

Prof. Eduard Paschke:

„Szubsztrát redukciós terápia és farmakológiai chaperonok: az enzimpótló terápia alternatívái”

Fordította: Dankai Mátyás

Lektorálta: Dr. Komlósi Katalin

Mukopoliszaccharidozisos (MPS) 11 különböző öröklődő megbetegedés csoportját jelentik. Az összetetten felépülő **cukorláncok**, a **mukopoliszaccharidok** nem tudnak megfelelően lebomlani (**1. ábra**).

Ez a lebontás a sejtben az emésztésért és újrafelhasználásért felelős „műhelyekben”, a **lizoszómákban**, egyedi „csavarkulcsok”, a **lizoszómális enzimek segítségével** zajlik. A cukorlánc minden egyes tagja egy speciális enzimet igényel a lebontáshoz, így a láncok lebontása csak meghatározott/szabályozott sorrendben következhet be. Ha egy enzim hibás, a többi sem képes dolgozni és a félig lebontott láncok felhalmozódnak.

A **lizoszómák** mellett a sejtnek, mint „gyárnak” még sok más „műhelye” van (**2. ábra**). A sejtben a sejt fehérjéinek felépítéséhez szükséges kb. 30.000 építési tervrajz („gén”) helyezkedik el. Ezek az építési tervrajzok (gén) lemásolódnak és a fehérjegyárhoz, a riboszómákhoz szállítódnak, amelyek a fehérjetermékeiket a sejtgyárban csomagolórészlegként működő „**golgikészülékhez**” irányítják. A csomagolórészlegben kis cukormolekulák kapcsolódnak a készülő enzimekhez, annak szabályozására, hogy az enzim a sejt melyik részében működjön. A **mukopoliszaccharidok** is ebben a sejtterületben jönnek létre, és itt kapcsolódnak fehérjékhez. Így összetett molekulák keletkeznek, a sejtben számos funkcióval bíró **proteoglikánok**, amelyek például a „**sejtközi mátrix**”, azaz az egyes sejtek közötti ragasztóanyag alapvázaként működnek.

A sikeres funkció teljesítése után a **proteoglikánokat** újra felveszi és lebontja a sejt. Ehhez át kell haladniuk a sejtgyár kerítésén, a „**sejtmembránokon**”. A sejtmembránban specifikus „kapuk” található, nagyon speciális receptorokkal, amelyek a proteoglikánokat felismerik és sejtbe jutásukat segítik, valamint azt szabályozzák, hogy a lizoszómákba, a lebontásuk helyére kerüljenek.

A lizoszómális enzimek is a sejtben található gének alapján épülnek fel és a golgikészülékben sajátos cukormolekulákkal, mint címkékkel lesznek ellátva. Ezért a golgikészülékben is előfordulnak receptorok, ezek megkötik a lizoszómális enzimeket és gondoskodnak ezek transzportjáról a lizoszómákba.

A fentiek alapján a sejtben egy jól működő lebontáshoz egyrészt az enzimek megfelelő rendelkezésre állása, másrészt a lizoszómális lebontás „szubsztrátumainak” megfelelő odaszállítása szükséges a lizoszómákba (ilyen szubsztrátumok például: mukopoliszaccharidok, a membrán építőkövei, fehérjék) (**3. ábra**). Ha a mukopoliszaccharidosisoknál a működőképes enzimek odaszállítása kiesik, felhalmozódnak a félig lebontott mukopoliszaccharidok, károsítják a sejtet és betegséget idéznek elő.

Az elmúlt húsz évben eddig négy mukopoliszaccharidosisban és három másik lizoszomális tárolási betegségben sikerült géntechnikai úton specifikus enzimeket előállítani, amelyeket a betegek infúzióban kapnak, és amelyek úgy épülnek fel, hogy a megfelelő receptorok felismerjék ezeket a fehérjéket és pontosan a lizoszómákba szállítsák. Ez az **enzimpótló terápia** eddig részben nagyon biztató eredményeket mutatott, például Gaucher-kórban és egyéb betegségeknél, ahol túlnyomórészt az belső szervek (szív, máj, vese), vagy a kötőszövetek kezelése a cél. Eddig csekély hatás mutatkozik azonban a vázrendszerben és hatástalan ez a terápia az agyban. Az utóbbi a vér-agy gát felépítésére vezethető vissza, amelynek az a feladata, hogy megvédje az idegsejteket a vírusok, vagy idegen fehérjék okozta károsodásuktól (**4. ábra**).

Az idegsejtek különböző segédsejtekkel, gliasejtekkel vannak körülvéve, amelyeket táplálják az idegsejteket és az idegműködéshez szükséges egyik fontos struktúrát, például az úgynevezett myelinhüvelyt képezik. A tápanyagokkal és oxigénnel való ellátást a vérkeringés kapillárisai biztosítják, amelyek az agyban az úgynevezett kapilláris endothelsejtek által szorosan és hézagmentesen körül vannak zárva. Sajnos az agyban már újszülöttkorban lezárul az endothelsejtekben a lizoszomális enzimek specifikus receptorainak képződése, így a terápiás céllal beadott enzim a beteg idegsejtekig nem tud eljutni.

Kis molekulákat, például cukrokat nem tart vissza a vér-agy gát. Emiatt azzal próbálkoznak, hogy a kóros lizoszomális tárolást úgy csökkentsék, hogy a szubsztrátok bejutása csökkenjen a lizoszómákba (**szubsztrát redukciós terápia, 3. ábra**). Egy sikeres példa erre a **Miglustat** (N-Butyldeoxynojirimycin) alkalmazása a membránalkotóelemek lebontási zavarának terápiájában (Gaucher-kór, Niemann-Pick C betegség) (**5. ábra**): egy ilyen membránalkotóelem, a glükozilceramid, a ceramid nevű előanyagból az „UDP-glükóz-N-acilsphingozin-glükoziltranszferáz” enzim segítségével egy glükóz molekula beépülésével képződik. A glükozilceramid ismét előanyagként szolgál számos más, összetetten felépülő anyag előállításához (laktozilceramid, gangliozid és neutrális glikoszfingolipidek). A **Miglustat** specifikusan gátolja a glükozilceramid képződését és így képes csökkenteni a raktározás mértékét Gaucher-kórban. Ezenkívül azt remélték, hogy más megbetegedések, amelyek szintén a gangliozidok vagy a neutrális glikoszfingolipidek kóros raktározása miatt alakulnak ki, is javulhatnak Miglustat hatására. Mivel a fenti anyagok, eddig nem teljesen tisztázott okok miatt a mukopoliszaccharidosisoknál is mint „kísérőanyagok” felhalmozódnak és esetleg szerepük lehet a betegség kialakulásában, a Miglustat talán itt is pozitív hatást gyakorolhat.

Ténylegesen kimutatták, hogy az enyhe vagy mérsékelt lefolyású Gaucher-kórban alkalmazott **Miglustat** a megnagyobbodott máj és lép méretének csökkenéséhez és/vagy a csontvelő funkciójának javulásához vezetett. Ezért 2002-ben „Zavesca” néven, az **enzimpótló terápia kiegészítéseként** engedélyezték a miglustatot. Továbbá a Niemann-Pick betegség C típusában, egy összetett neurológiai zavarokkal járó lizoszomális raktározási betegségben szenvedők is kezelhetők Zavescával (engedélyezés 2009-ben). Sajnos azonban, az MPS III betegség neurológiai tüneteire nem volt kimutatható hatása a miglustatnak (Guffon et al: J. Pediatr, 2011. június, Epub.)

Számos ellentmondásos eredményt közöltek eddig az MPS III egy másik terápiájával, a **Genistein** nevű anyaggal kapcsolatban is, mely a szójabab egyik alkotója. A Zavescával szemben a Genistein nem egy meghatározott enzimet gátol, hanem általánosan a mukopoliszaccharid-szintézis teljes anyagcsereútját. Eddig a különböző kutatócsoportok a betegek tenyésztett bőrsejtjeiben, vagy MPS III-ban szenvedő kísérleti állatoknál a

lizoszómális tárolás csökkenését, illetve a kóros agyi folyamatok javulását tudták kimutatni. Az embereken történő klinikai alkalmazás során azonban kétségtelenül ellentmondó eredmények születtek. A legutóbbi munkákban az egyik kutatócsoport (Piotrowska et.al. 2011) arra a megállapításra jutott, hogy a Genistein a központi idegrendszer funkcióját az MPS III-ban szenvedő betegeknél javítja, vagy legalábbis stabilizálja, míg egy másik kutatócsoport (Delgado et al. 2011) nem talált bizonyítékot a pozitív hatásra.

Végül van még egy további, aktuális stratégia a Mukopoliszaccharidózisok kis molekulájú terápiájának megközelítésében. Ez a megközelítés nem a hiányzó, jól működő enzim pótlásán keresztül, nem is az alacsony mólsúlyú anyagcsere gátlókon keresztül próbálja a kóros raktározást csökkenteni, hanem „**chaperonok**” segítségével, ami a génmutációk következtében hibás enzimeket reparálja és a lebontást javítja (3c ábra). Ahhoz, hogy ezt a megközelítést megértsük, közelebről meg kell néznünk a sejtmag és riboszómák, illetve az enzimek működését (6. ábra).

A sejtmagban lévő génekben található a sejt csaknem összes fehérjéjének az építési terve. Ha a riboszómákban egy enzim képződik, először az építési tervét a sejtmagban le kell másolni és a termelés számára olvashatóvá kell tenni (ez a transzkripció, vagy átírás és RNS-feldolgozás/módosítás). Ezek a munkamásolatok (hírnök-RNS, angolul „messenger-RNA, mRNA) aztán a riboszómákhoz kerülnek, és a fehérjetermelést irányítják. A fehérjék 21 különböző aminosavból álló hosszú láncokat alkotnak. A sorrend, mely meghatározza az aminosavak elrendeződését a fehérjékben, meghatározza a fehérje funkcióját. A hírnök-RNS-ben (mRNS) egy „ABC” segítségével a négy különböző kód-betű („bázisok”) határozza meg a sorrendet, amely során három betű egy kód-”szót” (kodon) eredményezve kódolja az aminosavakat. Ezek a „szavak” a riboszómákban kerülnek leolvasásra. Segédmolekulák (transfer-RNS) keresik ki az aminosavakat, amelyek a helyes kódszónak megfelelnek és a növekvő fehérjelánchoz kapcsolják a riboszómán, mindaddig, amíg egy láncvégi kód nem áll az építési tervben. A 7. ábra egy lizoszómális enzim modelljét mutatja be, mint ennek a folyamatnak az eredményét: egy aminosavakból álló hosszú lánc, ami látszólag zavaros gombolyaggá lett összehajtogatva. Ez a hajtogatás kétségtelenül nem véletlen, hanem pontosan meghatározott. Következésképp, a bázisok sorrendje a DNS-ben meghatározza az aminosavak sorrendjét a fehérjében. Az aminosavak szekvenciája meghatározza a fehérje hajtogatását és ezzel a funkcióját. A 8. ábra azt mutatja, ahogyan egy riboszómán egy mRNS-ből egy fehérje képződik. A fehérje helyes hajtogatása azáltal jön létre, hogy a fehérjelánchoz kis molekulák, a molekuláris **chaperonok** kötődnek, melyek segítenek a láncot a helyes formába hozni. Ezután az elkészült fehérje ezeket a kis molekulákat újra szabaddá teszi, majd a Golgi-készülékben becsomagolódik a szétküldéshez. A 9b. ábrán egy enzim nem tud helyesen összehajtódni a DNS-ben található bázissorrend hibája miatt. Normál esetben azonnal lebontódnak az ilyesfajta hibás termékek. **Farmakológiai chaperonokat** lehet alkalmazni azzal a céllal, hogy a rosszul hajtogatott enzimeket jó irányba hajtogassák, azaz, hogy a mutációk miatt hibásan összehajtogatott enzimek a funkciójukat legalább részben visszanyerjék, és a korai lebontást elkerülhessék.

Az *első táblázat* egy leegyszerűsített áttekintést nyújt a jelenleg folyamatban lévő gyógyszeres chaperone kísérletekről lizoszómális tárolási betegségekben. Négy betegségben (Gaucher-kór, Fabry-kór, GM2-Gangliosidosis és Pompe-kór) II. és III. fázisú klinikai kísérletek vannak folyamatban. Számos más anyag esetében ismertek adatok az in vitro sejt kultúrában vagy kísérleti állatokban mért hatékonyságukra, mint például egy kanadai munkacsoport gyógyszerkészítménye a Mukopoliszaccharidózis IIIC terén.

Az osztrák MPS és hasonló betegségek Kutatótársasága (Forschungsgesellschaft für MPS und Verwandte Erkrankungen) valamint az osztrák Tudomány- és Kutatási Minisztérium (Bundesministerium für Wissenschaft und Forschung) támogatásával a Grazi Gyermekklinikán az elmúlt években a Grazi Műszaki Egyetem Szerves Kémia Intézetével közösen **új chaperonok kifejlesztésére történtek kísérletek**, főként GM1-Gangliosidózis és MPS IVB terén. Összesen három új, hatékony anyag került leírásra, melyekkel a β -galaktozidáz gén egyes mutációi esetében in vitro sejt kultúrában az enzimaktivitás tízszeres fokozódása és a lizoszómákba való szállítás normalizálódása volt kimutatható. Következésképp biztató kilátásnak tűnik ezeket az anyagokat kísérleti állatokon kipróbálni. Előtte azonban még akadnak nyitott kérdések a chaperonok sejtanyagcserére és a lizoszómális enzimek funkciójára kifejtett hatására vonatkozóan.