održavanje mišićne funkcije jer sudjeluje u organizaciji izvanstaničnog matriksa (Sabatelli i sur., 2001) na način da povezuje retikularnu laminu s bazalnom laminom (Kanagawa i Toda, 2006). Mutacije gena koji kodiraju lance kolagena tipa VI mogu rezultirati dvama oblicima kongenitalnih mišićnih distrofija: Ullrichovom miopatijom (nasljeđuje se autosomno-recesivno) te Bethlemovom miopatijom (nasljeđuje se autosomno-dominantno) (Dowling i sur., 2021). U nekim slučajevima Bethlemove miopatije u skeletnim je mišićima zabilježena smanjena ekspresija  $\beta 1$  lanca laminina, što ukazuje na moguću funkcionalnu povezanost laminina  $\beta 1$  i kolagena tipa VI (Merlini i sur., 1999). Uslijed mutacije gena *COL6A2* može doći i do razvoja blažih oblika pojasnih mišićnih distrofija (Dowling i sur., 2021). Zajedničko bolestima vezanima uz kolagen tipa VI te laminin-2 jest pojačana apoptoza mišićnih vlakana (Dowling i sur., 2021).

#### 4. POREMEĆAJI JEZGRINE LAMINE

Glavni razlikovni čimbenik između prokariota i eukariota jest činjenica da eukariotske stanice, za razliku od prokariotskih, imaju jezgru. U njoj se odvijaju procesi replikacije DNA, transkripcije te obrade RNA. Translacija je posljednji korak u ekspresiji gena te jedini korak koji se odvija izvan jezgre, u citoplazmi. Odvajanje genoma od mjesta translacije pruža mogućnosti regulacije genske ekspresije specifične za eukariote (Cooper, 2019). Granica između jezgre i citoplazme definirana je unutarnjom i vanjskom jezgrinom membranom, koje zajedno čine jezgrinu ovojnici. Ona održava biokemijski identitet jezgre ograničavajući promet molekula između jezgre i citoplazme (Cooper, 2019), koji se odvija kroz komplekse jezgrinih pora (Ungricht i Kutay, 2017). Ispod ovojnice se nalazi jezgrina lamina, koja održava strukturu jezgre. Radi se o filamentoznoj mreži, koja se sastoji od lamina i njima asociranih proteina (Cooper, 2019; Dobrzynska i sur., 2016). Lamini su intermedijarni filamenti molekulske mase 60-80 kDa, čijom polimerizacijom nastaju strukture visoke uređenosti. Dimeri lamina nastaju ispreplitanjem  $\alpha$  zavojnica dvaju monomera. Bočnom asocijacijom dvaju dimera nastaju tetrameri, koji se nadalje uzdužno međusobno povezuju (Cooper, 2019). Sisavci imaju tri gena koji kodiraju 4 glavne izoforme lamina: gen *LMNA* kodira lamine tipa A i tipa C, dok geni *LMNB1* i *LMNB2* kodiraju lamine tipa B1 i B2 (Dobrzynska i sur., 2016). Lamini A i C nastaju alternativnim prekrajanjem transkripata *LMNA* gena (Cohn i Campbell, 2000) na mjestu desetoga eksona. Proteini dijele 566 aminokiselina na N-kraju, dok im se C-krajevi razlikuju (Stuurman i sur., 1998). Lamini tipa B svojim C-krajem trajno su usidreni u unutarnju jezgrinu membranu (Ungricht i Kutay, 2017).

Jezgrina lamina vezana je za jezgrinu ovojnici preko integralnih proteina unutarnje jezgrine membrane, kao što su emerina, receptor lamina B (LBR) te proteini s domenom SUN (SUN1 i SUN2). Emerin pripada tipu II integralnih membranskih proteina bogatih serinom. Za unutarnju jezgrinu membranu vezan je hidrofobnom C-terminalnom domenom, dok jezgrinu laminu veže N-terminalnom domenom (Manilal i sur., 1996; Morris i Manilal, 1999). Unutarnja i vanjska jezgrina membrana povezuju se interakcijom između proteina s domenom SUN i proteina s domenom KASH (tj. nesprina) u vanjskoj jezgrinoj membrani, čime nastaje kompleks LINC (engl. *linker of nucleoskeleton and cytoskeleton complex*) (Slika 4.) (Dobrzynska i sur., 2016; Dowling i sur., 2021). Proteini s domenom KASH na citoplazmatskoj strani vežu elemente

citoskeleta: aktinske filamente, motorne proteine mikrotubula i plektin (Alberts i sur., 2015). Komplex LINC povezuje jezgrinu ovojniju te laminu s citoskeletom, čime omogućava njihove interakcije (Cooper, 2019; Dobrzynska i sur., 2016).



Slika 4. Jezgrina lamina u interakciji s jezgrinom ovojnicom i kromatinom. Unutarnja jezgrina membrana veže laminu proteinom emerinom, receptorom lamina B (LBR-om) te proteinima s domenom SUN. U vanjskoj membrani nalaze se proteini s domenom KASH – nesprini. Njihovom interakcijom s proteinima s domenom SUN nastaje kompleks LINC (engl. *linker of nucleoskeleton and cytoskeleton complex*). On povezuje vanjsku i unutarnju membranu jezgre. Na mjestu stapanja dviju membrana nalazi se kompleks jezgrine pore. Preuzeto i prilagođeno prema Cooper, 2019.

Jezgrina lamina ostvaruje interakcije i s kromatinom (Slika 4.) (Höger i sur., 1991; Glass i sur., 1993). Lokalizacija genomskih regija unutar jezgre može se korelirati s razinom genske ekspresije. Heterokromatin je kromatin visokog stupnja kondenzacije. Interakcije s jezgrinom laminom i unutarnjom jezgrinom membranom omogućavaju njegovu lokalizaciju u periferiji jezgre, gdje ne dolazi do transkripcije, dok je eukromatin, tj. transkripcijski aktivan kromatin niskog stupnja kondenzacije, smješten u unutrašnjosti jezgre ili uz jezgrine pore. Dakle, položaj

kromosoma u interfaznoj jezgri nije nasumičan, već postoje definirani „kromosomski teritoriji“ (Cooper, 2019). Transkripcija gena odvija se u unutrašnjosti jezgre, u takozvanim „transkripcijskim tvornicama“, koje obiluju transkripcijskim faktorima i RNA polimerazama. U jednoj „transkripcijskoj tvornici“ transkribira se više gena, što pruža mogućnost koordinirane regulacije ekspresije funkcionalno povezanih gena (Cooper, 2019). S druge strane, u ljudskim je stanicama prisutno između 1000 i 1500 genomskih regija koje asociraju s jezgrinom laminom pa se zovu domenama LAD (engl. *lamina-associated domains*) (Cooper, 2019). Srednja duljina ovih dijelova genoma je 0,5 Mb (Bickmore i van Steensel, 2013). Zahvaćaju 35-40% ljudskoga genoma te su bogate epigenetskim oznakama histona H3K27me3 i H3K9me2, koje utišavaju gensku ekspresiju (Dobrzynska i sur., 2016). Na epigenetsku modifikaciju H3K9me2 veže se protein HP1 (engl. *heterochromatin protein 1*), koji zatim veže LBR (Cooper, 2019), čime heterokromatin asocira s jezgrinom ovojnicom. Osim slabe transkripcijske aktivnosti, za domene LAD svojstvena je i niska gustoća gena (Dobrzynska i sur., 2016). Domene LAD prisutne u velikom broju stanica nazivaju se konstitutivnima. Tijekom diferencijacije stanica dolazi do promjene asocijacije nekih heterokromatinskih regija s jezgrinom laminom, tako da postoje i domene LAD prisutne samo u nekim vrstama stanica. One se nazivaju fakultativnima (Dobrzynska i sur., 2016). Tijekom mitoze dolazi do razgradnje jezgre i kondenzacije kromatina, tako da domene LAD tada nisu definirane. Ponovno se uspostavljaju tek nakon mitoze, a zanimljivo je da brojne heterokromatinske regije ne reasociraju s jezgrinom laminom. Umjesto toga, vežu se na površinu jezgrice (Dobrzynska i sur., 2016) pa se definiraju kao domene NAD (engl. *nucleolus-associated domains*) (Cooper, 2019). Izuzetak su heterokromatinske regije s modifikacijom H3K9me2, koje uvijek reasociraju s jezgrinom ovojnicom i laminom (Dobrzynska i sur., 2016). Susjedne domene LAD često ostvaruju interakcije te je zamijećena korelacija između njihova ponašanja, koja ukazuje na kooperativnost genske ekspresije (Kind i sur., 2015).

Poremećaji jezgrine lamine uzrok su brojnim bolestima (Tablica 1.), koje se skupno nazivaju „laminopatijama“ (Dobrzynska i sur., 2016). Radi se o mutacijama gena koji kodiraju lamine, emerin, LBR te komponente kompleksa LINC. Mutacije gena *LMNA* uzrok su razvoju najvećeg broja bolesti ove skupine (Alberts i sur., 2015), među kojima su razne mišićne distrofije, kardiomiopatije, sindromi preuranjenog starenja, neuropatije i lipodistrofije (Cooper, 2019; Dobrzynska i sur., 2016).

Tablica 1. Primjeri bolesti povezanih s poremećajima jezgrine lamine. Preuzeto i prilagođeno prema Dobrzynska i sur., 2016.

BOLEST	MUTIRANI GEN	NAČIN NASLJEĐIVANJA	POGOĐENO TKIVO
Emery-Dreifussova mišićna distrofija	<i>LMNA</i>	AD/AR	poprečno-prugasti mišići
	<i>EMD</i>	XR	
	<i>SYNE1</i>	AD	
	<i>SYNE2</i>	AD	
	<i>TMEM43</i>	AD	
Pojasna mišićna distrofija tipa 1B	<i>LMNA</i>	AD	poprečno-prugasti mišići
	<i>LMNA</i>	AD	poprečno-prugasti mišići
Restriktivna dermopatija	<i>LMNA</i>	AD	koža
	<i>ZMPSTE24</i>	AR	
Hutchinson-Glifordov sindrom (progerija)	<i>LMNA</i>	AD	više organa
Greenbergova displazija	<i>LBR</i>	AR	kostur
Stečena parcijalna lipodistrofija	<i>LMNB2</i>	AD	masno tkivo
Spinocerebelarna ataksija 8	<i>SYNE1</i>	AR	središnji živčani sustav
Pelger-Huëtova anomalija	<i>LBR</i>	AD	krvni sustav

AD – autosomno i dominantno, AR – autosomno i recesivno, XR – X-vezano i recesivno.

Unatoč prisutnosti emerina i lamina u svim eukariotskim stanicama, bolesti vezane uz njihove mutacije zahvaćaju samo neka tkiva (Dobrzynska i sur., 2016). Ovaj fenomen objašnjavaju dvije hipoteze. Prema hipotezi mehaničkog stresa, poremećaji jezgrine lamine, koji smanjuju strukturni integritet jezgre i narušavaju njezinu vezu s citoskeletom, u većoj se mjeri odražavaju na tkiva izložena jakom mehaničkom stresu, kao što su mišići, koji su izloženi djelovanju kontraktilne sile (Cooper, 2019). Hipoteza genske ekspresije naglašava da poremećaji

jezgrine lamine narušavaju njezine interakcije s jezgrinom ovojnicom i kromatinom, čija se lokalizacija u jezgri zato mijenja. Drugim riječima, mijenja se organizacija domena LAD, a posljedično i genska ekspresija (Cooper, 2019). Rezultat je razvoj laminopatije, a tkivna specifičnost proizlazi iz činjenice da različite stanice eksprimiraju različite proteine jezgrine ovojnice (Worman i Schirmer, 2015), koji se vjerojatno razlikuju stupnjem osjetljivosti na poremećaje jezgrine lamine.

#### 4.1. EMERY-DREIFUSSOVA MIŠIĆNA DISTROFIJA

Emery-Dreifusovu mišićnu distrofiju (EDMD) uglavnom uzrokuju mutacije koje vode izostanku ekspresije (engl. *null*) ili pogrešne (engl. *missense*) mutacije gena *EMD*, kojim je kodiran emerin, ili već spomenutog gena *LMNA*, kojim su kodirani lamini A i C (Heller i sur., 2020).

Mutacije lamina A i C mogu promijeniti njihov naboj i hidrofobnost te time spriječiti ispravnu dimerizaciju (Hutchison i sur., 2001; Genshel i Schmidt, 2000). Zbog posljedično narušenog integriteta jezgrine ovojnice, dolazi do istiskivanja nukleoplazme (Dowling i sur., 2021). Uslijed ovakvih strukturnih promjena jezgre, stanice postaju podložnije oštećenjima, što je u skladu s hipotezom mehaničkog stresa. Osim toga, kao što naglašava hipoteza genske ekspresije, dolazi do poremećaja organizacije kromatina te epigenetskih promjena (Perovanovic i sur., 2016; Mewborn i sur., 2010).

Emerin sadrži domenu LEM, kojom stupa u interakciju s proteinom BAF (engl. *barrier-to-autointegration factor*), koji pak veže kromatin i time ima utjecaj na ekspresiju zahvaćenih gena. Za interakciju s proteinom BAF važna je posttranslacijska modifikacija emerina, pobliže O-glikozilacija, koja podrazumijeva vezanje  $\beta$ -N-acetilglukozamina (O-GlcNAc) na osam aminokiselinskih ostataka (Berk i sur., 2013). Mutacije Ser53 i Ser54 u blizini domene LEM ometaju glikozilaciju emerina i interakciju s proteinom BAF. Ove mutacije, dakle, remete organizaciju kromatina te u skladu s hipotezom genske ekspresije posljedično dolazi do razvoja EDMD-a (Dobrzynska i sur., 2016). Ovo je samo jedan primjer mutacije emerina koja uzrokuje EDMD. U većini ostalih slučajeva radi se o mutacijama koje dokidaju ekspresiju (engl. *null*) te emerin uopće nije prisutan u mišiću (Emery, 2002).



Utvrđeno je da emerin i lamin A/C sudjeluju u miogenoj diferencijaciji (Lattanzi i sur., 2000; Lourim i Lin, 1989). Prema tome, njihove mutacije imaju višestruki negativni utjecaj. Osim što izravno strukturno destabiliziraju mišićne stanice, također ometaju diferencijaciju mioblastu u miotubule, čime smanjuju kapacitet satelitnih stanica da regeneriraju oštećene dijelove tkiva (Favreau i sur., 2004).

Otprilike polovica oboljelih od EDMD-a ne nosi mutaciju u genu *EMD* niti *LMNA* (Vytopil i sur., 2003; Bethmann i sur., 2004; Zhang i sur., 2007). Bolest mogu uzrokovati i određene mutacije gena *SYNE1* i *SYNE2* (kodiraju nesprine) te *FHL1* (engl. *Four And A Half LIM Domains 1*) (Dowling i sur., 2021; Gueneau i sur., 2009). Gen *FHL1* kodira tri izoforme proteina FHL1. Radi se o proteinima s važnom ulogom u razvoju skeletnih mišića, kao i srčanog mišića. Najbolje proučena izoforma je FHL1A, koja u interakciji s drugim proteinima utječe na sastavljanje sarkomera i provođenje signala mišićnim vlaknima. Osim toga, utječe na rast i veličinu mišića (MedlinePlus 2017b).

Geni *EMD* i *FHL1* nalaze se na X kromosomu, tako da se EDMD uzrokovane njihovim mutacijama nasljeđuju na spolno vezani način. Mutirani su aleli recesivni (Dobrzynska i sur., 2016), pa se ove varijante bolesti češće javljaju u muškoj populaciji (MedlinePlus 2017a). S druge strane, geni *LMNA* te *SYNE1* i *SYNE2* nalaze se na autosomima. Mutacije gena *SYNE* su dominantne, dok mutacije gena *LMNA* mogu biti i dominantne i recesivne (Dobrzynska i sur., 2016). Dominantna je mutacija češća te uzrokuje blaži oblik bolesti (Emery, 2002). U 65% slučajeva nije naslijeđena, nego se događa *de novo* (MedlinePlus 2017a). Bolest nastupa zbog haploinsuficijencije lamina A/C (Bonne i sur., 1999).

Kao što je prikazano, EDMD ima heterogenu genetsku pozadinu. Unatoč tome, različite varijante imaju slične simptome. Bolest se vrlo rano očituje ograničenom pokretljivošću zglobova. Laktovi i vrat postaju ukočeni, a dolazi i do skraćivanja Ahilove tetive pa oboljeli često već u djetinjstvu počnu hodati na prstima. Slabljenje te trošenje mišića ramena, ruku i listova također počinje rano, međutim, napreduje polagano pa u početku ne predstavlja znatan problem (Cooper, 2019). Problemi sa srcem obično nastupaju nešto kasnije, a podrazumijevaju poremećeno provođenje električnih impulsa, aritmije te kardiomiopatiju (Emery, 2000), zbog čega često dolazi do iznenadne smrti (Bécane i sur., 2000; van Berlo i sur., 2004; Sakata i sur., 2005), čak i u naizgled zdravih mladih osoba (Emery, 2002).

## 5. OSTALI ČESTI OBLICI MIŠIĆNIH DISTROFIJA

Distalne mišićne distrofije broje dvadesetak poremećaja koji se očituju distalnim slabljenjem mišića, uglavnom u rukama, podlakticama, potkoljenicama i stopalima. Većina gena čije mutacije vode razvoju ovih bolesti kodira proteine sarkoleme (Udd, 2011). Primjer takvog proteina je disferlin, za koji se smatra da igra važnu ulogu u popravku sarkoleme u slučaju oštećenja. Njegove mutacije uzrokuju LGMD2B ili oblik distalne mišićne distrofije zvan Miyoshijeva miopatija (MedlinePlus, 2014b).

Facioskapulohumeralna mišićna distrofija (FSHD) treći je najčešći oblik mišićnih distrofija (Jia i sur., 2021). Bolest pogađa mišiće lica, lopatica i nadlaktica (MedlinePlus, 2014c). Postoje dva tipa ove bolesti, a oba su uzrokovana promjenama u genomskoj regiji na duljem kraku četvrtoga kromosoma, zvanog D4Z4, koja sadrži 8-150 ponavljanja sekvence DNA duljine 3,3 kb (Jia i sur., 2021). Regija D4Z4 inače je hipermetilirana, čime je u odraslim tkivima utišana ekspresija gena *DUX4*, inače aktivnog tijekom ranog embrionalnog razvoja i u testisima odraslih muškaraca (MedlinePlus, 2014a). FSHD nastupaju zbog hipometilacije regije D4Z4 i posljedične ekspresije gena *DUX4* tamo gdje je inače nema. *DUX4* je transkripcijski faktor koji potiče ekspresiju određenih gena koji dovode do smrti mišićne stanice (Jia i sur., 2021). Kod FSHD1 hipometilacija nastupa zbog delecije unutar regije D4Z4, kojom se ona svodi na svega 1-10 ponavljajućih sekvenci (MedlinePlus, 2014c). Hipometilaciju u slučaju FSHD2 uzrokuje mutacija gena *SMCHD1*. Njime kodirani protein zadužen je za metilaciju regije D4Z4 (MedlinePlus, 2014c). Osim toga, FSHD2 može biti uzrokovana i mutacijama gena *DNMT3B*, čiji genski produkt također metilira DNA. Najnovija istraživanja navode da mutacije gena *LRIF1* također vodi razvoju FSHD2. Naime, protein LRIF1 stupa u interakciju s proteinom SMCHD1 (Jia i sur., 2021). Treba istaknuti da ekspresija gena *DUX4* može biti potaknuta samo kod permisivnog haplotipa, koji sadrži ekson 3. U njemu se nalazi poliadenilacijski signal, koji stabilizira transkript gena *DUX4* (Jia i sur., 2021). Vrlo blizu regije D4Z4 nalazi se gen koji kodira protein ALP (engl. *actinin-associated LIM protein*) (Bredt, n.d.). Aktinini su predački proteini distrofina zaduženi za unakrsno povezivanje aktinskih mikrofilamenata (Murphy i Young, 2015). Kako protein ALP asocira s aktininima, koji pak utječu na organizaciju aktina, moguće je da njegov poremećaj utječe na distrofiju mišića kod oboljelih od FSHD-a.

Okulofaringealna mišićna distrofija prvo se očituje slabošću mišića kapaka i vrata, a s vremenom zahvaća i ostale skeletne mišiće. Uzrokovana je mutacijama gena *PABPN1* (engl. *poly(A) binding protein nuclear 1*) (MedlinePlus, 2018), koji na 5' kraju kodira šest alanina. Bolest nastupa ako se taj broj poveća na 8-13. Inače, protein PABPN1 uključen je u sintezu poli-A repa i transport mRNA molekula (National Center for Biotechnology Information, 2023b).

Miotonične mišićne distrofije karakteristične su po miotoniji – produljenim mišićnim kontrakcijama. Postoje dva tipa bolesti. Tip 1 uzrokovan je mutacijama gena *DMPK*, a tip 2 mutacijama gena *CNBP* (MedlinePlus, 2020). U oba slučaja funkciju gena narušava povećani broj ponavljanja kratkih nukleotidnih sekvenci (Vydra i Rayi, 2022). Nastaju produljeni transkripti koji stvaraju nakupine i ometaju stanične procese (MedlinePlus, 2020).

## 6. TERAPIJSKI PRISTUPI MIŠIĆNIM DISTROFIJAMA

Za razvoj učinkovitih terapija potrebno je detektirati mutacije koje rezultiraju razvojem mišićnih distrofija, kao i razumjeti funkciju divljih tipova proteina kodiranih genima u kojima se te mutacije događaju. Više različitih terapijskih pristupa trenutno je predmetom kliničkih ispitivanja (Dowling i sur., 2021).

Preskakanje eksona (engl. *exon skipping*) je metoda kojom se krivi okvir čitanja može povratiti u originalni (Dowling i sur., 2021), na način da se iz primarnoga transkripta izrežu odabrani eksoni (Yokota i sur., 2007). Unatoč deleciji tih eksona, translacijom nastaje djelomično funkcionalni protein (Cooper, 2019), upravo zato što je uspostavljen stari okvir čitanja. Ovako se mutacije koje rezultiraju razvojem DMD-a posttranskripcijski mogu pretvoriti u mutacije koje izazivaju BMD, bolest s puno blažim simptomima (Dowling i sur., 2021). Preskakanje eksona inducira se oligonukleotidima *antisense* (Yokota i sur., 2007). Nedostaci metode su potreba za njihovom administracijom na tjednoj bazi te niska učinkovitost (Hanson i sur., 2021). Alternativa korištenju oligonukleotida *antisense* u budućnosti bi mogla biti njihova trajna ekspresija pomoću sekvenci transkribiranih s vektora - adeno-asociranog virusa (AAV) unesenog u stanicu (Simmons i sur., 2021).

Osim u preskakanju eksona, oligonukleotidi *antisense* primjenu bi mogli naći i u utišavanju određenih alela odgovornih za mišićne poremećaje. Ta se mogućnost ispituje u kontekstu dominantnih mutacija gena koji kodiraju lance kolagena tipa VI (Foley i sur., 2004).

Mišićne distrofije mogle bi se izliječiti kada bi se mutirani gen jednostavno zamijenio genom divljeg tipa (Kanagawa i Toda, 2006). Takvo što nastoji se postići pomoću vektora AAV. Trenutno se ispituje mogućnost primjene ove metode za DMD i pojasne mišićne distrofije uzrokovane mutacijama sarkoglikana (Dowling i sur., 2021). Vektori AAV nemaju dovoljno velik kapacitet da bi se u njih mogla ugraditi cjelovita cDNA za distrofin (Lapidos i sur., 2004). Kapacitet virusa AAV je 5 kb, dok je cDNA distrofina duža od 11 kb (Lostal i sur., 2014). Zato se ugrađuju skraćeni oblici gena, čijom ekspresijom nastaje krnji distrofin (Lapidos i sur., 2004) funkcionalno usporediv s distrofinom pune veličine (Kanagawa i Toda, 2006). To je moguće zato što je štapičasta domena distrofina tolerantna na velike delecije, pod uvjetom da je očuvan originalni okvir čitanja (Gao i McNally, 2015). Ekspresija distrofina posredovana adenovirusnim vektorima u distrofičnim je miševima dovela do povećane mišićne snage te smanjenog

oštećivanja mišića prilikom kontrakcija (DelloRusso i sur., 2002). Nedostatak metode je mogućnost razvoja imunosne reakcije na virusni vektor. Promjenama na samome vektoru može se smanjiti vjerojatnost toga događaja (Lapidos i sur., 2004).

Upotreba matičnih stanica obećavajući je terapijski pristup mišićnim distrofijama (Kanagawa i Toda, 2006). Ideja je da se izogene matične stanice koje nose alel divljeg tipa (za gen koji je kod distrofične jedinke inače mutiran) ugrade u oštećeno mišićno tkivo i fuzioniraju s postojećim mišićnim vlaknima. Njihovom diferencijacijom nastaje populacija zdravih stanica pa se mišić može obnoviti (Lapidos i sur., 2004). Najzahtjevniji dio ovog terapijskog pristupa je korak transplantacije. Vrlo je teško ravnomjerno rasporediti stanice u mišiće te je rezultirajući omjer zdravih i bolesnih stanica često vrlo nizak (EuroStemCell, 2016).

Terapija proteinima također je jedna od mogućnosti. Ideja je da se normalnim proteinom nadomjesti endogeni mutirani protein poremećene funkcije (Dowling i sur., 2021). Ovaj se pristup razmatra u kontekstu poremećaja izvanstaničnoga matriksa, tj. kongenitalnih mišićnih distrofija uzrokovanih mutacijama gena *LAMA2* (Barraza-Flores i sur., 2020).

Ataluren je lijek koji dokida razgradnju distrofinskih transkriptata s preuranjenim stop-kodonom te suprimira nastalu besmisleni (engl. *nonsense*) mutaciju, što omogućava nastavak translacije umjesto da dođe do terminacije (Dowling i sur., 2021). Antibiotik gentamicin također je supresor stop-kodona (Kanagawa i Toda, 2006). Njihova se primjena pokazala uspješnom na miševima *mdx*, tj. modelnim miševima za DMD (Peltz i sur., 2009; Barton-Davis i sur., 1999). Uspješnom u suzbijanju distrofičnog fenotipa pokazala se i primjena tamoksifena, inače terapeutika koji se koristi u hormonskoj terapiji oboljelih od raka dojke (Dowling i sur., 2021).

Sustav CRISPR-Cas9 pruža razne mogućnosti u liječenju mišićnih distrofija. Može se koristiti za preskakanje eksona na način da na granici eksona i introna uvede ciljane mutacije. Nadalje, može se koristiti za precizno uređivanje gena, kako bi se ispravile mutacije koje izazivaju bolest. Također pruža mogućnost manipulacije genske ekspresije. Tako se, primjerice, poremećaji distrofina mogu kompenzirati povećanom ekspresijom njemu homolognog utrofina (Dowling i sur., 2021). Analogno tome, povećanom ekspresijom  $\alpha 1$  lanca laminina mogao bi se funkcionalno nadomjestiti mutirani  $\alpha 2$  lanac (Kemaladewi i sur., 2019). Osim toga, istraživanja na miševima pokazala su da sarkoglikan  $\epsilon$  može funkcionalno zamijeniti sarkoglikan  $\alpha$  (Imamura i sur., 2005), što bi eventualno također moglo naći terapijsku primjenu.

## 7. ZAKLJUČAK

Kako bi obavljali rad, mišići kontrahiraju. Samim time nalaze se pod velikim mehaničkim opterećenjem - kontraktilna sila koju proizvode sposobna je inducirati oštećenja. Na razini stanice i njezine okoline stoga postoje preduvjeti koji osiguravaju takav prijenos kontraktilne sile da do oštećenja ne dođe. U prvom redu radi se o proteinima i proteinskim kompleksima koji povezuju citoskelet s izvanstaničnim matriksom. Interakcije koje spomenuti proteini ostvaruju održavaju integritet sarkoleme. Nadalje, za genetsku stabilnost mišićnih stanica važan je integritet jezgre. On je uvjetovan postojanjem i ispravnošću interakcija jezgrine ovojnice s citoskeletom i jezgrinom laminom. Ako bilo gdje na potezu izvanstanični matriks – sarkolema – citoskelet – jezgra dođe do poremećaja koji kompromitira strukturnu i/ili genetsku stabilnost mišićnih stanica, kao posljedica toga mogu se javiti bolesti iz skupine mišićnih distrofija, kod kojih će se nastali poremećaj ispoljiti u obliku slabosti i propadanja mišića.

Iako simptomima relativno slični, do sada opisani oblici mišićnih distrofija pokazuju veliku heterogenost na molekularnoj razini. Pojam koji imamo o raznolikosti ovih bolesti još će se više proširiti identifikacijom novih ključnih gena i proteina te razumijevanjem njihovih uloga u stanici. Terapijski pristupi mišićnim distrofijama, iako brojni, još su uvijek u povojima, međutim, daju nadu da će oboljeli u budućnosti moći lakše živjeti s ovim stanjima.

## 8. LITERATURA

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K. i Walter, P. (2015). *Molecular biology of the cell* (6. Izdanje). New York, Ny: Garland Science.

Allen, D.G. (2001). Eccentric muscle damage: mechanisms of early reduction of force. *Acta Physiologica Scandinavica*, 171(3), 311–319.

Amann, K.J., Renley, B.A. i Ervasti, J.M. (1998). A Cluster of Basic Repeats in the Dystrophin Rod Domain Binds F-actin through an Electrostatic Interaction. *Journal of Biological Chemistry*, 273(43), 28419–28423.

Barraza-Flores, P., Bukovec, K.E., Dagda, M., Conner, B.W., Oliveira-Santos, A., Grange, R.W. i Burkin, D.J. (2020). Laminin-111 protein therapy after disease onset slows muscle disease in a mouse model of laminin- $\alpha$ 2 related congenital muscular dystrophy. *Human Molecular Genetics*, 29(13), 2162–2170.

Barresi, R. i sur. (2000). Disruption of heart sarcoglycan complex and severe cardiomyopathy caused by beta sarcoglycan mutations. *Journal of Medical Genetics*, 37(2), 102–107.

Barton-Davis, E.R., Cordier, L., Shoturma, D.I., Leland, S.E. i Sweeney, H.L. (1999). Aminoglycoside antibiotics restore dystrophin function to skeletal muscles of mdx mice. *Journal of Clinical Investigation*, 104(4), 375–381.

Bécane, H.M., Bonne, G., Varnous, S., Muchir, A., Ortega, V., Hammouda, E.H., Urtizberea, J.A., Lavergne, T., Fardeau, M., Eymard, B., Weber, S., Schwartz, K. i Duboc, D. (2000). High incidence of sudden death with conduction system and myocardial disease due to lamins A and C gene mutation. *Pacing and clinical electrophysiology: PACE*, 23(11 Pt 1), 1661–1666.

Belanto, J.J., Mader, T.L., Eckhoff, M.D., Strandjord, D.M., Banks, G.B., Gardner, M.K., Lowe, D.A. i Ervasti, J.M. (2014). Microtubule binding distinguishes dystrophin from utrophin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(15), 5723–5728.

Berk, J.M., Maitra, S., Dawdy, A.W., Shabanowitz, J., Hunt, D.F. i Wilson, K.L. (2013). O-Linked  $\beta$ -N-Acetylglucosamine (O-GlcNAc) Regulates Emerin Binding to Barrier to Autointegration Factor (BAF) in a Chromatin- and Lamin B-enriched ‘Niche’. *Journal of Biological Chemistry*, 288(42), 30192–30209.

Bethmann, C.I., Wasner, C. i Wehnert, M.S. (2004). Candidate gene testing for Emery–Dreifuss muscular dystrophy. 9. International World Muscle Society Congress. Neuromuscular Disorders, Göteborg, Švedska, 1.–4. rujna, 593.

Bickmore, W.A. i van Steensel, B. (2013). Genome Architecture: Domain Organization of Interphase Chromosomes. *Cell*, 152(6), 1270–1284.

Bonne, G., Barletta, M.R.D., Varnous, S., Bécane, H.M., Hammouda, E.H., Merlini, L., Muntoni, F., Greenberg, C.R., Gary, F., Urtizbera, J.A., Duboc, D., Fardeau, M., Toniolo, D. i Schwartz, K. (1999). Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nature Genetics*, 21(3), 285–288.

Bredt, D. Actinin Associated Lim Protein & Fsh Muscular Dystrophy. *grantome.com*. <https://grantome.com/grant/NIH/R01-NS034822-05S1> (pristupljeno 7. kolovoza 2023.)

Brenman, J.E., Chao, D.S., Xia, H., Aldape, K. i Bredt, D.S. (1995). Nitric oxide synthase complexed with dystrophin and absent from skeletal muscle sarcolemma in Duchenne muscular dystrophy. *Cell*, 82(5), 743–752.

Burkin, D.J., Wallace, G.Q., Nicol, K.J., Kaufman, D.J. i Kaufman, S.J. (2001). Enhanced Expression of the  $\alpha7\beta1$  Integrin Reduces Muscular Dystrophy and Restores Viability in Dystrophic Mice. *Journal of Cell Biology*, 152(6), 1207–1218.

Buysse, K., Riemersma, M., Powell, G., van Reeuwijk, J., Chitayat, D., Roscioli, T., Kamsteeg, E.J., van den Elzen, C., van Beusekom, E., Blaser, S., Babul-Hirji, R., Halliday, W., Wright, G.J., Stemple, D.L., Lin, Y.Y., Lefeber, D.J. i van Bokhoven, H. (2013). Missense mutations in  $\beta$ -1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 1 (B3GNT1) cause Walker–Warburg syndrome. *Human Molecular Genetics*, 22(9), 1746–1754.

Carss, K.J. i sur. (2013). Mutations in GDP-mannose pyrophosphorylase B cause congenital and limb-girdle muscular dystrophies associated with hypoglycosylation of  $\alpha$ -dystroglycan. *American Journal of Human Genetics*, 93(1), 29–41.

Cassano, M., Dellavalle, A., Tedesco, F.S., Quattrocchi, M., Crippa, S., Ronzoni, F., Salvade, A., Berardi, E., Torrente, Y., Cossu, G. i Sampaolesi, M. (2011). Alpha sarcoglycan is required for FGF-dependent myogenic progenitor cell proliferation in vitro and in vivo. *Development*, 138(20), 4523–4533.

Cohn, R.D. i Campbell, K.P. (2000). Molecular basis of muscular dystrophies. *Muscle & Nerve*, 23(10), 1456–1471.

Cognato, H. i Yurchenco, P.D. (2000). Form and function: The laminin family of heterotrimers. *Developmental Dynamics*, 218(2), 213–234.

Cooper, G. (2019). *CELL: a molecular approach* (8. izdanje). Oxford, New York: Sinauer Associates.



Crosbie, R.H. i sur. (1999). Membrane Targeting and Stabilization of Sarcospan Is Mediated by the Sarcoglycan Subcomplex. *Journal of Cell Biology*, 145(1), 153–165.

DelloRusso, C., Scott, J.M., Hartigan-O'Connor, D., Salvatori, G., Barjot, C., Robinson, A.S., Crawford, R.W., Brooks, S.V. i Chamberlain, J.S. (2002). Functional correction of adult *mdx* mouse muscle using gutted adenoviral vectors expressing full-length dystrophin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(20), 12979–12984.

Di Costanzo, S. i sur. (2014). POMK mutations disrupt muscle development leading to a spectrum of neuromuscular presentations. *23(21)*, 5781–5792.

Dobrzynska, A., Gonzalo, S., Shanahan, C. i Askjaer, P. (2016). The nuclear lamina in health and disease. *Nucleus*, 7(3), 233–248.

Dowling, J.J., Weihl, C.C. i Spencer, M.J. (2021). Molecular and cellular basis of genetically inherited skeletal muscle disorders. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 22(11), 713–732.

Emery, A.E.H. (2000). Emery–Dreifuss muscular dystrophy – a 40 year retrospective. *Neuromuscular Disorders*, 10(4-5), 228–232.

Emery, A.E.H. (2002). The muscular dystrophies. *The Lancet*, 359(9307), 687–695.

Ervasti, J. i Campbell, K. (1993). A role for the dystrophin-glycoprotein complex as a transmembrane linker between laminin and actin. *The Journal of Cell Biology*, 122(4), 809–823.

EuroStemCell. (2016). Muscular dystrophy: how could stem cells help? <https://www.eurostemcell.org/muscular-dystrophy-how-could-stem-cells-help> (pristupljeno 4. kolovoza 2023.)

Favreau, C., Higuete, D., Courvalin, J.C. i Buendia, B. (2004). Expression of a Mutant Lamin A That Causes Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy Inhibits In Vitro Differentiation of C2C12 Myoblasts. *24(4)*, 1481–1492.

Finsterer, J. i Stöllberger, C. (2003). The Heart in Human Dystrophinopathies. *Cardiology*, 99(1), 1–19.

Foley, A.R., Mohassel, P., Donkervoort, S. i sur. (2004). Collagen VI-Related Dystrophies. *GeneReviews*.

Galbiati, F., Razani, B. i Lisanti, M.P. (2001). Caveolae and caveolin-3 in muscular dystrophy. *Trends in Molecular Medicine*, 7(10), 435–441.

Galbiati, F., Volonté, D., Minetti, C., Chu, J.B. i Lisanti, M.P. (1999). Phenotypic Behavior of Caveolin-3 Mutations That Cause Autosomal Dominant Limb Girdle Muscular Dystrophy (LGMD-1C). *Journal of Biological Chemistry*, 274(36), 25632–25641.

- Gao, Q.Q. i McNally, E.M. (2015). The Dystrophin Complex: Structure, Function, and Implications for Therapy. *Comprehensive Physiology*, 5(3), 1223–1239.
- Genschel, J. i Schmidt, H.H. (2000). Mutations in the LMNA gene encoding lamin A/C. *Human Mutation*, 16(6), 451–459.
- Gillis, J.M. (1999). Understanding dystrophinopathies: an inventory of the structural and functional consequences of the absence of dystrophin in muscles of the mdx mouse. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 20(7), 605–625.
- Glass, C.A., Glass, J.T., H. Taniura, Hasel, K.W., Blevitt, J.M. i Gerace, L. (1993). The alpha-helical rod domain of human lamins A and C contains a chromatin binding site. 12(11), 4413–4424.
- Gueneau, L., Bertrand, A.T., Jais, J. P., Salih, M.A., Stojkovic, T., Wehnert, M., Hoeltzenbein, M., Spuler, S., Saitoh, S., Verschuere, A., Tranchant, C., Beuvin, M., Lacene, E., Romero, N.B., Heath, S., Zelenika, D., Voit, T., Eymard, B., Ben Yaou, R. i Bonne, G. (2009). Mutations of the FHL1 gene cause Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *American journal of human genetics*, 85(3), 338–353.
- Guyon, J.R., Kudryashova, E., Potts, A., Dalkilic, I., Brosius, M.A., Thompson, T.G., Beckmann, J.S., Kunkel, L.M. i Spencer, M.J. (2003). Calpain 3 cleaves filamin C and regulates its ability to interact with gamma- and delta-sarcoglycans. *Muscle & Nerve*, 28(4), 472–483.
- Hanson, B., Wood, M.J.A. i Roberts, T.C. (2021). Molecular correction of Duchenne muscular dystrophy by splice modulation and gene editing. *RNA Biology*, 18(7), 1048–1062.
- Helbling-Leclerc, A., Zhang, X., Topaloglu, H., Cruaud, C., Tesson, F., Weissenbach, J., Tomé, F.M.S., Schwartz, K., Fardeau, M., Tryggvason, K. i Guicheney, P. (1995). Mutations in the laminin  $\alpha 2$ -chain gene (LAMA2) cause merosin-deficient congenital muscular dystrophy. *Nature Genetics*, 11(2), 216–218.
- Heller, S.A., Shih, R., Kalra, R. i Kang, P.B. (2020). Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Muscle & Nerve*, 61(4), 436–448.
- Hoffman, E.P., Brown, R.H. i Kunkel, L.M. (1987). Dystrophin: The protein product of the duchenne muscular dystrophy locus. *Cell*, 51(6), 919–928.
- Höger, T.H., Krohne, G. i Kleinschmidt, J.A. (1991). Interaction of Xenopus lamins A and LII with chromatin in vitro mediated by a sequence element in the carboxyterminal domain. *Experimental Cell Research*, 197(2), 280–289.
- Houang, E.M., Sham, Y.Y., Bates, F.S. i Metzger, J.M. (2018). Muscle membrane integrity in Duchenne muscular dystrophy: recent advances in copolymer-based muscle membrane stabilizers. *Skeletal Muscle*, 8(1).

- Hutchison, C.J., Alvarez-Reyes, M. i Vaughan, O.A. (2001). Lamins in disease: why do ubiquitously expressed nuclear envelope proteins give rise to tissue-specific disease phenotypes? *Journal of Cell Science*, 114(1), 9–19.
- Ibraghimov-Beskrovnaya, O., Ervasti, J.M., Leveille, C.J., Slaughter, C.A., Sernett, S.W. i Campbell, K.P. (1992). Primary structure of dystrophin-associated glycoproteins linking dystrophin to the extracellular matrix. *Nature*, 355(6362), 696–702.
- Imamura, M., Mochizuki, Y, Engvall, E. i Takeda, S. (2005). Epsilon-sarcoglycan compensates for lack of alpha-sarcoglycan in a mouse model of limb-girdle muscular dystrophy. *Human Molecular Genetics*, 14(6), 775–783.
- Jia, F.F., Drew, A.P., Nicholson, G.A., Corbett, A. i Kumar, K.R. (2021). Facioscapulohumeral muscular dystrophy type 2: an update on the clinical, genetic, and molecular findings. *Neuromuscular Disorders*, 31(11), 1101–1112.
- Kanagawa, M. (2021). Dystroglycanopathy: From Elucidation of Molecular and Pathological Mechanisms to Development of Treatment Methods. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 13162.
- Kanagawa, M. i Toda, T. (2006). The genetic and molecular basis of muscular dystrophy: roles of cell–matrix linkage in the pathogenesis. *Journal of Human Genetics*, 51(11), 915–926.
- Kang, C., Badr, M.A., Kyrychenko, V., Eskelinen, E. L. i Shirokova, N. (2018). Deficit in PINK1/PARKIN-mediated mitochondrial autophagy at late stages of dystrophic cardiomyopathy. *Cardiovascular Research*, 114(1), 90–102.
- Kemaladewi, D.U., Bassi, P.S., Erwood, S., Al-Basha, D., Gawlik, K.I., Lindsay, K., Hyatt, E., Kember, R., Place, K.M., Marks, R.M., Durbeej, M., Prescott, S.A., Ivakine, E.A. i Cohn, R.D. (2019). A mutation-independent approach for muscular dystrophy via upregulation of a modifier gene. *Nature*, 572(7767), 125–130.
- Kind, J., Pagie, L., de Vries, Sandra S., Nahidiazar, L., Dey, Siddharth S., Bienko, M., Zhan, Y., Lajoie, B., de Graaf, Carolyn A., Amendola, M., Fudenberg, G., Imakaev, M., Mirny, Leonid A., Jalink, K., Dekker, J., van Oudenaarden, A. i van Steensel, B. (2015). Genome-wide Maps of Nuclear Lamina Interactions in Single Human Cells. *Cell*, 163(1), 134–147.
- Koenig, M. i Kunkel, L.M. (1990). Detailed analysis of the repeat domain of dystrophin reveals four potential hinge segments that may confer flexibility. *The Journal of Biological Chemistry*, 265(8), 4560–4566.

- Koenig, M., Hoffman, E.P., Bertelson, C.J., Monaco, A.P., Feener, C. i Kunkel, L.M. (1987). Complete cloning of the duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals. *Cell*, 50(3), 509–517.
- Kyrychenko, V., Poláková, E., Janíček, R. i Shirokova, N. (2015). Mitochondrial dysfunctions during progression of dystrophic cardiomyopathy. *Cell Calcium*, 58(2), 186–195.
- Lapidos, K.A., Kakkar, R. i McNally, E.M. (2004). The Dystrophin Glycoprotein Complex. *Circulation Research*, 94(8), 1023–1031.
- Lattanzi, G., Ognibene, A., Sabatelli, P., Capanni, C., Toniolo, D., Columbaro, M., Santi, S., Riccio, M., Merlini, L., Maraldi, N.M. i Squarzoni, S. (2000). Emerin expression at the early stages of myogenic differentiation. *Differentiation; Research in Biological Diversity*, 66(4-5), 208–217.
- Le Rumeur, E., Fichou, Y., Pottier, S., Gaboriau, F., Rondeau-Mouro, C., Vincent, M., Gallay, J. i Bondon, A. (2003). Interaction of Dystrophin Rod Domain with Membrane Phospholipids. 278(8), 5993–6001.
- Longman, C. i sur. (2003). Mutations in the human LARGE gene cause MDC1D, a novel form of congenital muscular dystrophy with severe mental retardation and abnormal glycosylation of alpha-dystroglycan. *Human Molecular Genetics*, 12(21), 2853–2861.
- Lostal, W., Kodippili, K., Yue, Y. i Duan, D. (2014). Full-Length Dystrophin Reconstitution with Adeno-Associated Viral Vectors. *Human Gene Therapy*, 25(6), 552–562.
- Lourim, D. i Lin, J.J. (1989). Expression of nuclear lamin A and muscle-specific proteins in differentiating muscle cells in ovo and in vitro. *The Journal of Cell Biology*, 109(2), 495–504.
- Manilal, S., Nguyen, T.M., Sewry, C.A. i Morris, G.E. (1996). The Emery-Dreifuss muscular dystrophy protein, emerin, is a nuclear membrane protein. *Human Molecular Genetics*, 5(6), 801–808.
- Maraldi, N.M., Lattanzi, G., Sabatelli, P., Ognibene, A. i Squarzoni, S. (2002). Functional domains of the nucleus: implications for Emery–Dreifuss muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*, 12(9), 815–823.
- Mareedu, S., Million, E.D., Duan, D. i Babu, G.J. (2021). Abnormal Calcium Handling in Duchenne Muscular Dystrophy: Mechanisms and Potential Therapies. *Frontiers in Physiology*, 12, 647010.
- McDearmon, E.L., Burwell, A.L., Combs, A.C., Renley, B.A., Sdano, M.T. i Ervasti, J.M. (1998). Differential heparin sensitivity of alpha-dystroglycan binding to laminins expressed in normal and dy/dy mouse skeletal muscle. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(37), 24139–24144.

McNally, E.M. i Pytel, P. (2007). Muscle Diseases: The Muscular Dystrophies. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 2(1), 87–109.

MedlinePlus. (2014a). DUX4 gene. <https://medlineplus.gov/genetics/gene/dux4/> (pristupljeno 7. kolovoza 2023.)

MedlinePlus. (2014b). DYSF gene. <https://medlineplus.gov/genetics/gene/dysf/> (pristupljeno 7. kolovoza 2023.)

MedlinePlus. (2014c). Facioscapulohumeral muscular dystrophy. <https://medlineplus.gov/genetics/condition/facioscapulohumeral-muscular-dystrophy/> (pristupljeno 7. kolovoza 2023.)

MedlinePlus. (2017a). Emery-Dreifuss muscular dystrophy. <https://medlineplus.gov/genetics/condition/emery-dreifuss-muscular-dystrophy/#inheritance> (pristupljeno 27. srpnja 2023.)

MedlinePlus. (2017b). FHL1 Gene. <https://medlineplus.gov/genetics/gene/fhl1/#function> (pristupljeno 27. srpnja 2023.)

MedlinePlus. (2018). Oculopharyngeal muscular dystrophy. <https://medlineplus.gov/genetics/condition/oculopharyngeal-muscular-dystrophy/> (pristupljeno 7. kolovoza 2023.)

MedlinePlus. (2020). Myotonic dystrophy. <https://medlineplus.gov/genetics/condition/myotonic-dystrophy/> (pristupljeno 7. kolovoza 2023.)

Melacini, P., Fanin, M., Duggan, D.J., Freda, M.P., Berardinelli, A., Danieli, G.A., Barchitta, A., Hoffman, E.P., Dalla Volta, S. i Angelini, C. (1999). Heart involvement in muscular dystrophies due to sarcoglycan gene mutations. *Muscle & Nerve*, 22(4), 473–479.

Merlini, L., Villanova, M., Sabatelli, P., Malandrini, A. i Maraldi, N.M. (1999). Decreased expression of laminin  $\beta 1$  in chromosome 21-linked Bethlem myopathy. *Neuromuscular Disorders*, 9(5), 326–329.

Mewborn, S.K., Puckelwartz, M.J., Abuisneineh, F., Fahrenbach, J.P., Zhang, Y., MacLeod, H., Dellefave, L., Pytel, P., Selig, S., Labno, C.M., Reddy, K., Singh, H. i McNally, E. (2010). Altered Chromosomal Positioning, Compaction, and Gene Expression with a Lamin A/C Gene Mutation. *PLoS ONE*, 5(12), e14342.

Michele, D.E. i Campbell, K.P. (2003). Dystrophin-Glycoprotein Complex: Post-translational Processing and Dystroglycan Function. *Journal of Biological Chemistry*, 278(18), 15457–15460.

Morris, G.E. i Manilal, S. (1999). Heart to heart: from nuclearproteins to Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Human Molecular Genetics*, 8(10), 1847–1851.

Muntoni, F. (2004). Journey into muscular dystrophies caused by abnormal glycosylation. *Acta Myologica: Myopathies and Cardiomyopathies: Official Journal of the Mediterranean Society of Myology*, 23(2), 79–84.

Murphy, A.C.H. i Young, P.W. (2015). The actinin family of actin cross-linking proteins – a genetic perspective. *Cell & Bioscience*, 5(1).

National Center for Biotechnology Information. (2023a). LARGE1 LARGE xylosyl- and glucuronyltransferase 1 [*Homo sapiens* (human)]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/9215#summary> (pristupljeno 26. kolovoza 2023.)

National Center for Biotechnology Information. (2023b). PABPN1 poly(A) binding protein nuclear 1 [*Homo sapiens* (human)]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8106> (pristupljeno 7. kolovoza 2023.)

Nigro, V. i Savarese, M. (2014). Genetic basis of limb-girdle muscular dystrophies: the 2014 update. *Acta Myologica: Myopathies and Cardiomyopathies: Official Journal of the Mediterranean Society of Myology*, 33(1), 1–12.

Ogawa, M. i sur. (2013). GTDC2 modifies O-mannosylated  $\alpha$ -dystroglycan in the endoplasmic reticulum to generate N-acetyl glucosamine epitopes reactive with CTD110.6 antibody. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 440(1), 88–93.

Ozawa, E., Mizuno, Y., Hagiwara, Y., Sasaoka, T. i Yoshida, M. (2005). Molecular and cell biology of the sarcoglycan complex. *Muscle & Nerve*, 32(5), 563–576.

Peltz, S.W., Welch, E.M., Jacobson, A., Trotta, C.R., Naryshkin, N., Sweeney, H.L. i Bedwell, D.M. (2009). Nonsense suppression activity of PTC124 (ataluren). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(25), E64–E64.

Perovanovic, J., Dell’Orso, S., Gnoch, V.F., Jaiswal, J.K., Sartorelli, V., Vigouroux, C., Mamchaoui, K., Mouly, V., Bonne, G. i Hoffman, E.P. (2016). Laminopathies disrupt epigenomic developmental programs and cell fate. *Science Translational Medicine*, 8(335), 335ra58.

Prins, K.W., Humston, J.L., Mehta, A., Tate, V., Ralston, E. i Ervasti, J.M. (2009). Dystrophin is a microtubule-associated protein. *Journal of Cell Biology*, 186(3), 363–369.

Ruszczak, C., Mirza, A. i Menhart, N. (2009). Differential stabilities of alternative exon-skipped rod motifs of dystrophin. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1794(6), 921–928.

Sabatelli, P., Bonaldo, P., Lattanzi, G., Braghetta, P., Bergamin, N., Capanni, C., Mattioli, E., Columbaro, M., Ognibene, A., Pepe, G., Bertini, E., Merlini, L., Maraldi, N.M. i Squarzoni, S. (2001). Collagen VI deficiency affects the organization of fibronectin in the extracellular matrix of cultured fibroblasts. *Matrix Biology*, 20(7), 475–486.

Sadoulet-Puccio, H.M., Rajala, M. i Kunkel, L.M. (1997). Dystrobrevin and dystrophin: an interaction through coiled-coil motifs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(23), 12413–12418.

Sakata, K., Shimizu, M., Ino, H., Yamaguchi, M., Terai, H., Fujino, N., Hayashi, K., Kaneda, T., Inoue, M., Oda, Y., Fujita, T., Kaku, B., Kanaya, H. i Mabuchi, H. (2005). High incidence of sudden cardiac death with conduction disturbances and atrial cardiomyopathy caused by a nonsense mutation in the STA gene. *Circulation*, 111(25), 3352–3358.

Sander, M., Chavoshan, B., Harris, S.A., Iannaccone, S.T., Stull, J.T., Thomas, G.D. i Victor, R.G. (2000). Functional muscle ischemia in neuronal nitric oxide synthase-deficient skeletal muscle of children with Duchenne muscular dystrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(25), 13818–13823.

Sandonà, D., Gastaldello, S., Martinello, T. i Betto, R. (2004). Characterization of the ATP-hydrolysing activity of  $\alpha$ -sarcoglycan. *Biochemical Journal*, 381(1), 105–112.

Sanes, J.R. (2003). The Basement Membrane/Basal Lamina of Skeletal Muscle. *Journal of Biological Chemistry*, 278(15), 12601–12604.

Simmons, T.R., Vetter, T.A., Huang, N., Vulin-Chaffiol, A., Wein, N. i Flanigan, K.M. (2021). Pre-clinical dose-escalation studies establish a therapeutic range for U7snRNA-mediated DMD exon 2 skipping. *Molecular Therapy. Methods & Clinical Development*, 21, 325–340.

Stone, M.R., O'Neill, A., Catino, D. i Bloch, R.J. (2005). Specific Interaction of the Actin-binding Domain of Dystrophin with Intermediate Filaments Containing Keratin 19. *Molecular Biology of the Cell*, 16(9), 4280–4293.

Stone, M.R., O'Neill, A., Lovering, R.M., Strong, J., Resneck, W.G., Reed, P.W., Toivola, D.M., Ursitti, J.A., Omary, M.B. i Bloch, R.J. (2007). Absence of keratin 19 in mice causes skeletal myopathy with mitochondrial and sarcolemmal reorganization. *Journal of Cell Science*, 120(22), 3999–4008.

Stossel, T.P., Condeelis, J., Cooley, L., Hartwig, J.H., Noegel, A., Schleicher, M. i Shapiro, S.S. (2001). Filamins as integrators of cell mechanics and signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2(2), 138–145.

- Stuurman, N., Heins, S. i Aebi, U. (1998). Nuclear Lamins: Their Structure, Assembly, and Interactions. *Journal of Structural Biology*, 122(1-2), 42–66.
- Thomas, G.D., Sander, M., Lau, K.S., Huang, P.L., Stull, J.T. i Victor, R.G. (1998). Impaired metabolic modulation of  $\alpha$ -adrenergic vasoconstriction in dystrophin-deficient skeletal muscle. 95(25), 15090–15095.
- Thompson, T.G., Chan, Y., Hack, A.A., Brosius, M., Rajala, M., Hart G.W. Lidov, McNally, E.M., Watkins, S.C. i Kunkel, L.M. (2000). Filamin 2 (FLN2): A Muscle-specific Sarcoglycan Interacting Protein. *Journal of Cell Biology*, 148(1), 115–126.
- Udd, B. (2011). Distal muscular dystrophies. *Handbook of Clinical Neurology*, 239–262.
- Ungricht, R. i Kutay, U. (2017). Mechanisms and functions of nuclear envelope remodelling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 18(4), 229–245.
- Vajsar, J. i Schachter, H. (2006). Walker-Warburg syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 1(1).
- van Berlo, J.H., Duboc, D. i Pinto, Y.M. (2004). Often seen but rarely recognised: cardiac complications of lamin A/C mutations. *European Heart Journal*, 25(10), 812–814.
- Vydra, D. i Rayi, A. (2023). Myotonic Dystrophy. *StatPearls*. [online] <https://www.statpearls.com/point-of-care/25496> (pristupljeno 30. kolovoza 2023.)
- Vytopil, M., Benedetti, S., Ricci, E., Galluzzi, G., Dello Russo, A., Merlini, L., Boriani, G., Gallina, M., Morandi, L., Politano, L., Moggio, M., Chiveri, L., Hausmanova-Petrusewicz, I., Ricotti, R., Vohanka, S., Toman, J. i Toniolo, D. (2003). Mutation analysis of the lamin A/C gene (LMNA) among patients with different cardiomyopathic phenotypes. *Journal of Medical Genetics*, 40(12), 132e132.
- Willer, T. i sur. (2012). ISPD loss-of-function mutations disrupt dystroglycan O-mannosylation and cause Walker-Warburg syndrome. *Nature Genetics*, 44(5), 575–580.
- Williamson, R.A., Henry, M.D., Daniels, K.J., Hrstka, R.F., Lee, J.C., Sunada, Y., Ibraghimov-Beskrovnaya, O. i Campbell, K.P. (1997). Dystroglycan Is Essential for Early Embryonic Development: Disruption of Reichert's Membrane in Dag1-Null Mice. *Human Molecular Genetics*, 6(6), 831–841.
- Worman, H.J. i Schirmer, E.C. (2015). Nuclear membrane diversity: underlying tissue-specific pathologies in disease? *Current Opinion in Cell Biology*, 34, 101–112.
- Yokota, T., Duddy, W. i Partridge, T. (2007). Optimizing exon skipping therapies for DMD. *Acta myologica: myopathies and cardiomyopathies: official journal of the Mediterranean Society of Myology*, 26(3), 179–84.



Yoshida, M. i sur. (2000). Biochemical evidence for association of dystrobrevin with the sarcoglycan-sarcospan complex as a basis for understanding sarcoglycanopathy. *Human Molecular Genetics*, 9(7), 1033–1040.

Zhang, Q., Bethmann, C., Worth, N.F., Davies, J.D., Wasner, C., Feuer, A., Ragnauth, C.D., Yi, Q., Mellad, J.A., Warren, D.T., Wheeler, M.A., Ellis, J.A., Skepper, J.N., Vorgerd, M., Schlotter-Weigel, B., Weissberg, P.L., Roberts, R.G., Wehnert, M. i Shanahan, C.M. (2007). Nesprin-1 and -2 are involved in the pathogenesis of Emery–Dreifuss muscular dystrophy and are critical for nuclear envelope integrity. *Human Molecular Genetics*, 16(23), 2816–2833.

## 9. ŽIVOTOPIS

Rođena sam u Osijeku, 2. rujna 2001. godine. Od 2008. do 2016. godine pohađala sam Osnovnu školu Dragutina Domjanića u Zagrebu. Od 2016. do 2018. god. pohađala sam opći smjer Gimnazije Lucijana Vranjanina, gdje sam završila prva dva razreda srednje škole. Druga dva završila sam u općoj Gimnaziji Tituša Brezovačkog u razdoblju 2018. – 2020. god. Po završetku srednje škole upisala sam preddiplomski sveučilišni studij Molekularna biologija na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu.