

el a „bűvös” 2 °C értéket. Emlékeztetni kell arra, hogy a CO₂ ténylegesen kibocsátott mennyiségének legfeljebb csak a fele marad a légkörben, a felét a különböző természeti elemek (fizikai és biológiai) lekötik, vagy hasznosítják. A lekötés mértéke a jövőben még növekedhet is. Az általam ismertetett és esetleg vitatott adatok felhasználásával végzett számítások ellenére is emlékeztetni kell, hogy komoly tudósok a klímaváltozás kezelésének jelenlegi módszerét is vitatják. Ezt én a klímakutatókra hagyom.

Összefoglalás

A természetben létező óriási változásokhoz képest hiú ábránd az emberi szereplésnek hosszabb távon alapvető befolyást tulajdonítani. A klímakutatásban is a nagyon értékes megismeréseket a tényleges hasznosításuk helyett, a bizonytalanságok miatt nagyrészt gazdasági hasznosításra és pánikkeltésre használják. Bár nagyon sok paraméter fontosságát hangsúlyozzák, mégis a végered-

ményt leszűkítik a szén-dioxid (illetve az üvegházgázok) kibocsátásának alapvető szerepére. Továbbra sem kívánok a klímaváltozással kapcsolatos vitába bekapcsolódnom, csupán a szén-dioxid szerepére teszek néhány észrevételt hőtechnikai és energetikai szempontból. Elsősorban Newton és Einstein figyelmeztetése alapján, a globális értékek meghatározásakor a lehetséges legegyszerűbbekre teszek néhány javaslatot. Véleményem szerint e közelítő módszerek pontossága elegendő az elméletileg megfelelő definícióval és mérésrel még vitathatóan alátámasztott globális hőmérséklet-változásban a szén-dioxid szerepének meghatározására. A konszenzus nem tudományos módszer. A klímaváltozás evidencia. A médiával túltámogatott pánikkeltés helyett helyesebb lenne az igen mélyreható kutatási eredményeket reális lehetőségekre hasznosítani.

Kulcsszavak: globális felmelegedés, energetikai egyensúly, egyszerű képletek, szén-dioxid

IRODALOM

- Bíróné Kircsi Andrea (2005): *Bioklimatológia* 2. rész, 2. ea, KLTE, Debrecen, 2005 B1051a
- Courtilot, Vincent (2014): *Dangerous Global Warming: Myth Or Reality? On Scientific Discovery, Consensus and Debate: A Personal Experience*. MTA Székház, Felolvasóterem, Budapest, 2014. október 29.
- Jacob, Daniel J. (1999): *Introduction to Atmospheric Chemistry*. Princeton University Press Chapter 7. The Greenhouse Effect • <http://tinyurl.com/jzqdr40>
- Major György (2012): A napállandó mérések újabb eredményei. In: 38. *Meteorológiai Tudományos Napok – A légkörfizika és a levegőkémia a modern meteo-*

lógiaiában, 2012. nov. 22–23. MTA Székház, • <http://tinyurl.com/z5f75mr>

Ramaswamy, Venkatachalam et al. (2001): *Radiative Forcing of Climate Change*, IPCC • <http://tinyurl.com/jdm36me>

Reményi Károly (2014): Globális lehülés, globális felmelegedés, szén-dioxid, *Magyar Tudomány*. 175, 9, 1105–1116. • <http://www.matud.iif.hu/2014/09/10.htm>
URL: *It's Official: No Global Warming for 18 Years 1 Month... Global Temperature Update By Christopher Monckton of Brethley*. (Bob Tisdale 2014 okt.) • <http://tinyurl.com/gqaqhr9>

AZ IDEGRENDSZERT ÉRINTŐ NEURODEGENERATÍV BETEGSÉGEK MODELLEZÉSE PETRI-CSÉSZÉBEN

Kovács Eszter Dinnyés András

MSc, doktorandusz hallgató
Eötvös Loránd Tudományegyetem
Genetika Tanszék, BioTalentum Kft.
eszter.kovacs@biotalentum.hu

DSc, BioTalentum Kft., Szent István Egyetem
Molekuláris Állatbiotechnológiai Laboratórium

Kobolák Julianna

PhD, BioTalentum Kft.

A központi idegrendszer érintő betegségekben több millióan szenvednek világszerte, azonban számos esetben a betegségek kialakulásának és lefolyásának molekuláris szintű mechanizmusai szinte alig tisztázottak. Éppen ezért nem állnak rendelkezésünkre olyan biomarkerek, amelyek e betegségeket még a kezdeti fázisukban diagnosztizálhatóvá tennék. Sőt mi több, hatékony kezelési módszerek sem léteznek, sem gyógyítani, de még megállítani, vagy némiképp javítani sem tudjuk a betegek állapotát. Évtizedekig a betegségek felderítése a *post mortem* szövetminták vizsgálatán alapult, ezekkel azonban csupán a betegségek végső stádiuma vizsgálható. Sajnos éppen arról a szakaszról tudunk a legkevesebbet, amely a betegség progressziójának kezdetén, a kezdeti elváltozások szakaszában zajlik. Ez azért nagyon lényeges, mert ha korai felismerésről, biomarkerekről, diagnózisról, illetve hatásos terápiáról beszélünk, akkor éppen ennek a kezdeti szakasznak a megismerése az egyik legfontosabb cél. Vita-

tott kérdés továbbra is, hogy vajon melyik állatmodell és milyen sejtvonalak a legalkalmasabbak ezeknek a betegségeknek a modellezésére, és az is, hogy a kapott eredményekből mennyire vonhatunk le következtetéseket a humán esetekre.

Új alternatíva a betegségek modellezésében

Az indukált pluripotens őssejtek (iPSC – *Induced Pluripotent Stem Cell*) nyújtotta modellrendszerek jelentőségét növeli, hogy a gyógyíthatatlan neurodegeneratív betegségek előfordulási gyakorisága növekszik, ezért egyre fontosabbá válik hatékony kezelési módszerek fejlesztése. Míg az érintettek száma 2009-ben 35 millió volt, napjainkra ez a szám már 47 millióra növekedett, és az előrejelzések alapján 2050-ben akár 132 millióra is változhat. Annak ellenére, hogy a betegségek etiológiájának megértése nagymértékben fejlődik, a molekuláris szintű mechanizmusok ismerete még mindig hiányos, éppen ezért megfelelő kezelési módszerek sem állnak rendelkezésre.

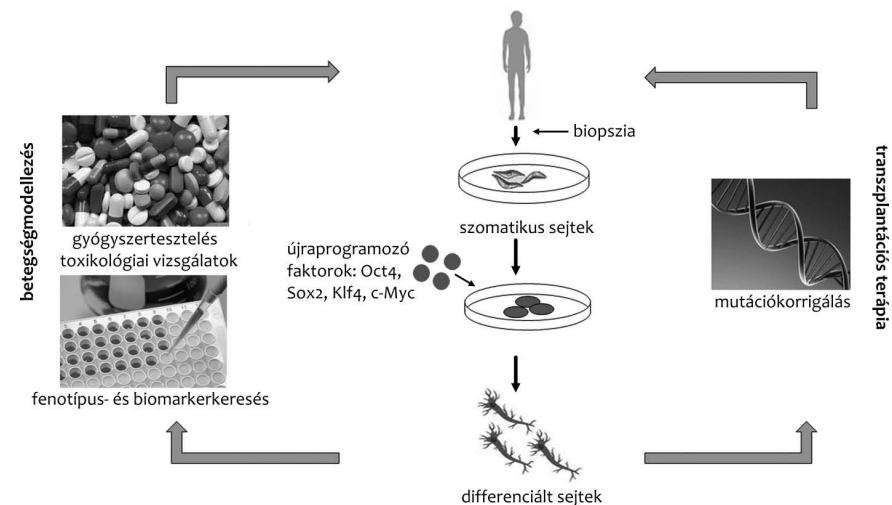
A betegekből származó *post mortem* szövetek vizsgálatával csak a betegségek késői állapota vizsgálható (Marchetto et al., 2011). Ezenkívül számos transzgenikus és *knock-out* állatmodell áll a kutatók rendelkezésére, melyeknek segítségével bepillantást nyerhetnek a betegségre jellemző molekuláris folyamatokba. Azonban sok esetben, a fajok közötti különbségek miatt nehéz következtetéseket levonni a humán betegségekre nézve, számos esetben a modellállatokban tapasztalt fenotípus nem egyezik meg a humán betegségben tapasztalt tünetekkel és patológiával (Wan et al., 2014).

Ezekre a problémákra is részben megoldást jelenthetnek az iPS-sejtek. Mivel a pluripotens és az indukált pluripotens őssejtek a *Magyar Tudomány* 2013/6-os számában részletesen bemutatásra kerültek, ezért ebben a cikkben nem térünk ki jellemzésükre és létrehozásuk technikai vonatkozásaira. Terjedelmi korlátok miatt a cikkben sok esetben nincs lehetőségünk az eredeti szerzőkre hivatkozni, ezért *review* cikkeket is használunk.

A betegből kinyerhető szomatikus sejteket visszaprogramozva és iPS-sejteket előállítva beteg- és betegség-specifikus sejtvonalak hozhatóak létre, amelyek lehetőséget nyújtanak az egyes betegségek modellezésére. Az *in vitro* differenciáltatás során nyert sejtek segítségével pedig a kialakulás és progresszió, tehát az adott betegségre jellemző korai stádiumok is vizsgálhatóvá válhatnak. Továbbá az így létrehozott sejtvonalakon gyógyszerek és gyógyszerjelölt molekulák tesztelhetőek és toxikológiai vizsgálatok végezhetőek. Ezek segítségével pedig új terápiás megoldások szülehetnek, melyek nagy előnye, hogy a humán betegségek immár humán sejteken tanulmányozhatóak, amely sejtek szinte korlátlan mennyiségben előállíthatók. Mindemellett nem hagyható figyelmen kívül az sem, hogy a beteg saját

sejtjeit alkalmazva a transzplantációs terápia új lehetőségei is megnyílnak. Az immunológiai eredetű kilökődés veszélye nem áll fenn a visszaültetés során, ezáltal a személyre szabott orvoslás területén új lehetőségek nyílnak. A várakozások szerint a betegségekben jelentkező szövetkárosodások a saját sejtekből létrehozott őssejtekkel az immunválasz kiváltása nélkül válnak helyreállíthatóvá. Távlati cél az iPS-sejtek génterápiában való alkalmazása, amikor ismert genetikai problémával rendelkező beteg sejteit újraprogramozva, a mutációk *in vitro* körülmények között korrigálhatóak, és a javított pluripotens vagy differenciáltatott sejtek visszaültethetőek (Marchetto et al., 2012). Ezen alternatív alkalmazási lehetőségeket az 1. ábra foglalja össze.

Fontos kérdés a modellezés kapcsán, hogy milyen kontrollokat használjunk. Általában ezek a vonalak olyan emberekből származnak, akik egészségesek, illetve nem érintettek az adott betegségben. Azt azonban nehéz eldönteni, hogy ki számít egészségesnek, hiszen minden ember hordoz kb. ötven–száz betegséghez kapcsolt genetikai variációt. Ráadásul, amíg nem ismert a betegséget kiváltó genetikai mutáció, csak a mintavételkor aktuális egészségi állapot szerint történhet a besorolás. Éppen ezért a legjobb megoldás az ún. izogenikus kontrollok használata lenne, azaz ha a betegekből előállított iPS-sejtekben a mutációval érintett géneket javítanánk ki. Erre alkalmasak a különféle génmódosítási technikák (Nagata – Yamanaka, 2014). Ezek az eljárások azonban csak ismert mutációk esetén alkalmazhatóak. Az ún. *familialis* esetek, ahol ismert a genetikai mutáció, ebbe a csoportba tartoznak. A nagyobb hányadot jelentő ún. *sporadikus* esetekben azonban legfeljebb a kockázati tényezőként felsorolt gének módosíthatóak.



1. ábra • Az iPS-sejtek alternatív alkalmazási lehetőségei

További fontos kérdés a testi sejtjeink mozaikossága is. Régóta tudjuk, hogy az emberi genom rengeteg transzpozont, azaz mobilis genetikai elemet tartalmaz, és azt is tudjuk, hogy ezek a szöveti sejtek korai előalakjaiban (progenitor sejtek), így például az idegi előalakokban (neuronális progenitor sejtekben) is aktívak lehetnek. Ennek következtében pedig a fejlődés során heterogén sejtpopulációk jöhetnek létre, ami végül szomatikus mozaikossághoz, vagyis a hasonló típusú testi sejtek genetikai állományának apró különbségeihez vezet. Ezért felmerül a kérdés, hogy ez a folyamat mennyiben érinti a kötőszövetből előállított iPS-sejteket, és az ezekből differenciáltatott sejtek mennyire térnek el a kiindulási szervezet vizsgálni kívánt szövetét, szervét alkotó sejtjeitől (Nagata – Yamanaka, 2014).

Az utóbbi években egyre több olyan cikk jelent meg, amelyekben a kutatók transz-differenciációval, más néven direkt genetikai újraprogramozással állítottak elő sejteket, vagyis az adott testi sejtekből más típusúakat

hoztak létre. A módszer azon alapul, hogy a legtöbb testi sejt egyedi génexpressziós mintázattal rendelkezik, de sok esetben egy jól definiálható kisebb számú géncsoport (transzkripciós faktorok) erőteljes kifejeződése alakítja ki az adott sejtre jellemző fenotípust. E faktorok kívülről „erőltetett” expressziójával (ektopikus expresszió) a sejtek identitása megváltoztatható. Thomas Vierbuchennek és kollégáinak sikerült ezzel az eljárással létrehozniuk egér embrionális és posztnatális fibroblaszt sejtekből közvetlenül ún. indukált neurális sejteket (iNCs) úgy, hogy a neurális elköteleződésben szerepet játszó transzkripciós faktorokat használták. Kísérleteikben csak három faktor kombinációját alkalmazták (Ascl1, Brn2, Myt1l), ahol az általuk előállított iNC-sejtek expresszáltak több neuronspecifikus fehérjét, és képesek voltak akciós potenciál létrehozására is (Vierbuchen et al., 2010) az *in vitro* tenyészetekben.

Több csoport is alkalmazta már a „Yamanaka-faktorok” felhasználásán alapuló mód-

szert, melynek az a lényege, hogy a sejtekbe bejuttatják az indukált pluripotens sejtek előállításánál alkalmazott négy gént, de nem várják meg a pluripotens sejtek kialakulását, hanem néhány nap múlva egy olyan morfogént adnak a tápfolyadékhoz, melynek hatására a fibroblasztok idegsejteké transz-differenciálódnak (Wan et al., 2014). Ezek a technikák ma még nem elterjedtek, de nem kizárt, hogy gyorsaságuknak és hatékonyságuknak köszönhetően a jövőben fontos szerepet játszanak majd ezen a kutatási területen.

Neurodegeneratív betegségek

A neurodegeneratív betegségek nagy részében fehérjeaggregátumok jelenléte figyelhető meg. Ezeknek egy része a sejteken kívül (extracellulárisan), egy része pedig a sejteken belül (intracellulárisan) helyezkedik el. Klinikai és neuropatológiai szempontból igen heterogén, sőt, sok esetben kevert tüneteket mutató betegségcsoportról van szó, ennek az az oka, hogy egy adott fehérjeaggregátum több betegségben is megjelenhet. A károsodott sejtek elhelyezkedése azonban az egyes betegségekre jellemző, így ennek alapján beazonosítható. A körképek hátterében valamely, alapvetően fiziológias funkciójú fehérje natív konformáció-változása áll, melynek következményeként intra- vagy extracelluláris aggregációra hajlamos patológias hatású peptidok halmozódnak fel (Ross – Poirier, 2004).

A következőkben szeretnénk áttekinteni a leggyakoribb idegrendszert érintő betegségeket és azok iPSC-sejtekkel történő modellezési lehetőségeit (1. táblázat).

Az **Alzheimer-kór** az időskori demenciák egyik leggyakoribb oka, a memóriavesztéses betegségek több mint 50%-áért felelős, és mintegy 35 millió embert érint világszerte. A betegség a szellemi képességek súlyos és fo-

kozatos leépülésével jár együtt, tünetei lassan alakulnak ki az idő múlásával (Nat et al. 2013).

A szenilis plakkok az amiloid prekursor protein (APP) proteolitikus hasítási termékeiből, főként az amiloid-béta 1-40 és amiloid-béta 1-42 (A β) peptidek aggregátumaiból alakulnak ki, és rakódnak le a központi idegrendszer extracelluláris térrészeiben. Egészséges esetben az APP-t nagyrészt az α -szekretáz enzim hasítja, így egy toxicitásra nem hajlamos termék keletkezik. Azonban a betegek esetében a β -, majd a γ -szekretázok, 40 és 42 aminosavból álló peptideket (A β 1-40 és 1-42) hasítanak ki az APP-fehérjéből. Ezek a peptidek oligomerekké aggregálódhatnak, melyekből további aggregációval jönnek létre a plakkok.

A NFT-k az idegsejtekben és nyúlványaikban felszaporodó, hiperfoszforilált mikrotubuluskötő fehérjéből, a TAU fehérjéből álló kötegek. A sejtek pusztulásával azonban extracelluláris aggregátumok lerakódása is megfigyelhető az agyban. A TAU egy mikrotubulus-asszociált fehérje, melynek fontos szerepe van a mikrotubulusok kötésében, stabilizálásában és a mikrotubulus-hálózat szabályozásában. A TAU hiperfoszforilációját követően létrejövő NFT-k végül a neuronok pusztulását okozzák. A TAU hiperfoszforilációja bekövetkezhet egyrészt a TAU-kinázok túlzott aktivációja, illetve a TAU-foszfatazok alulszabályozása miatt (Ross – Poirier, 2004).

A betegségnek genetikai szempontok alapján korai kezdetű (hatvanöt éves életkor alatti) autoszomális domináns módon öröklődő, ún. *familiális* (vagy *early onset* – EOAD/FAD), és késői kezdetű (hatvanöt éves kor feletti; *late onset* – LOAD), elsősorban sporadikus, de ritkábban familiális, nem monogénes öröklődésű formái is ismertek. Az esetek kevesebb, mint 5%-a familiális, ilyenkor az

amiloid prekursor protein (APP), a *preszenilin-1 (PSEN1)* és *2 (PSEN2)* gének mutációi okozzák a betegséget. A betegség kockázati tényezője az apolipoprotein E (APOE) epsilon-4 alléljának hordozása (Wan et al., 2014).

Számos kutató csoportnak sikerült Alzheimer-betegek sejtjeiből létrehozott iPSC-sejtekből neuronokat előállítani, amelyek *APP*- és *PSEN*-gének mutációjával voltak érintettek. Egyesek korai stádiumú familiális

betegség	érintett gén	fenotípus
Alzheimer-kór	APP-duplikáció	A β 40-, TAU- és GSK-3 β -szint \uparrow
	Preszenilin1,2	A β 42-szekréció \uparrow
	sporadikus	A β -oligomerek akkumuláció miatt \uparrow az OS
Parkinson-kór	SNCA	α -szinuklein-felhalmozódás miatt érzékenység az OS-re \uparrow
	LRRK2	\uparrow α -szinuklein-expresszió, érzékenység celluláris stresszorokra
	PINK1	parkinfelvétel \downarrow
	PARK2	oxidatív stressz \uparrow dopaminfelvétel \downarrow spontán felszabadulás \uparrow α -szinuklein-szint \uparrow
	GBA1	lizoszóma-rendszerben és kalcium-homeosztázisban változás
	sporadikus	kevesebb, kevésbé elágazó neurit
Amiotrófiás laterálsklerózis	SOD1	SOD1-aggregátumok képződése NF-alegység-változás
	TDP-43	citoszolikus TDP-43-aggregátum-képződés, neurithossz \downarrow
	VAPB	VAPB-fehérjesszint \downarrow
	sporadikus	TDP-43 aggregátum képződés
Spinális izomatófia	SMN	SMN-fehérjesszint \downarrow megváltozott szómaméret, szinapszisformáló képesség, apoptózis \uparrow rendellenes neurit \uparrow
Down-kór	APP	A β -oligomerek, TAU-protein szint \uparrow neurogenesis károsodása
Huntington-kór	HD	kaspázaktivitás, lizoszomális aktivitás \uparrow génexpresszós profil változás, érzékenység celluláris stresszorokra, BDNF-elvonásra
Sclerosis multiplex	ismeretlen	elektrofiziológiai változások, szinaptikus kapcsolatok \downarrow

1. táblázat • A betegségekben érintett gének és az iPSC-sejtek segítségével talált fenotípusok

betegből állítottak elő iP_S-sejteket, azonban A β -lerakódást nem tapasztaltak a differenciáltot sejttenyészetekben. Sporadikus betegből származó minták neurális irányba való differenciálása során pedig azt tapasztalták, hogy az A β -oligomerek akkumulációja endoplazmatikus retikulum (ER) stresszhez és oxidatív stresszhez (OS) vezetett (Kondo et al., 2013). Mások *APP*-mutációval érintett betegből (E693-deléción és *APP*-duplikáció) generáltak neuronokat. Az elsőként említett mutáció esetén ER-stresszre és OS-re egyaránt érzékenységet figyeltek meg, továbbá intracelluláris A β -oligomereket detektáltak. A duplikációval érintett sejtek esetében az A β 1-40 peptid, a foszfo-TAU és az aktív GSK-3 β növekedését találták (Israel et al., 2012). Azokban az esetekben, mikor a *PSEN1*- és *PSEN2*-gének mutációi okozták a betegséget, megfigyelték az A β 1-42 szekréciójának növekedését (Yagi et al., 2011). Más kutatócsoportok sporadikus és familiális AD iP_S-sejteket hasonlítottak össze. Hasonló fenotípust találtak a két esetben, úgymint az A β -oligomerek akkumulációjának következtében kialakuló oxidatív stresszt. Mások pedig ApoE₃/E₄ iP_S-sejtekből állítottak elő kolinerg neuronokat, a sejtek érzékenységnövekedését tapasztalták a glutamát toxicitásra, illetve hasonló jelenséget figyeltek meg az intracelluláris Ca²⁺ szintjében és az A β 42/40 arányban is (Duan et al., 2014).

A **Parkinson-kór** a második leggyakoribb neurodegeneratív betegség, a teljes populáció 0,3%-át érinti. Jellemzően idős korban kialakuló, lassan előrehaladó, degeneratív idegrendszeri betegség. Általában sporadikusan fordul elő, de ismert fiatalkori és családi halmozódású, familiális formája is.

A betegséget az extrapiramidális rendszer zavara okozza. A fekete magból kiinduló és

a lencse magban végződő pályarendszerben az egyik fő ingerületátvivő anyag (neurotransmitter), a dopamin mennyisége csökken a *szubsztancia nigra* sejteinek pusztulása miatt. A dopaminerg rendszernek többek között a vázizmok működésében van szerepe, ennek hiányában jelennek meg a betegsége jellemző tipikus tünetek, úgymint a kéz- és lábremegés, a testtartás instabilitása. A kórnak két fontos neuropatológiai jellemzője van, egyrészt a dopaminerg idegsejtek pigmentációja és pusztulása, másrészt a citoplazmatikus eozinofil zárványtestek (Lewy-testek) megjelenése a túlélő sejtekben (Ross – Poirier, 2004).

Számos génről sikerült bizonyítani, hogy szerepet játszik a betegségben. Minden mutáció kapcsolódik az ubiquitin-proteasóma rendszer által közvetített fehérjebontási folyamathoz, amelyek a hibásan rendeződött fehérjék lebontásáért felelősek (Ross – Poirier, 2004). A betegség során ennek a rendszernek a zavara figyelhető meg. Habár a monogénes forma az esetek kis százalékában okoz tüneteket, de nagyon fontos a mechanizmus megértésében. Jelenlegi ismereteink szerint a következő génmutációk vezethetnek a betegség kialakulásához: *SNCA*, *GBA*, *LRRK2*, *PARK2*, *PARK7*, *PIK1* és *UCHL1* (Wan et al., 2014).

Az *SNCA*-gén kiemelt szerepe annak köszönhető, hogy a mutáció miatt a gén által kódolt α -szinuklein fehérjének megváltozik a szerkezete, oldhatatlanná válik, és felhalmozódik a Lewy-testekben, neuritokban (összefoglaló cikk: Ross – Poirier, 2004). Egyes kutatók a fehérje felhalmozódását figyelték meg az *SNCA*-iP_S sejtekből generált dopaminerg neuronokban, ami növelte a sejtek érzékenységét az oxidatív stresszorokra (összefoglaló cikk: Nat et al., 2013). Mások *LRRK2*-pontmutációval érintett betegből állítottak elő dopaminerg neuronokat. Megnövekedett

α -szinuklein szintet és a sejtek érzékenyebbé válását tapasztalták a celluláris stresszorokra (összefoglaló cikk: Marchetto et al., 2011). Mások is megfigyelték az α -szinuklein expressziójának növekedését a *G2019S-LRRK2*-iP_S-sejtekből előállított neuronok esetében, bizonyítva ezzel a két gén között fennálló kapcsolatot (összefoglaló cikk: Ross et al., 2014). Adriana Sánchez-Dané és munkatársai morfológiai változásokat tapasztaltak, úgymint a neuritok hosszának, számának csökkenését és az autofág vezikulák akkumulációját (összefoglaló cikk: Xu – Zhong, 2013). A *PINK1*-gén kódolja a mitokondriális kinázokat, amelyek védik a sejtet a mitokondriális stressztől. Philip Seibler és munkatársai ezzel a mutációval érintett betegből állítottak elő iP_S-sejteket és dopaminerg neuronokat. Azt tapasztalták, hogy a mitokondriális depolarizáció következtében csökkent a parkin felvétele (összefoglaló cikk: Wan et al., 2014). A *PARK2*-gén kódolja a parkin fehérjét. A parkin sokoldalú neuroprotektív hatással rendelkezik, ezért elképzelhető, hogy bármiféle csökkenés a szintjében vagy aktivitásában eltérést okozhat a neuronális integritásban. Jian Feng és munkatársai kimutatták, hogy a génmutáció következtében megnőtt az oxidatív stressz. Mások a dopaminfelvétel csökkenését és a spontán felszabadulás növekedését tapasztalták a neuronokban (összefoglaló cikk: Gu, 2013). David C. Schöndorf és kollégái a *GBA1*-génmutációt vizsgálták. Ez a gén a β -glükocerebrozidáz enzim kódolja, ami a lizoszómákban a zsírok bontásáért felelős. *GBA1*-iP_S-sejtekből differenciáltot neuronok esetében a fehérje degradációját tapasztalták, amely az α -szinuklein akkumulációját indukálta, továbbá változásokat figyeltek meg a lizoszóma rendszerben és a Ca²⁺ homeosztázisban is (összefoglaló cikk: Torrent

et al., 2015). A sporadikus esetek vizsgálatok kevesebb és kevésbé elágazó neuritokat figyeltek meg (összefoglaló cikk: Xu – Zhong, 2013).

Az **amiotrófiás laterálszklerózis (ALS)** a leggyakrabban előforduló motoneuron-pusztulással járó betegség, amely a test izmainak gyengeségéhez, majd sorvadásához és néhány éven belül halálhoz vezet. A motoneuronok mellett a motoros kéreg piramissejtjei is érintettek lehetnek a betegségben (Ross et al., 2004). Ez vezet a laterális funikulusz sorvadásához. Ennek a betegségnek is két formája ismert, vannak sporadikus (90–95%) és familiális (5–10%) esetek. A familiális esetek többségében igazolható a réz-cink szuperoxid diszmutáz (*SOD1*) mutációja, emellett a *FUS*, *TDP-43*, *C9ORF72*, *VAPB* és további gének szerepét is sikerült igazolni a betegség kialakulása kapcsán (Wan et al., 2014). Azonban az ALS-esetek túlnyomó részében az ok ismeretlen. A betegséget kiváltó okokról és mechanizmusokról még vita folyik a kutatók között.

A *SOD1*-pontmutációt tanulmányozták a legtöbbet. Egyes kutatók *A4V-SOD1*- és *D90A-SOD1*-mutációkkal érintett betegből motoneuronokat izoláltak, melyeknél *SOD1*-aggregátumokat figyeltek meg a citoplazmában. Azt tapasztalták, hogy a neurofilamentek hamar megjelentek a gerincvelő motoneuronjaiban, ezzel szemben a nem-motoneuronokban csak ritkán. Ez összefüggésben van azzal, hogy a *SOD*-mutációk az NF-L mRNS 3'UTR régiójához kapcsolódnak, ezáltal csökkentik az NF-L mRNS stabilitását, és így megváltoztatják az NF-alegységek arányát (összefoglaló cikk: Wan et al., 2014). A *TDP-43*-fehérjék a citoplazmában lokalizálódnak, ahol zárványtesteket képeznek, ezeket a betegek 95%-ánál figyelték meg, és a familiális betegségek 4%-ának hátterében ez a mutáció áll (összefoglaló cikk: Wan et al., 2014). Nao-

hiro Egawa és kollégái sikeresen mutatták ki ezeknek a zárványoknak a képződését *TDP-43*-iPS sejtekből motoneuronokká differenciáltatott sejtek segítségével, továbbá a neuritok lerövidülését is tapasztalták. Mások asztrocitákat állítottak elő; a sejtek túlélésének csökkenését és a stresszorokra való érzékenységet figyelték meg (összefoglaló cikk: Ross et al., 2014). A sporadikus formával érintett betegekben generált motoneuronok esetében is *TDP-43*-aggregátumokat találtak (összefoglaló cikk: Ross et al., 2014). Egyes kutatók *VAPB*-génmutációval érintett betegekben állítottak elő iPS-sejteket, és a betegséggel nem érintett testvéreik sejtjeit használták kontrollként. A betegek esetében a *VAPB*-fehérje szignifikáns csökkenését figyelték meg, különösen a motoneuronokban gazdag populációkban (összefoglaló cikk: Marchetto et al., 2011).

A **spinális izomatrófia (SMA)** olyan autoszomális, recesszív módon öröklődő betegség, amely a gerincvelő mozgó idegsejtjeinek pusztulásával jár. Emiatt azok a beidegzett izmok, amelyeket ezek a sejtek működtetnének, elsovadnak. A betegségnek négy típusa különböztethető meg, ebből három csecsemő-, illetve gyerekkorban jelentkezik, és a betegek nem élik meg a felnőttkort.

A betegséget az *SMN*- (mozgó idegsejt túlélés) gén hibája okozza. Az *SMN*-gén az *SMN*-fehérje képzésére vonatkozó információkat hordozza. Az *SMN*-fehérje az egész szervezetben megtalálható, nagy koncentrációban a gerincvelőben és a hozzá csatlakozó agyi részben. Ez a fehérje fontos szerepet játszik a fehérjeszintézisre kész hírvivő RNS kialakításában, továbbá a mozgóidegek képződésében segít. A hibás vagy hiányzó *SMN*-gén miatt vagy kevés fehérje képződik, vagy egyáltalán nem képződik (összefoglaló cikk: Xu – Zhong, 2013).

Az első iPS-modellt ezzel a betegséggel érintett gyerekek sejtjeiből állították elő Allison D. Ebert és kollégái. Ők az *SMN*-iPS-sejteket motoneuronokká differenciáltatták, és hasonlították össze a betegségben nem szenvedő anyák sejtjeivel. Azt tapasztalták, hogy a beteg iPS-sejtek *SMN*-fehérjeszintje csökkent, kevesebb motoneuront figyeltek meg, és különbséget találtak a szoma mérete és a szinapsztis formáló képesség között (Ebert et al., 2009). Egyesek megnövekedett apoptózist figyeltek meg a beteg motoneuronok esetében, míg mások az iPS-sejtek vizsgálata során azt tapasztalták, hogy azok kevésbé voltak képesek motoneuronokká alakulni és a neuritok rendellenesen növekedtek (összefoglaló cikk: Wan et al., 2014). Továbbá iPS-sejtek mozgó idegsejteké differenciálata során azt figyelték meg, hogy ezek a sejtek idővel ugyanúgy pusztulni kezdtek, ahogy a betegekben.

A **Down-kór** az egyik legismertebb genetikai rendellenesség, melynek három nagy csoportja különíthető el: a 21-es kromoszóma számbeli többlet, a 21-es kromoszómapár transzlokációja és a mozaikos formák, amikor a mutáció a testi sejtek szaporodása közben jön létre, így egy szervezetben belül együtt vannak jelen egészséges és kóros sejtek is (Nagata – Yamanaka, 2014). A betegségnek jellegzetes tünetei vannak, úgymint a sajátos testalkat, arc és fejforma, a kezek, a lábak és az ujjak rövidegsége és a megszokottól eltérő idegrendszeri jellegzetességek.

Az iPS-modellzésnek köszönhetően a kutatók megfigyelhették, hogy a 21-es kromoszómán helyet foglaló *APP*-gén expressziós aktivitása az átlagosnál magasabb, így az Alzheimer-kórra jellemző celluláris folyamatokat találtak a betegekben. Egyesek kortikális neuronokká differenciáltatták a betegekben

generált iPS-sejteket, az $A\beta$ peptidekből oldhatatlan aggregátumok és a TAU-proteinek felhalmozódását figyelték meg. Mások a neurogenesis károsodását tudták modellezni neurális progenitor sejtek segítségével. Továbbá azt tapasztalták, hogy ezek a sejtek a kontrollhoz képest kisebb mértékben alakultak neuronokká, illetve a metil-CpG-kötő fehérje expressziójának a gátlását figyelték meg a miR-55 és a miR802 túlexpressziója folytán (összefoglaló cikk: Wan et al., 2014).

A **Huntington-kór (HD)** öröklött génihi miatt alakul ki, amelyre a bazális ganglionok GABAerg közepes tuskés neuronok pusztulása jellemző. A kór oka a huntingtin fehérjét kódoló génben található polimorf trinukleotid ismétlődés kóros expanziója. A CAG-triplet a glutamin aminosavat kódolja, és ismétlődése egy poliglutamin láncot eredményez. Ennek következtében megváltozik a fehérjék funkciója és a szerkezete is, így hajlamosak lesznek aggregációra, ez zárványok képződéséhez és strukturális károsodáshoz vezet a neuronokban. Ezekből toxikus proteinfragmentumok hasadnak le, amelyek a sejtmagba vándorolva a DNS expresszióját változtatják meg, illetve más proteinekhez kötődve megváltozik a fehérje-fehérje interakció is a sejten belül, ami további metabolikus stresszt jelent. Normális esetben a gén maximum harmincöt ismétlődést tartalmaz, a betegség akkor alakul ki, ha az ismétlődések száma negyven vagy annál több, ami már a gén funkcióváltozását okozza. Minél hosszabb a CAG-ismétlődés, annál hamarabb jelentkeznek a tünetek, súlyosabb és gyorsabb lefolyású a betegség (összefoglaló cikk: Ross et al., 2004). Bár ez a betegség ritka, jelentősége abban rejlik, hogy monogénes, autoszomális domináns betegség, ami viszonylag egyértelmű helyzetet biztosít a kóros folyamatok

tanulmányozására (összefoglaló cikk: Ross et al., 2014).

Egyes kutatók HD-iPS-sejtekből differenciáltatott neuronok esetében fokozott kaspázaktivitást figyeltek meg, ennek az enzimnek szerepe van az apoptózisban (összefoglaló cikk: Wan et al., 2014). Egy másik kutatócsoport fokozott lizoszomális aktivitást tapasztalt, az iPS és a differenciáltatott neuronok esetében is (összefoglaló cikk: Nat et al., 2013). A HD Konzorcium tizennégy iPS-sejtvonalat hasonlított össze, ezek különböző CAG-ismétlődéseket tartalmaztak. A differenciálatast követően jellegzetes különbségeket találtak a génexpressziós profilban a beteg és a kontrollvonalak, illetve a korai és késői stádiumú vonalak között. Vizsgálták továbbá az elektrofiziológiás, a metabolizmusban, a sejtdhézióban bekövetkező változásokat és a sejthalált is. Azt tapasztalták, hogy a BDNF-eltávolításra és a celluláris stresszorokra a hosszabb CAG-ismétlődéssel rendelkező sejtek érzékenyebbek voltak (HD iPSC Consortium, 2012).

A **szklerózis multiplex (SM)** a központi idegrendszer többgócú fehérállomány betegsége, mely főleg fiatal felnőtteket érint. Nőkben kétszer gyakoribb a betegség előfordulása, mint férfiakban. A fehérállományban a mielinpusztulást követően plakkok alakulnak ki. A SM oka valószínűleg autoimmun gyulladásos reakció, melyet a központi idegrendszerbe jutó helper T-sejtek közvetítenek. A T-sejtek receptorai az asztrociták és makrofágok felszínén elhelyezkedő HLA II-es típusú felszíni antigénekhez kötődnek. Ez a kapcsolódás a helper T-sejtek stimulációjához, citokin-szekrécióhoz, T-sejt-szaporodáshoz, B-sejt- és makrofág-aktiválódáshoz vezet, aminek következtében a vér-agy gát károsodik. E változások kiterjedt oligodendroglia pusztulást okozhatnak.

tuláshoz és demielinizációhoz vezetnek (összefoglaló cikk: Orack et al., 2015).

Kutatók sikeresen differenciáltattak SM-iPS-sejtekből oligodendrocitákat, asztrocitákat és funkcionális neuronokat. Számos gén mutációját sikerült azonosítani, immunológiaiakat és neurológiaiakat is. Az utóbbiak a következők: az *ACCNr*, melynek a pH-érzékeny ioncsatornáknak van szerepe, a *KIF1B*, amely az axonális transzportban fontos és az *ALK*, amelynek az agy fejlődésében és a protein tirozin kináz receptorok működésében van szerepe. Bi Song és munkatársai SM-iPS-neuronok vizsgálatokor csak kisebb változásokat figyeltek meg az elektrofiziológiai vizsgálatok során (összefoglaló cikk: Xu–Zhong, 2013). Míg mások a szinaptikus kapcsolatok csökkenését tapasztalták (összefoglaló cikk: Orack et al., 2015).

Összefoglalás

A központi idegrendszer érintő betegségek modellezése az iPS-sejtek segítségével óriási fejlődésen ment keresztül az elmúlt tíz évben. Kezdetben még kérdéses volt, hogy vajon sikerül-e a kutatóknak iPS-modellek segítségével fenotípust találniuk a későn jelentkező betegségek esetében, hiszen *in vitro* körülmények között a neuronok csak néhány hétig vagy hónapig tarthatóak fenn. A cikkben

bemutatott példák is bizonyítják, hogy ez az elképzelés megvalósíthatónak bizonyult. Természetesen a modellek még sok esetben fejlesztésre szorulnak. Fontos lenne a gyorsabb és reprodukálhatóbb protokollok kifejlesztése, amelyekkel az adott betegségben érintett homogén neuron populációk vizsgálhatóvá válnának. Számos betegség esetében nemcsak egy sejttípus érintett, hanem több is, ezért fontos lenne ilyen protokollok fejlesztése is. Ezek ellenére is biztosak lehetünk abban, hogy a jövőben az iPS-sejtek segítségével történő modellezésnek egyre nagyobb szerepe lesz a neurológiai betegségek hátterében álló molekuláris folyamatok felderítésében. Azt azonban nem szabad elfelejteni, hogy az iPS-sejtek *in vitro* modellek, a betegségek *in vivo* fenotípusának tanulmányozására nem alkalmasak, így továbbra is szükség van az állatmodellek használatára. Tehát az iPS-sejtek általi betegségmodellezés nem ezek helyett, hanem ezekkel együtt játszik majd egyre fontosabb szerepet az orvosi biológiai kutatásokban.

Köszönöm dr. Mihalik Balázsnak a kézirat javításában nyújtott segítségét.

Kulcsszavak: indukált pluripotens őssejtek, neurodegeneratív betegségek, *in vitro* modellezés, fehérje aggregátumok, génmutációk

IRODALOM

Duan, Lishu – Bhattacharyya, B. J. – Belmadani, A. – Pan, L. – Miller, R. J. – Kessler, J. A. (2014): Stem Cell Derived Basal Forebrain Cholinergic Neurons from Alzheimer's Disease Patients Are More Susceptible To Cell Death. *Molecular Neurodegeneration*. 9, 1, 1–14. DOI: 10.1186/1750-1326-9-3 • <http://link.springer.com/article/10.1186/1750-1326-9-3>

Ebert, Allison D. – Yu, J. – Rose, F. E. – Mattis, V. B. – Lorson, C. L. – Thomson, J. A. – Svendsen, C. N. (2009): Induced Pluripotent Stem Cells from a Spinal Muscular Atrophy Patient. *Nature*. 457, 7227,

277–280. DOI 10.1038/nature07677 • <http://tinyurl.com/ofvkwkj>

Gu, Haigang (2013): Using Induced Pluripotent Stem Cells to Model Neurodegenerative Diseases. *Journal of Ancient Diseases & Preventive Remedies*. 1, 1, e101 DOI: 10.4172/2329-8731.1000e101 • <http://tinyurl.com/hhd3jekf>

HD iPSC Consortium (2012): Induced Pluripotent Stem Cells From Patients with Huntington's Disease Show CAG-repeat-expansion-associated Phenotypes. *Cell Stem Cell*. 11, 2, 264–278. DOI: 10.1016/j.stem.2012.04.027 • <http://tinyurl.com/zeb6ymr>

Israel, Mason A. – Yuan, S. H. – Bardy, C. – Reyna, S. M. – Mu, Y. – Herrera, C. – Carson, C. T. (2012): Probing Sporadic and Familial Alzheimer's Disease Using Induced Pluripotent Stem Cells. *Nature*. 482, 7384, 216–220. DOI: 10.1038/nature10821 • <http://www.nature.com/nature/journal/v482/n7384/full/nature10821.html>

Kondo, Takayuki – Asai, M. – Tsukita, K. – Kutoku, Y. – Ohsawa, Y. – Sunada, Y. – Takahashi, K. (2013): Modeling Alzheimer's Disease with iPSCs Reveals Stress Phenotypes Associated with Intracellular A β and Differential Drug Responsiveness. *Cell Stem Cell*. 12, 4, 487–496. DOI: 10.1016/j.stem.2013.01.009 • <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S193459091300012X>

Marchetto, Maria C. – Gage, Fred H. (2012): Modeling Brain Disease in a Dish: Really? *Cell Stem Cell*. 10, 6, 642–645. DOI: 10.1016/j.stem.2012.05.008 • <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S193459091200241X>

Marchetto, Maria C. – Brennand, K. J. – Boyer, L. F. – Gage, F. H. (2011): Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) and Neurological Disease Modeling: Progress and Promises. *Human Molecular Genetics*. 20, R2, R109–R115. DOI: 10.1093/hmg/ddr336 • <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC444776/>

Nagata, Naoki – Yamanaka, Shinya (2014): Perspectives for Induced Pluripotent Stem Cell Technology New Insights into Human Physiology Involved in Somatic Mosaicism. *Circulation Research*. 114, 505–551. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.114.303043 • <http://circres.ahajournals.org/content/114/3/505.full>

Nat, Roxana – Eigentler, A. – Dechant, G. (2013): Human Pluripotent Stem Cells Modeling Neurodegenerative Diseases. *Pluripotent Stem Cells*. 477–516. DOI: 10.5772/55772 • <http://www.intechopen.com/books/pluripotent-stem-cells/human-pluripotent-stem-cells-modeling-neurodegenerative-diseases>

Orack, Joshua C. – Deleidi, M. – Pitt, D. – Mahajan, K. – Nicholas, J. A. – Boster, A. L. – Imitola, J. (2015): Concise Review: Modeling Multiple Sclerosis with Stem Cell Biological Platforms: Toward Functional Validation of Cellular and Molecular Phenotypes in

Inflammation-induced Neurodegeneration. *Stem Cells Translational Medicine*. 4, 3, 252–260. DOI: 10.5966/sctm.2014-0133 • <http://tinyurl.com/z3qnxvu>

Ross, Christopher A. – Akimov, Sergey S. (2014): Human-induced Pluripotent Stem Cells: Potential for Neurodegenerative Diseases. *Human Molecular Genetics*. 23, R1, R17–R26. DOI: 10.1093/hmg/ddu204 • <http://hmg.oxfordjournals.org/content/23/R1/R17.long>

Ross, Christopher A. – Poirier, Michelle A. (2004): Protein Aggregation and Neurodegenerative Disease. *Nature Medicine*. 10, S10–S17. DOI: 10.1038/nm1066 • <http://www.nature.com/nm/journal/v10/n7s/full/nm1066.html>

Torrent, Roger – De Angelis Rigotti, F. – Dell'Era, P. – Memo, M. – Raya, A. – Consiglio, A. (2015): Using iPSC Cells toward the Understanding of Parkinson's Disease. *Journal of Clinical Medicine*. 4, 4, 548–566. DOI: 10.3390/jcm4040548 • <http://www.mdpi.com/2077-0383/4/4/548/htm>

Vierbuchen, Thomas – Ostermeier, A. – Pang, Z. P. – Kokubu, Y. – Südhof, T. C. – Wernig, M. (2010): Direct Conversion of Fibroblasts to Functional Neurons by Defined Factors. *Nature*. 463, 7284, 1035–1041. DOI: 10.1038/nature08797 • <http://www.nature.com/nature/journal/v463/n7284/abs/nature08797.html>

Wan, Wenbin – Cao, L. – Kalionis, B. – Xia, S. – Tai, X. (2014): Applications of Induced Pluripotent Stem Cells in Studying the Neurodegenerative Diseases. *Stem Cells International*. DOI: 10.1155/2015/382530 • <http://www.hindawi.com/journals/sci/2015/382530/>

Xu, Xiao-Hong – Zhong, Zhong (2013): Disease Modeling and Drug Screening for Neurological Diseases Using Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Acta Pharmacologica Sinica*. 34, 6, 755–764. DOI: 10.1038/aps.2013.63 • <http://www.nature.com/aps/journal/v34/n6/full/aps201363a.html>

Yagi, Takuya – Ito, D. – Okada, Y. – Akamatsu, W. – Nihei, Y. – Yoshizaki, T. – Suzuki, N. (2011): Modeling Familial Alzheimer's Disease with Induced Pluripotent Stem Cells. *Human Molecular Genetics*. 20, 23, 4530–4539 DOI: 10.1093/hmg/ddr394 • <http://tinyurl.com/ht4r2c8>