

RITKA VAGY ALULDIAGNOSZTIZÁLT BETEGSÉG?

Tapasztalataim a leuveni egyetem cisztás fibrózis kutatólaboratóriumában

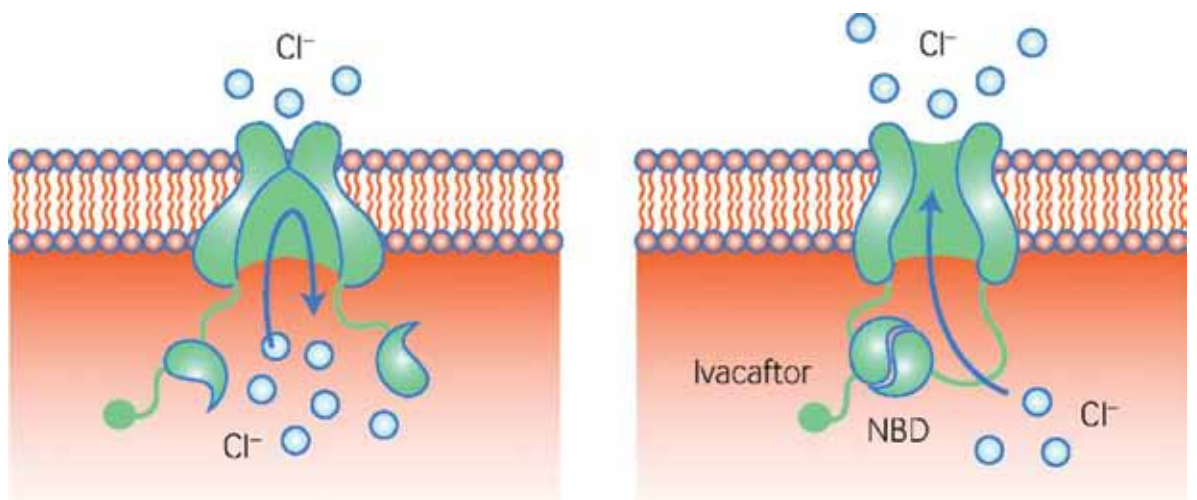
Dr. Kamocsai Márta

Petz Aladár Megyei Oktató Kórház, Pulmonológiai Osztály, Győr

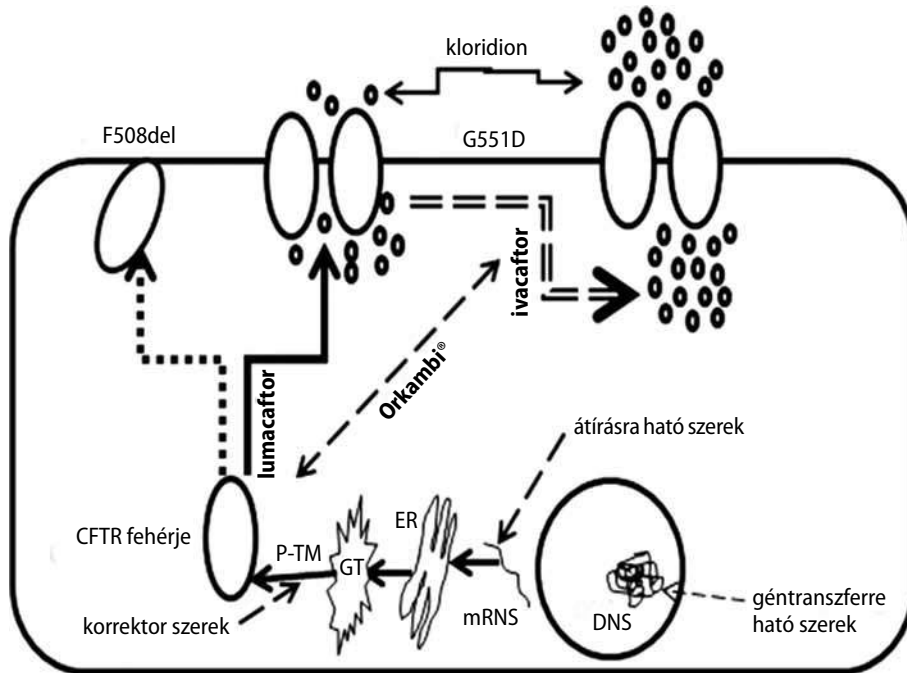
BEVEZETÉS

2018 augusztusában lehetőségem nyílt arra, hogy egy hónapot a leuveni egyetem cisztás fibrózis kutatólaboratóriumában töltsék, ahol a kórkép új terápiás lehetőségeit vizsgáltuk. Ezek közé tartozik az ivacaftor (VX-770, Kalydeco®), a lumacaftor (VX-809) és a kettő kombinációja (Orkambi®). Az ivacaftor elsősorban a G551D mutációval rendelkező cisztás fibrózisos betegek terápiájában hatásos gyógyszer, de számos más mutációnál is alkalmazzák (vizsgálatunkban az S1251N génmutációval rendelkező beteg mintájánál használtuk).

Az ivacaftor volt az első cisztás fibrózisban alkalmazott gyógyszer, amely a betegség okának kezelésére és nem a tünetek enyhítésére szolgált. Az ivacaftor egy úgynevezett potenciátor molekula, mely közvetlenül a CFTR csatornához kötődik, ezáltal fokozza az ioncsatorna kapuzási mechanizmusát, serkentve ezzel a kloridtranszportot. A kloridionok nátriumionok és víz kíséretében a mirigyek lumenébe távoznak, míg a nyák eléri végső viszkozitását. Az ivacaftor tehát a nyák besűrűsödését, ezáltal a külső elválasztású mirigyek kivezető csöveinek elzáródását akadályozza meg (1. ábra).



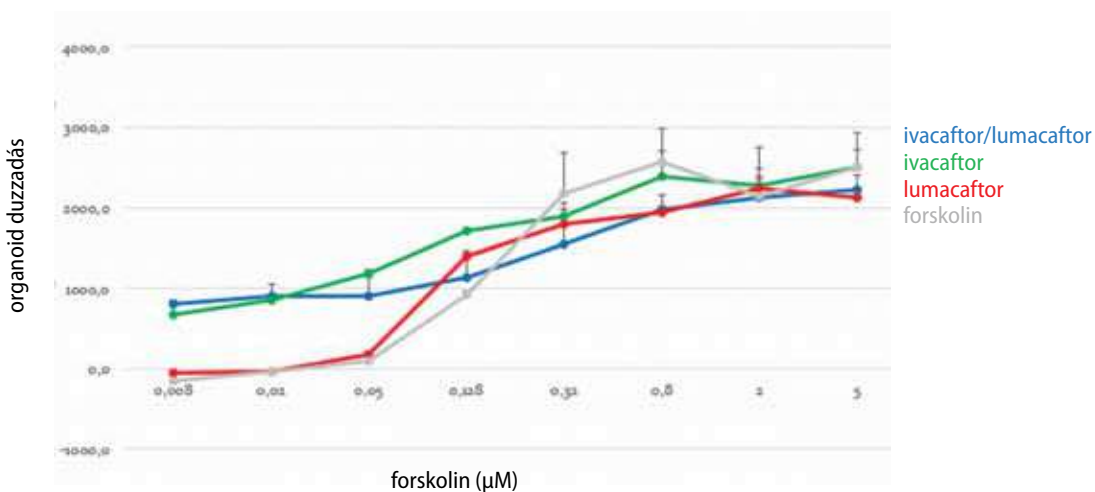
1. ábra: Az ivacaftor hatásmechanizmusa (Cl⁻ = kloridion; NBD = nucleotide binding domain)



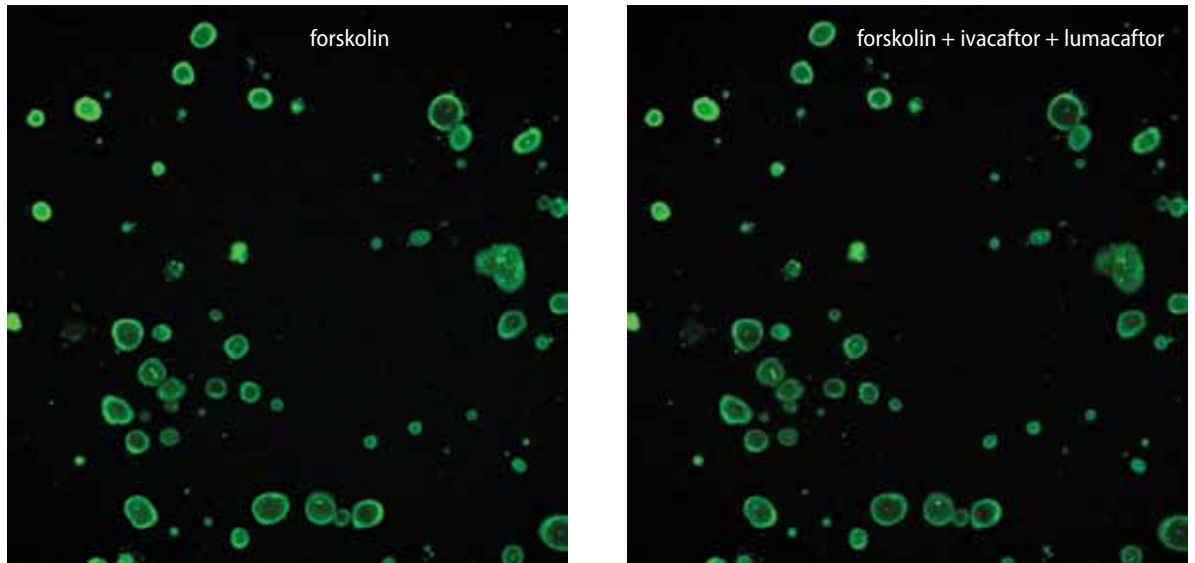
2. ábra: A cisztás fibrózis esetén alkalmazott új szerek (lumacaftor, ivacaftor) hatásmechanizmusa. Az Orkambi® a két szer kombinációja, és két lépcsőben hat. A lumacaftor segít abban, hogy a hibás fehérje eljusson a megfelelő helyre, az ivacaftor pedig helyreállítja a kloridcsatorna nyitott állapotának időtartamát, növeli az aktivitását, és végső soron megnöveli a kloridcsatorna vezetőképségét, a kloridionok, és velük együtt a víz átjutását. Az átíráásra ható szerek (pl. Ataluren) fokozzák a korai terminációs kodon átírását és növelik az éretlen fehérje termelését. A korrektor szerek a transzláció után avatkoznak be a folyamatokba: a CFTR fehérje különböző doménjeihez kötődve növelik annak stabilitását és csökkentik a degradációját (p-TM = transzláció utáni modifikációk, GT = Golgi testek, ER = endoplazmatikus retikulum).

A kombinált készítményt (lumacaftor/ivacaftor [Orkambi®]) az F508del homozigóta mutációjával rendelkező betegeknél alkalmazzák. Az ivacaftor komponens emeli az epiteliális sejtfelszínen elhelyezkedő CFTR fehérje aktivitását, míg a lumacaftor a sejtfelszínre vándorló

CFTR fehérjék számának növeléséért felelős. A két komponensnek szinergikus hatása van egymásra (2. ábra). Az Orkambi® adása májbetegség esetében fokozott óvatosságot igényel, a májfunkciós értékek kontrollja javasolt a készítmény alkalmazásának első három hónapjában.



3. ábra: A CFTR mutációval nem rendelkező betegnél az organoidok duzzadása már a vizsgálat elején megindul, így a hozzáadott anyagok egyike sem okozott szignifikáns változást a kiindulási állapothoz képest.



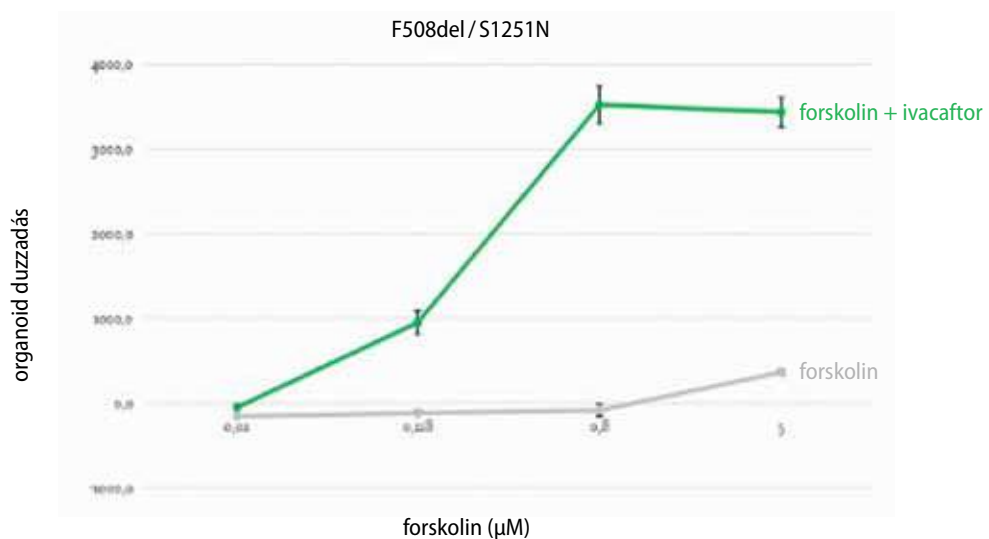
4. ábra: A CFTR mutációval nem rendelkező betegnél az organoidok duzzadása már a vizsgálat elején megindul, így a hozzáadott anyagok egyike sem okozott szignifikáns változást a kiindulási állapothoz képest.

VIZSGÁLATOK

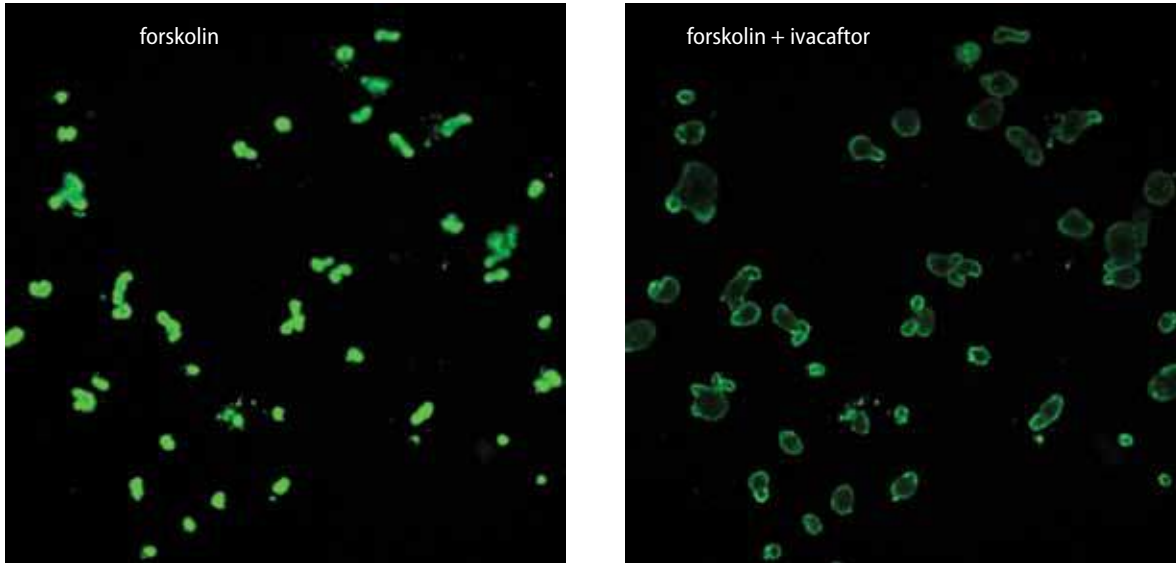
A laboratóriumi vizsgálat során a bélrendszerből (rectumból) származó, néhány milliméteres, biopsziával nyert mintákkal dolgoztunk. Fontos, hogy a mintákban minél több crypta legyen, mert ezekben találhatóak az őssejtek, amelyeket úgynevezett organoid formában tenyésztetni kezdtünk. Az egyéni szövetmintákon a már kifejlesztett gyógyszerek hatását kezdtük el vizsgálni. A vizsgálat kezdetétől figyeltük, hogy az organoidoknak volt-e lumene. Ha volt, azt jelentette, hogy a víz képes bejutni

az organoidokba, a kloridcsatorna működik, tehát a vizsgálati alany nem cisztás fibrózisos vagy csupán enyhe cisztás fibrózis mutációval rendelkezik. Cisztás fibrózisos betegnél a csatorna nem működik, emiatt az organoidok napok múlva sem indulnak duzzadásnak.

A mintákat FIS módszerrel (*Forskolin Induced Swelling*) is vizsgáltuk. A forskolin a kutatólaborok által gyakran használt vegyület, mely az adenilát-cikláz stimulálása révén emeli a cAMP szintjét. Forskolint adtunk a mintákhoz, és figyeltük, hogy ennek hatására duzzadásnak



5. ábra: A heterozigóta cisztás fibrózisos betegnél a forskolinhoz adott ivacaftor jelentős mértékű duzzadást eredményezett az organoidokban, tehát az ivacaftor hatására ion- és víztranszport történt a lumen belsejébe.



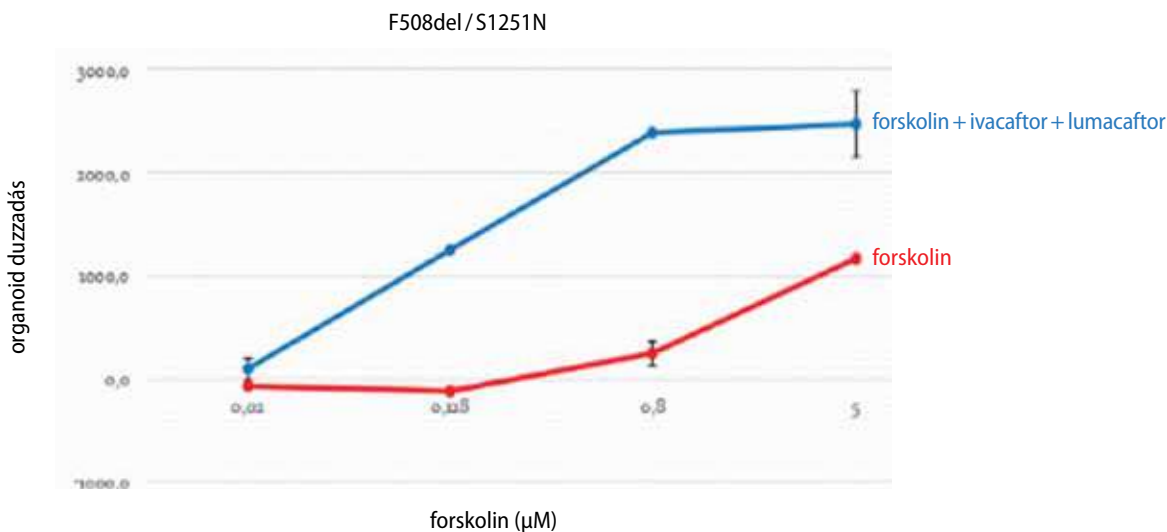
6. ábra: A heterozigóta cisztás fibrózisos betegnél a forskolinhoz adott ivacaftor jelentős mértékű duzzadást eredményezett az organoidokban, tehát az ivacaftor hatására ion- és víztranszport történt a lumen belsejébe.

indulnak-e az organoidok. A forskolin mellett forskolin + ivacaftor, forskolin + lumacaftor és forskolin + ivacaftor + lumacaftor kombinációkkal is elvégeztük ugyanezt a vizsgálatot két cisztás fibrózisos (egy F508del homozigóta, illetve egy F508del/S1251N heterozigóta) beteg szövetmintáit kontrollként használva.

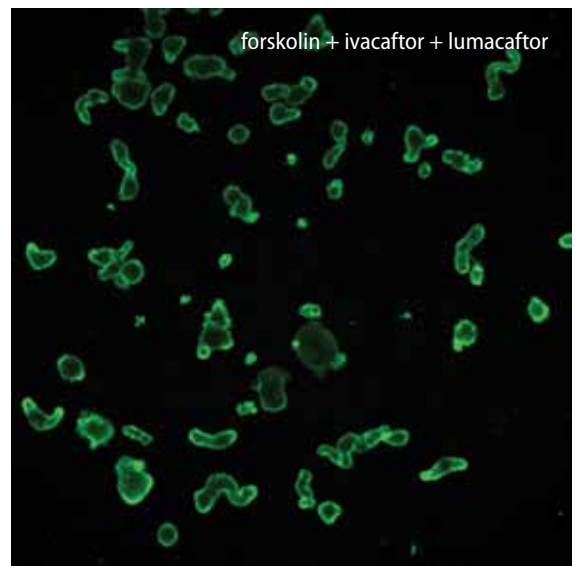
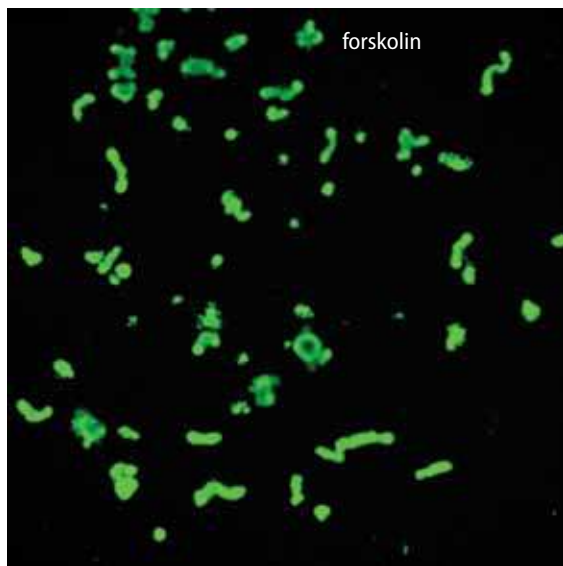
A CFTR mutációval nem rendelkező betegnél az organoidok duzzadása már a vizsgálat elején megindul, így a hozzáadott anyagok egyike sem okozott szignifikáns változást a kiindulási állapothoz képest (3. és 4. ábra).

A heterozigóta cisztás fibrózisos betegnél a forskolinhoz adott ivacaftor jelentős mértékű duzzadást eredményezett a forskolinhoz képest a vizsgált organoidokban, tehát az ivacaftor hatására ion- és víztranszport történt a lumen belsejébe (5. és 6. ábra). A vizsgálat prediktív jelentőségű lehet, és ennek segítségével a vizsgált páciensnél a jövőben személyre szabott kezelést tudunk beállítani.

A homozigóta cisztás fibrózisos betegnél a forskolinhoz adott kombinált készítmény szintén jelentős mértékű duzzadást eredménye-



7. ábra: A homozigóta cisztás fibrózisos betegnél a forskolinhoz adott kombinált készítmény (ivacaftor + lumacaftor) jelentős mértékű duzzadást eredményezett.



8. ábra: A homozigóta cisztás fibrózis betegnél a forskolinhoz adott kombinált készítmény (ivacaftor + lumacaftor) jelentős mértékű duzzadást eredményezett.

zett a monokomponensű forskolinhoz képest (7. és 8. ábra), amely ugyancsak prediktív értékkel bír a vizsgált beteg jövőbeli terápiájának tekintetében.

ÖSSZEFOGLALÁS

A kutatás végső célja az, hogy a jövőben ezen az organoidokon kipróbált és hatásos gyógyszereket a beteg később klinikai vizsgálá-

lat keretében kapja meg, amely egy új és személyre szabott kezelést tesz lehetővé. ■

IRODALOM

1. Dekkers J, Wiegerinck C, de Jonge H, et al. A functional CFTR assay using primary cystic fibrosis intestinal organoids. *J Cyst Fibros* 2012; 11: S32.
2. Dekkers JF, Berkers G, Krusselbrink E, et al. Characterizing responses to CFTR-modulating drugs using rectal organoids derived from subjects with cystic fibrosis. *Sci Transl Med* 2016; 8(344): 344ra84.

AMEGA FÓRUM

www.amegaforum.hu



DEBRECEN
2020. január 31. – február 1.

PÉCS
2020. április 3-4.

BUDAPEST
2020. október 16-17.