

# Charakterystyka wybranych modeli zwierzęcych dystrofii mięśniowych

SYBILLA JACQUELINE BERWID, ANNA BURDZIŃSKA, PIOTR OSTASZEWSKI

Katedra Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Berwid S. J., Burdzińska A., Ostaszewski P.

## Characteristic of select animal models of muscular dystrophies

### Summary

Muscular dystrophies are a group of genetically determined myogenic disorders that are often severe and lethal. No effective therapeutic procedures have been developed to date. That is why there is an urgent need to conduct new surveys, many of them based on animal models.

Most naturally occurring animal models for muscular dystrophies are not analogous with human dystrophies of the same kind of protein deficiency. This review gives a brief guide to chosen laboratory animal models mostly generated by genetic engineering. Even these models created in laboratories show different phenotypes from humans and lead to a new approach to this heterogeneous group of disease. However, laboratory animal models of muscular dystrophies are of great value for researchers working on new therapies and discovering the aetiology and pathomechanism of the disease.

**Keywords:** muscular dystrophy, animal model, genetic engineering

Dystrofie mięśniowe są grupą chorób uwarunkowanych genetycznie, które zarówno u ludzi, jak i zwierząt prowadzą do postępującego osłabienia mięśni, znacznego upośledzenia zdolności lokomocyjnych, a w wielu przypadkach nawet do śmierci. Jest to zróżnicowana grupa chorób dziedzicznych. Przyczyną dystrofii są nieprawidłowości w ekspresji białek związanych z sarkolemmą, a także innych białek ważnych dla prawidłowego funkcjonowania miocytów. W zależności od rodzaju dystrofii, choroba może ujawniać się we wcześniejszym lub w późniejszym okresie życia, mieć przebieg ostry lub przewlekły oraz uszkadzać większość lub tylko wybrane partie mięśni.

Chociaż w ostatnich dwóch dekadach znacznie wzrosło zainteresowanie badaniami dotyczącymi patogenezy i mechanizmów rozwoju różnych typów dystrofii (14), nadal istnieje wiele problemów wymagających wyjaśnienia. Poszerzanie wiedzy jest możliwe głównie dzięki badaniom prowadzonym z wykorzystaniem modeli zwierzęcych, których przedstawiciele posiadają defekty genetyczne wywołujące dystrofie analogiczne do występujących u ludzi. Poznanie przyczyn i patogenezy choroby jest kluczem do prowadzenia poszukiwań skutecznych metod leczenia. Obecnie w wielu laboratoriach trwają prace nad opracowaniem technik terapeutycznych. Między innymi sprawdza się takie techniki, jak: transplantacje mioblastów lub komórek pnia (23), terapie genowe (32), a także nowoczesne metody farmakologiczne (9). Te-

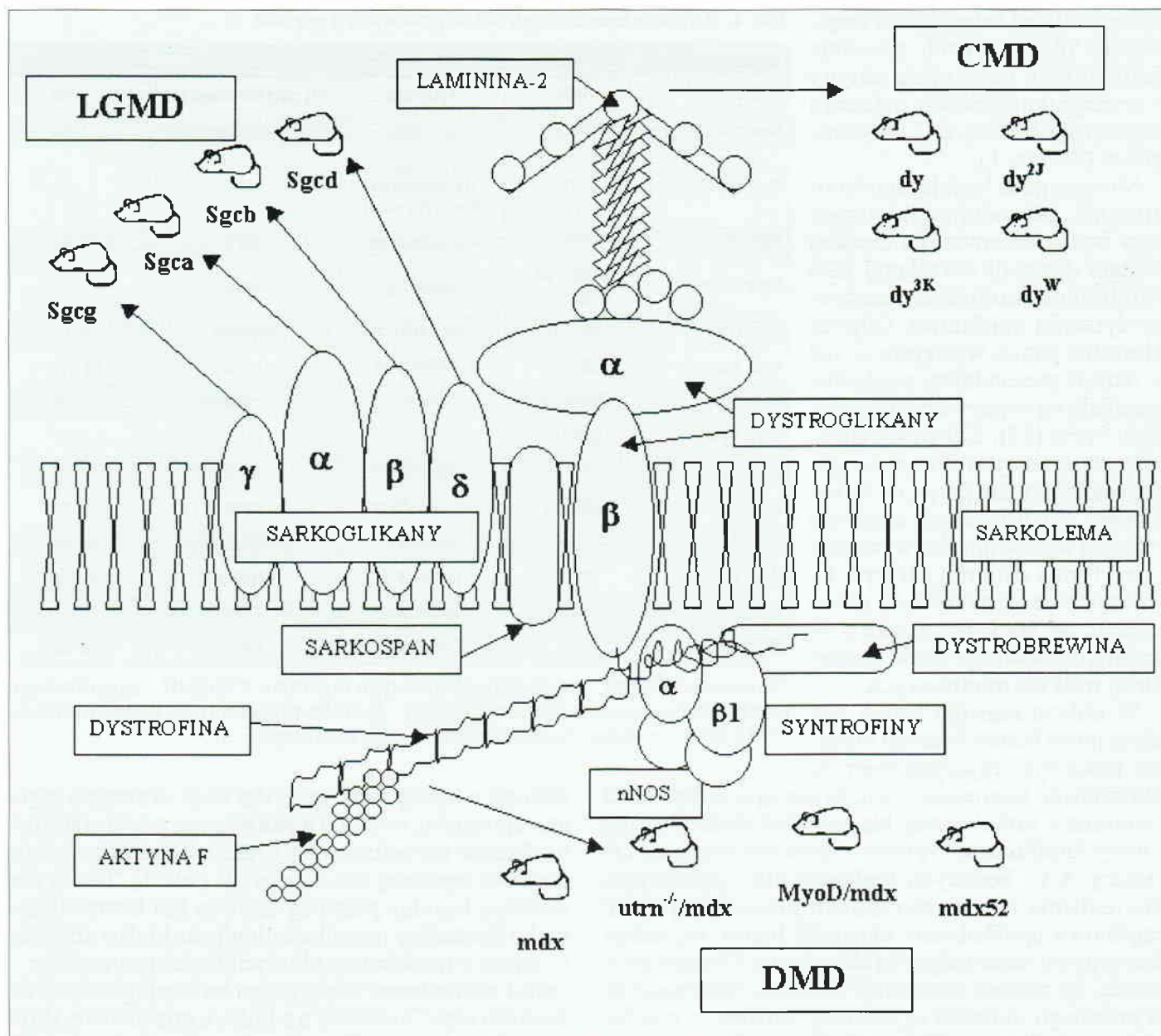
rapie te są oceniane na podstawie ich zdolności do przywrócenia prawidłowego funkcjonowania dystroficznych mięśni. W badaniach tych podstawowym narzędziem są zwierzęce modele doświadczalne.

### Patogeneza

W organizmie dotkniętym dystrofią mięśniową obserwuje się nieprawidłową ekspresję białek niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania włókien mięśniowych. W niektórych przypadkach jest to całkowity brak danego białka, natomiast w innych białko to jest obecne, ale jego ilość, nieprawidłowa budowa względnie lokalizacja w komórce uniemożliwia pełnienie prawidłowych funkcji. Na rozwój choroby wpływają również postępujące zaburzenia funkcjonowania innych organów nie związanych bezpośrednio z uszkodzeniem włókien mięśniowych.

Najczęściej występującą i najlepiej poznaną chorobą z tej grupy jest dystrofia mięśniowa Duchenne'a (DMD). Jest to najczęściej spotykana choroba letalna w dzieciństwie (14). DMD jest spowodowana delecją w obrębie genu kodującego dystrofinę umiejscowionego na chromosomie X. Jest najczęściej spotykaną recesywną formą choroby u mężczyzn, sprzężoną z płcią – objawiającą się całkowitym brakiem dystrofiny (czasem obecne są jej śladowe ilości nie mające funkcjonalnego znaczenia). Jej alleliczna, łagodniejsza odmiana – dystrofia mięśniowa Beckera (BMD), występuje około 10 razy rzadziej (13). U ludzi cierpiących na tę chorobę ekspresja dystrofiny jest ograniczona, ale białko to jest obecne w komórkach i w pew-

\* Praca wykonana w ramach projektu badawczego finansowanego przez KBN nr 3 P06D 03622.



Ryc. 1. Schemat wybranych modeli dystrofii mięśniowych u myszy. Nie zachowano proporcji. Na podstawie Allamand (1)

nym zakresie spełnia swoje funkcje. W przypadkach BMD objawy kliniczne pojawiają się później, a przebieg choroby jest łagodniejszy.

Dystrofina jest dużym białkiem cytoszkieletu (427 kDa), stabilizującym błonę komórkową w trakcie skurczu. W dużym uproszczeniu patogeneza choroby polega na tym, że błona komórkowa pozbawiona dystrofiny ulega uszkodzeniu przez siły mechaniczne działające podczas skurczu. Uważa się, że u chorych na DMD rolę dystrofiny może w niewielkim stopniu przejąć inne białko – utrofina, jednak nawet wówczas komórka mięśniowa jest bardzo podatna na uszkodzenia. Zwiększenie przepuszczalności sarkolemy lub nawet przerwanie jej ciągłości prowadzi do zaburzenia homeostazy komórki, napływu jonów  $Ca^{2+}$  do jej wnętrza, całkowitej dezorganizacji gospodarki jonnej, a z czasem do stopniowej martwicy włókien mięśniowych (13). Początkowo niszczone włókna mięs-

niowe są zastępowane przez nowe, powstające z podziałów komórek satelitowych. Jednak potencjał regeneracyjny tkanki mięśniowej jest ograniczony i po pewnym czasie miejsce włókien mięśniowych zajmuje tkanka łączna. Klinicznie objawia się to postępującym osłabieniem mięśni, prowadzącym do całkowitego unieruchomienia dziecka w wieku kilkunastu lat (8).

Dystrofina i choroby związane z jej brakiem lub niedoborem zostały najlepiej poznane; należy jednak pamiętać, że dystrofie mięśniowe mogą być też spowodowane mutacjami w obrębie genów kodujących inne białka. Bardzo ważne okazały się białka związane z dystrofina, DAPs – dystrophin-associated proteins (24). Dystrofina wiąże się z  $\beta$ -dystroglikanem, a jej końcowe domeny wiążą: N-terminalna – syntrofiny, a C-terminalna – aktynę F.  $\beta$ -dystroglikan jest białkiem transbłonowym, które przez  $\alpha$ -dystroglikan jest połączone z lamininą  $\alpha 2$  – białkiem błony podstawnej

opłaszczającej całe włókno mięśniowe. W ten sposób powstaje molekularne połączenie aktyny z zewnątrzkomórkową macierzą poprzez dystrofinę,  $\alpha$ - i  $\beta$ -dystroglikan (5) (ryc. 1).

Mutacja genu kodującego lamininę  $\alpha 2$ , powodująca niedobór tego białka prowadzi do ciężkiej postaci dystrofii określanej jako wrodzona autosomalnie recesywna dystrofia mięśniowa. Objawy kliniczne mogą występować już w okresie prenatalnym, względnie rozwijają się w pierwszych miesiącach życia (13). Z  $\beta$ -dystroglikanem związany jest kompleks glikoproteinowy;  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -sarkoglikany. Niedostateczna ekspresja różnych sarkoglikanów wywołuje różne formy dystrofii (8) (ryc. 1). Niewystarczająca ilość tych glikoprotein, tak jak w przypadku dystrofiny, destabilizuje błonę komórkową włókien mięśniowych.

W trakcie rozwoju badań wykryto nowe białka, których niedobór może być przyczyną dystrofii mięśniowej. Interesujące jest, że nie są to tylko białka związane z sarkolemmą. Na przykład dystrofie typu Emery-Dreifussa są wywołane brakiem emeryny lub laminy A/C, będących białkami błon jądrowych. Stwierdzono też, że mechanizm powodujący tylko częściowe upośledzenie ekspresji białek wywołuje fenotypowo różne jednostki chorobowe. Dlatego uważa się, że procesy destrukcji komórek mięśniowych w przebiegu dystrofii są bardziej złożone, a mechanizm uszkodzenia włókien mięśniowych jako wynik destabilizacji sarkolemmy jest tylko jedną z wielu możliwych przyczyn rozwoju tej choroby (8).

Dystrofie mięśniowe to dość zróżnicowana grupa chorób, stanowiąca wciąż ogromne wyzwanie dla nauki. Istniejące modele zwierzęce dają nadzieję na lepsze zrozumienie istoty tej choroby oraz szybsze rozpoczęcie skutecznych metod leczenia.

### Modele zwierzęce dla dystrofii mięśniowej Duchenne'a (DMD)

Najczęściej wykorzystywanym modelem zwierzęcym do badania dystrofii mięśniowych są myszy mdx. Może o tym świadczyć istnienie w literaturze światowej ponad 500 publikacji wykorzystujących ten model. Linia myszy mdx pojawiła się spontanicznie w szczepie C57BL/10 i została wyodrębniona na podstawie wysokiego poziomu kinazy fosfokreatynowej podczas przesiewowych badań krwi (31). Niedobór dystrofiny jest wynikiem mutacji punktowej w kodonie stop na eksonie 23 genu dystrofiny (29). Pomimo

Tab. 1. Wybrane modele dystrofii mięśniowych u gryzoni

Model zwierzęcy	Choroba	Białko	Dystrofia	Długość życia
Mysz mdx	DMD*	dystrofina	łagodna/umiarkowana	> 1 rok
Mysz mdx52	DMD	dystrofina	łagodna/umiarkowana	> 1 rok
Mysz MyoD/mdx	DMD	czynnik transkrypcyjny MyoD/dystrofina	ostra	1 rok
Mysz utrn <sup>-/-</sup> /mdx	DMD	utrofina/dystrofina	ostra	4-20 tyg.
Mysz Lmna <sup>-/-</sup>	LGMD**1B EDMD***	lamina A	ostra	0
Mysz Cav3 <sup>-/-</sup>	LGMD 1C	kaweoлина 3	łagodna	> 30 tyg.
Mysz Sgcg	LGMD 2C	$\gamma$ -sarkoglikan	ostra	20 tyg.
Mysz Sgca	LGMD 2D	$\alpha$ -sarkoglikan	umiarkowana	> 1 rok
Mysz Sgcb	LGMD 2E	$\beta$ -sarkoglikan	ostra	> 1 rok
Mysz Sgcd	LGMD 2F	$\delta$ -sarkoglikan	ostra	> 1 rok
Chomik Bio 14.6	LGMD 2F	$\delta$ -sarkoglikan	ostra	> 40 tyg.
Mysz dy	CMD****	laminina 2	umiarkowana	> 6 mies.
Mysz dy <sup>2J</sup>	CMD	laminina 2	łagodna	> 6 mies.
Mysz dy <sup>3K</sup>	CMD	laminina 2	ostra	0
Mysz dy <sup>W</sup>	CMD	laminina 2	ostra	3-20 tyg.

Objaśnienia: \* DMD – dystrofia mięśniowa typu Duchenna, \*\* LGMD – dystrofia mięśniowa kończynowo-obręczowa, \*\*\* EDMD – dystrofia mięśniowa typu Emery-Dreifussa, \*\*\*\* CMD – wrodzona dystrofia mięśniowa, 0 – brak danych

mutacji u myszy mdx zachodzi dość skuteczna regeneracja mięśni, przez co wykazują one prawie normalną długość życia (powyżej 1 roku), a choroba rozwija się dużo łagodniej niż u ludzi (4) (tab. 1). Teorią tłumaczącą łagodny przebieg choroby jest kompensacja braku dystrofiny przez homologiczne białko utrofinę. U myszy z niedoborem obu tych białek (myszy utrn<sup>-/-</sup>/mdx) stwierdzono wiele objawów analogicznych do dystrofii typu Duchenne'a u ludzi, a mianowicie: skróconą długość życia (śmierć następuje między 4. a 20. tygodniem), zahamowanie wzrostu, kardiomiopatia oraz ostre wyniszczenie mięśni (7). Wyhodowano też myszy mdx dodatkowo pozbawione czynnika transkrypcyjnego MyoD, u których upośledzenie regeneracyjnych możliwości mięśni wywołało ostrzejsze objawy choroby (7). Podobne cechy z fenotypem mdx wykazują też myszy mdx 52, powstałe w wyniku knock-out'u genetycznego na eksonie 52 genu dystrofiny (2).

Prowadząc chemiczną mutagenezę, wywołano mutacje, w których wyniku nastąpiło upośledzenie krótszych izoform dystrofiny występujących w innych tkankach, ale nieobecność tych form nawet bez utrofiny nie wywołuje tak gwałtownego przebiegu choroby jak u myszy utrn<sup>-/-</sup>/mdx (25) (tab. 1).

### Modele zwierzęce dla dystrofii mięśniowych kończynowo-obręczowych (LGMD)

Dystrofie mięśniowe kończynowo-obręczowe występują bardzo rzadko; obliczono, że u ludzi dotyczą one jedną osobę na 20 000. Klinicznie jest to różni-

cowana grupa chorób pod względem objawów i rozwoju, a elementem łączącym jest udział w procesie chorobowym mięśni obręczy barkowej i miednicznej. Ponadto, dystrofie te mogą niekiedy wiązać się z kardiomiopatią (8). Na temat patogenezy niektórych typów LGMD wciąż niewiele wiadomo, dlatego ważne jest stworzenie odpowiednich modeli zwierzęcych, które pomogą odpowiedzieć na pytania stawiane przez pacjentów i lekarzy.

Uszkodzenia genu laminy A zostały przypisane czterem chorobom występującym u ludzi. Oprócz dystrofii mięśniowej kończynowej (LGMD) typu 1B, są to także: autosomalna forma dystrofii mięśniowej Emery-Dreifussa, rozległa kardiomiopatia (DCM) (dilated cardiomyopathy) oraz częściowa lipodystrofia typu Dunnigana (FPLD) (Dunningan-type familial partial lipodystrophy) (26). Podczas prac nad mysimi pierwotnymi komórkami zarodkowymi (ES), udało się uzyskać myszy pozbawione genu *Lmna* (30). Jakkolwiek myszy te przechodzą normalny rozwój embrionalny, ich rozwój postnatalny jest głęboko opóźniony i kończy się śmiercią w wieku 8 tygodni. Fenotyp myszy *Lmna*<sup>-/-</sup>, charakteryzuje się ostrą miopatią mięśni szkieletowych, kardiomiopatią i jest zgodny z ludzką dystrofią mięśniową typu Emery-Dreifussa, dla której jest głównym modelem referencyjnym (26) (tab. 1).

Mutacje w genie białka kaweoliny-3 wywołują dystrofię mięśniową kończynowo-obręczową (LGMD) typu 1C. Białko to nie jest integralnym elementem kompleksu dystroglikanowego. Myszy, u których występuje wrodzony brak tego białka (myszy *Cav3*<sup>-/-</sup>), wykazują zmiany dystroficzne w mięśniach o łagodnym przebiegu (12) (tab. 1).

Myszy z niedoborem  $\gamma$ -sarkoglikanu, przypisywanym dystrofii mięśniowej LGMD typu 2C, wykazują ostrą dystrofię mięśniową i kardiomiopatię oraz skróconą do 20 tygodni długość życia (11) (tab. 1). U myszy tych stwierdzono normalną odporność na mechaniczne napięcie czy powysiłkowe uszkodzenia mięśni (11), stąd uważa się, że patogeneza tej choroby nie jest związana z mechanicznym uszkodzeniem mięśni (7).

Transgeniczne myszy pozbawione sarkoglikanu  $\alpha$  (myszy *Sgca*), są dotknięte postępującą dystrofią mięśniową, analogiczną z ludzką LGMD typu 2D (tab. 1). U myszy *Sgca* stwierdza się także niedobór reszty sarkoglikanów  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$ . Zaobserwowano też istotne zmiany w mięśniu sercowym, choć u myszy tych nie rozwija się kardiomiopatia (6).

Myszy z niedoborem  $\beta$ -sarkoglikanów (myszy *Sgcb*) i  $\delta$ -sarkoglikanów (myszy *Sgcd*) są także dotknięte progresywną dystrofią, która przebiega gwałtowniej niż u myszy *Sgca* (tab. 1). Zauważono, że duże partie mięśni są dotknięte nekrozą i przerośnięte tkanką łączną. Ponadto myszy tych linii wykazują objawy kardiomiopatii. Myszy *Sgcb* są uznanym modelem dla LGMD typu 2E, a myszy *Sgcd* dla LGMD typu 2F.

W 1962 r. wydzielono zimbredowaną linię chomików Bio 14.6 jako model wrodzonej, recesywnie prze-

kazywanej dystrofii mięśniowej, która obejmuje zarówno komórki mięśni szkieletowych, jak i sercowych (15). Ponad ćwierć wieku później stwierdzono przyczynę zmian chorobowych u tych zwierząt, jako mutację genu  $\delta$ -SG transbłonowej glikoproteiny o masie 35 kDa, składnika kompleksu glikoproteinowego we włóknach mięśniowych (21). Pierwotny niedobór  $\delta$ -SG u chomika Bio 14.6, wtórnie odznacza się niedoborem pozostałych sarkoglikanów  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  (ryc. 1), tak jak w ludzkim odpowiedniku tego typu dystrofii – LGMD 2F. Panuje pogląd, że chomik Bio 14.6 jest idealnym modelem dla LGMD 2F, pomimo większego udziału kardiomiopatii w śmiertelności tych zwierząt (17). Jednak zarówno badania histopatologiczne, jak i analiza profilu biochemicznego chomików linii Bio 14.6, wykazują duże podobieństwo etiologii dystrofii i dlatego zwierzęta te uważa się za główny model dla dystrofii mięśniowej LGMD typu 2F (31) (tab. 1).

### Modele zwierzęce dla dystrofii mięśniowej wrodzonej (CMD)

Prawie połowa klasycznych przypadków zaklasyfikowanych jako CMD wykazuje pierwotny niedobór łańcucha  $\alpha$ -lamininy 2, oraz uszkodzenia błony podstawnej w mięśniach szkieletowych. W Jackson Laboratory odkryto pierwsze myszy z niedoborem lamininy 2 (dy-dystrophia muscularis) oraz ich odmiany alleliczne (myszy *dy*<sup>21</sup>). Jednak żadne z tych modeli nie wykazują całkowitego braku łańcucha  $\alpha$ -lamininy 2, a fenotypowo stwierdza się dość łagodne zmiany dystroficzne (szczególnie myszy *dy*<sup>21</sup>). W mięśniu szkieletowym  $\alpha$ -dystroglikan łączy się z błoną podstawną przez białko lamininę 2, składającą się z łańcuchów  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$  i  $\gamma 1$ . Stwierdzono, że mutanty z całkowitym niedoborem łańcucha  $\alpha$ -lamininy 2 (myszy *dy*<sup>3K</sup> i *dy*<sup>W</sup>) wykazują ostrą formę dystrofii mięśniowej (19). Mimo to, u myszy *dy*<sup>W</sup> zauważono, że wprowadzone niehomologiczne białko mini-agrina, ze względu na wysokie podobieństwo połączeń z lamininą, może łączyć się z dystroglikanem i zapobiec dystrofii mięśniowej (20).

### Podsumowanie

Wiadomo, że brak ekspresji pojedynczego białka w kompleksie dystrofino-glikoproteinowym może wywołać kaskadowe upośledzenie funkcjonowania innych białek, a w konsekwencji dystrofie mięśniowej o różnym stopniu ostrości i zaawansowania. Mutacje zachodzące naturalnie w kompleksie dystrofino-glikoproteinowym u zwierząt, przeważnie nie nadają się do badań laboratoryjnych (dystroficzny pies rasy golden retriever – GRMD, hipertroficzna kocia dystrofia mięśniowa – kot HFMD) (22), głównie z powodu niewielkich analogii między chorobami wynikającymi z uszkodzenia tych samych białek u ludzi i u zwierząt. To tłumaczy duże zapotrzebowanie na zwierzęta wytworzone metodami inżynierii genetycznej, które dzięki przeprowadzonym badaniom pozwalają na lepsze

zrozumienie patologii tych zróżnicowanych chorób i umożliwiają wypróbowanie eksperymentalnych terapii na modelach zwierzęcych, a w przyszłości na ludziach.

## Piśmiennictwo

- Allamand V., Campbell K. P.: Animal models for muscular dystrophy: valuable tools for the development of therapies. *Hum. Mol. Gen.* 2000, t. 9, nr 16, 2459-2467.
- Araki E., Nakamura K., Nakao K., Kameya S., Kobayashi O., Nonaka I., Kobayashi T., Katsuki M.: Targeted disruption of exon 52 in the mouse dystrophin gene induced muscle degeneration similar to that observed in Duchenne muscular dystrophy. *Bioch. Biophys. Res. Com.* 1997, 238, 492-497.
- Brown S. C., Muntoni F., Sewry C. A.: Non-sarcolemmal muscular dystrophies. *Brain Pathol.* 2001, 11, 193-205.
- Bulfield G., Siller W. G., Wight P. A., Moore K. J.: Skeletal muscle pathology in X chromosome-linked muscular dystrophy (mdx) in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1984, 81, 1189-1192.
- Burton E. A., Davies K. E.: Muscular dystrophy – reason for optimism? *Cell* 2002, t. 108, 5-8.
- Duclos F., Straub V., Moore S. A., Venzke D. P., Hrstka R. F., Crosbie R. H., Durbeej M., Lebakken C. S., Ettinger A. J., van der Meulen J.: Progressive muscular dystrophy in  $\alpha$ -sarcoglycan deficient mice. *J. Cell. Biol.* 1998, 142, 1461-1471.
- Durbeej M., Campbell K. P.: Muscular dystrophies involving the dystrophin-glycoprotein complex: an overview of current mouse models. *Current Opinion Gen.&Develop.* 2002, t. 12, 349-361.
- Emery A. E. H.: The muscular dystrophies. *Lancet* 2002, 359, 687-695.
- Granchelli J. A., Pollina C., Hudecki M. S.: Pre-clinical screening of drugs using the mdx mouse. *Neuromuscul. Disord* 2000, 10, 235-239.
- Hack A. A., Ly C. T., Jiang F., Clendenin C. J., Sigrist K. S., Wollmann R. L., McNally E. M.:  $\gamma$ -sarcoglycan deficiency leads to muscle membrane defects and apoptosis independent of dystrophin. *J. Cell Biol.* 1998, 142, 1279-1287.
- Hack A. A., Cordier L., Shoturma D. I., Lam M. Y., Sweeney H. L., McNally E. M.: Muscle degeneration without mechanical injury in sarcoglycan deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96, 10723-10728.
- Hagiwara Y., Sasaoka T., Araishi K., Imamura M., Yorifuji H., Nonaka I., Ozawa E., Kikuchi T.: Caveolin-3 deficiency causes muscle degeneration in mice. *Hum. Mol. Gen.* 2000, 9, 3047-3054.
- Hausmanowa-Petrusewicz J.: Choroby nerwowo-mięśniowe. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1999.
- Hoffman E.P.: Dystrophinopathies, [w:] Disorders of Voluntary Muscle, Karpatis G., Hilton-Jones D., Griggs R. C. (wyd.), Cambridge Univ. Press, Cambridge 2001, 385-432.
- Homburger F., Baker J. R., Nixon C. W., Whitney R.: Primary, generalized polymyopathy and cardiac necrosis in an inbred line of Syrian hamsters. *Med. Exp.* 1962, 6, 339-345.
- Liu J., Aoki M., Illa I., Wu C., Fardeau M., Angelini C., Serrano C., Urtizbera J. A., Hentati F., Hamida M. B., Bohlega S., Culper E. J., Amato A. A., Bossie K., Oeltjen J., Bejaoui K., Mc Kenna-Yasek D., Hasler B. A., Shurr E., Arakata K., de Jong P. J., Brown R. H. Jr: Dysferlin, a novel skeletal muscle gene is mutated in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy. *Nat. Gen.* 1998, 20, 31-36.
- Melacini P., Fanin M., Duggan D. J., Freda M. P., Berardinelli A., Danielli G. A., Barchitta A., Hoffman E. P., Dalla Volta S., Angelini C.: Heart involvement in muscular dystrophies due to sarcoglycan gene mutations. *Muscle Nerve* 1999, 22, 473-479.
- Minetti C., Sotgia F., Bruno C., Scartezzini P., Broda P., Bado M., Masetti E., Mazzocco M., Egeo A., Donati M. A., Volonte D., Galbiati F., Corolone G., Bricarelli F. D., Lisanti M. P., Zara F.: Mutations in the caveolin-3 gene cause autosomal dominant limb girdle muscular dystrophy. *Nat. Gen.* 1998, 18, 365-368.
- Miyagoe Y., Hanaoka K., Nonaka I., Hayasaka M., Nabeshima Y., Arahata K., Takeda S.: Laminin alpha2 chain-null mutant mice by targeted disruption of the Lam2 gene: a new model of merosin (Laminin 2) – deficient congenital muscular dystrophy. *FEBS Lett.* 1997, 415, 33-39.
- Moll J., Barzaghi P., Lin S., Bezakova G., Lochmuller H., Engvall E., Muller U., Ruegg M. A.: An agrin minigene rescues dystrophic symptoms in a mouse model for congenital muscular dystrophy. *Nature* 2001, 413, 302-307.
- Nigro V., Okazaki Y., Belsito A., Piluso G., Matsuda Y., Politano L., Nigro G., Ventura C., Abbondanza C., Molinari A. M.: Identification of the Syrian hamster cardiomyopathy gene. *Hum. Mol. Gen.* 1997, 6, 601-607.
- Ostaszewski P., Berwid S. J.: Genetycznie uwarunkowane choroby nerwowo-mięśniowe młodych psów i kotów. *Życie Wet.* 2003, 78, 29-33.
- Partridge T. A., Morgan J. E., Coulton G. R., Hoffman E. P., Kunkel L. M.: Conversion of mdx myofibers from dystrophin – negative to – positive by injection of normal myoblasts. *Nature* 1989, 337, 176-179.
- Qu Z., Balkir L., van Deutekom J. C. T., Robbins P. D., Pruchnic R., Huard J.: Development of approaches to improve cell survival in myoblast transfer therapy. *J. Cell Biol.* 1998, 142, 1257-1267.
- Rafael J. A., Trickett J. I., Potter A. C., Davies K. E.: Dystrophin and utrophin do not play crucial roles in nonmuscle tissues in mice. *Muscle Nerve* 1999, 22, 517-519.
- Raharjo W. H., Enarson P., Sullivan T., Stewart C. L., Burke B.: Nuclear envelope defects associated with LMNA mutations cause dilated cardiomyopathy and Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *J. Cell Sci.* 2001, 114, 4447-4457.
- Rando T. A.: The dystrophin-glycoprotein complex, cellular signaling, and the regulation of cell survival in the muscular dystrophies. *Muscle Nerve* 2001, 24, 1575-1594.
- Richard I., Broux O., Allamand V., Fougerousse F., Chian-Milkulchai N., Bourg N., Brenguier L., Devaud C., Pasturaud P., Roudant C., Hilliare D., Passos-Bueno M. R., Zatz M., Tischfield J. A., Fardeau M., Jackson C. E., Cohen D., Beckmann J. S.: Mutations in the proteolytic enzyme calpain-3 cause limb girdle muscular dystrophy type 2A. *Cell* 1995, 81, 27-40.
- Sicinski P., Geng Y., Ryder-Cook A. S., Barnard E. A., Darlison M. G., Barnard P. J.: The molecular basis of muscular dystrophy in the mdx mouse: a point mutation. *Science* 1989, 244, 1578-1580.
- Sullivan T., Ascalante-Alcalde D., Bhatt H., Anver M., Bhatt N., Nagashima K., Stewart C. L., Burke B.: Loss of A-type lamin expression compromises nuclear envelope integrity leading to muscular dystrophy. *J. Cell Biol.* 1999, 147, 913-920.
- Watchko J. F., O'Day T. L., Hoffman E. P.: Functional characteristic of dystrophic skeletal muscle: insights from animal models. *J. Appl. Physiol.* 2002, 93, 407-417.
- Wells D. J., Wells K. E.: Gene transfer studies in animals: what do they really tell us about the prospect for gene therapy in DMD? *Neuromusc. Dis.* 2002, 12, S11-S22.

Adres autora: mgr inż. Sybilla Jacqueline Berwid, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; e-mail: sybilla\_berwid@yahoo.com

**HUMBERT-DROZ E., BÜSCHER G., CAVALLERI D., JUNQUERA P.: Skuteczność oksymu milbemecyny w stosunku do czwartego stadium larwalnego i dojrzałych postaci *Ancylostoma tubaeforme* u zarażonych doświadczalnie kotów. (Efficacy of milbemycin oxime against fourth-stage larvae and adults of *Ancylostoma tubaeforme* in experimentally infected cats). *Vet. Rec.* 154, 140-143, 2004 (5).**

Oksym milbemecyny jest makrocyclicznym laktonem działającym na tęgoryjce psów. Skuteczność tego związku w inwazji wywołanej przez *Ancylostoma tubaeforme* w stosunku do czwartego stadium larwalnego i dorosłych pasożytów przebadano na 24 kotach w trzech grupach, zarażonych doświadczalnie per os około 300 larwami inwazyjnymi trzeciego stadium larwalnego tego pasożyta. Po 12 dniach 8 kotów z grupy I otrzymało tabletki zawierające 4 mg milbemecyny i 10 mg prazykwantelu, celem określenia wpływu leczenia na larwy czwartego stadium. W grupie II liczącej 2 koty zastosowano to samo leczenie, ale po 33 dniach po zarażeniu, co umożliwiło ocenę wpływu leczenia na dojrzałe postaci pasożyta. Grupa III nieleczona, u której zastosowano tabletki z placebo, stanowiła kontrolę. Dla każdego zwierzęcia osobno określono liczbę jaj w kale, koty zabito 40. lub 41. dnia po leczeniu i określono liczbę dojrzałych pasożytów. Redukcję liczby jaj określano porównując średnia geometryczną ilości jaj w gramie kału nieleczonych zwierząt i w grupie leczonej. Redukcja liczby jaj przekraczała 99% w obydwu leczonych grupach, a redukcja ilości dojrzałych pasożytów wyniosła w grupie I – 94,7%, w grupie II – 99,2%.