

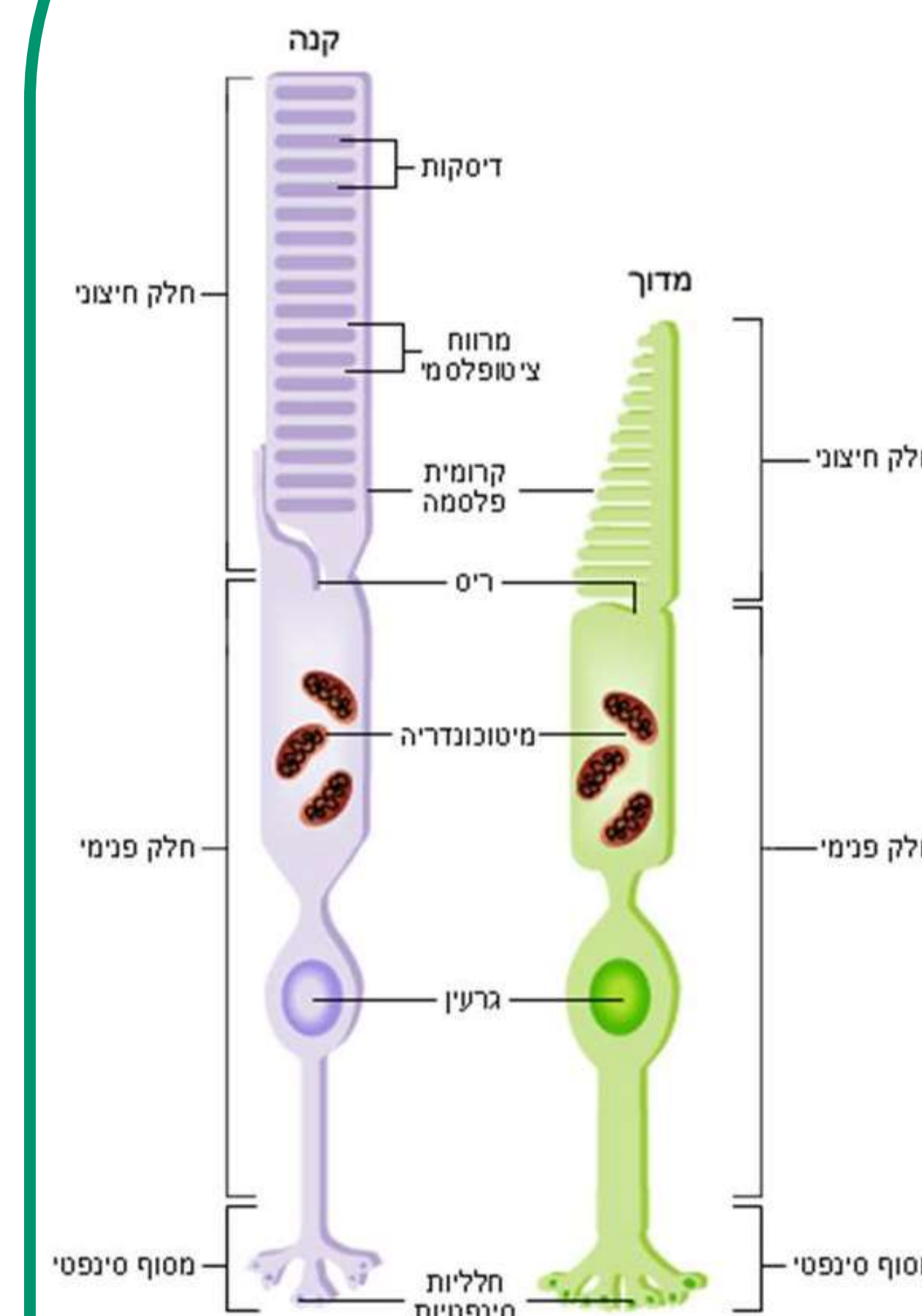


השפעות אטאלורן על מוטציות פסק שגורמות לרטיניטיס פיגמנטוזה

מבוא

רטיניטיס פיגמנטוזה (RP) הינה קבוצת מחלות רשתיות תורשתיות (IRDs) הנגרמות כתוצאה ממוטציות שונות בלמעלה מ-50 גנים. המוטציות מובילות לאובדן הדרגתי של הראייה ללא תרופה עד כה. כ-10-30% מכלל מקרי ה-IRD האנושיים נגרמים ממוטציות פסק, המפסיקות תרגום של חלבונים וגורמות לקיצורם. מתוך המוטציות האלו, חלק מופיעות בגן FAM161A (איור 2), שבא לידי ביטוי בעיקר ברשתית ומקודד לסיליה בפטורצפטורים (איור 1). בנוסף, הן הגורם השכיח ביותר ל-RP באוכלוסייה היהודית-ישראלית.

Translational read-through therapy ובפרט השימוש בתרופה אטאלורן, הוכחו כשיטות טיפול יעילות במספר מוטציות פסק על ידי השבת התרגום המלא. בנוסף, לאחר טיפול באטאלורן בתאים שמקורם בחולה, ניתן לשחזר לוקליזציה של FAM161A והחזרה של הסיליה (איור 1).



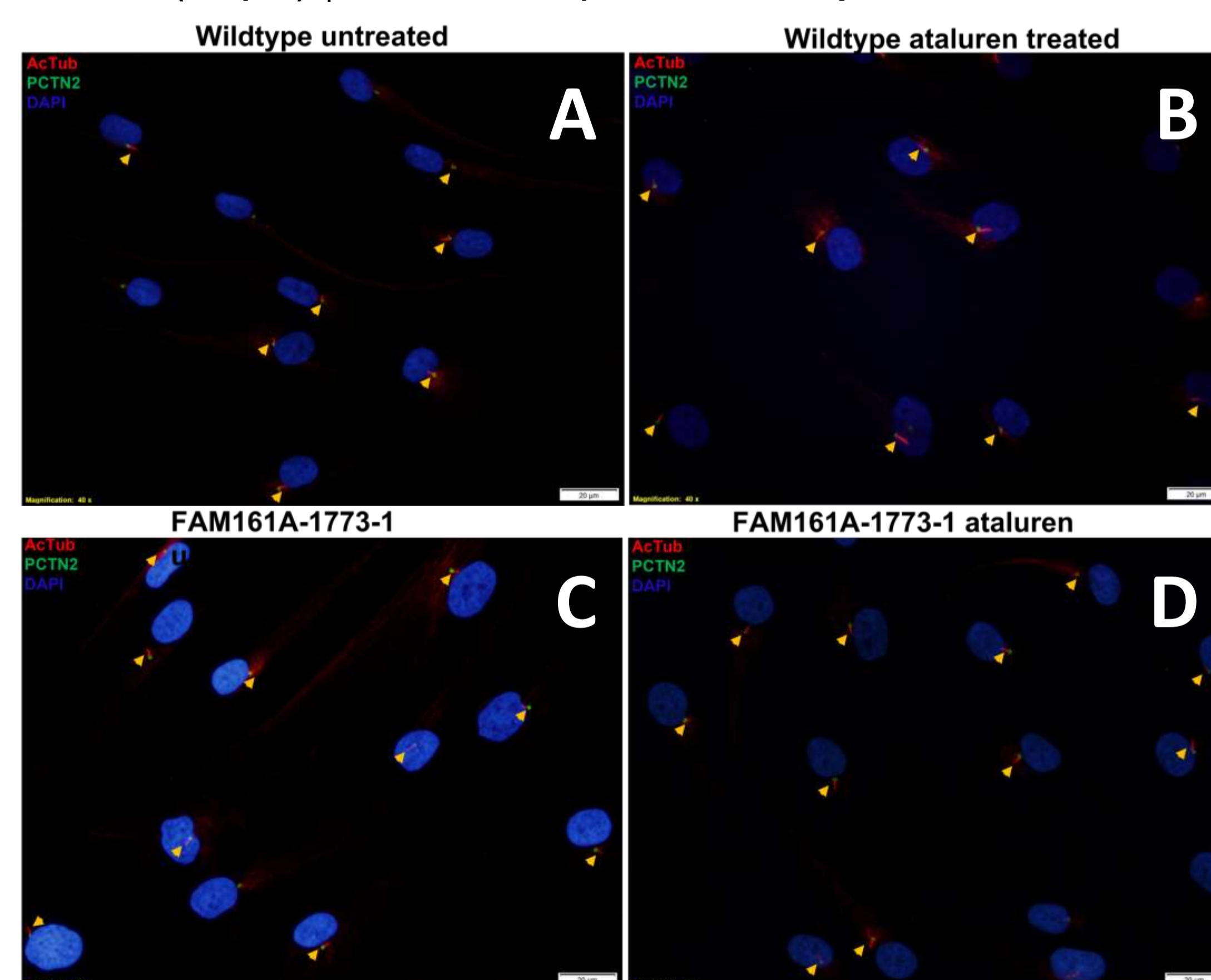
איור 1. סוגים שונים של הפטורצפטורים. קנים ומדוכים, ובהם הסיליה המחברת (ריס)

איור 2. ביטויים שונים של FAM161A הקיימים ברשתית. אינו מכיל אקסון 4. הגרסה FAM161A_005 הנדירה מכילה אקסון 4.



שיטות ותוצאות

על מנת להעריך את ההשפעה של אטאלורן על המוטציות הללו, נאספו ביופסיות עור ממוטפל בעל מוטציה הטרנזיגוטיות מורכבת בגן FAM161A - p.R523* ו-p.R584K. מכיוון שהגן מקודד לסיליה, הביטוי והשיקום של הסיליה נבדקו בפיברובלסטים שמקורם במטופל ובתאי בקרה. הנתונים נלקחו מתצלומים במיקרוסקופ של צביעות אימונופולואורסצנטיות (איור 3). השוואה בין אחוז התאים המטופלים והלא מטופלים ביחד, הראתה כי יש אחוז גבוה יותר של תאים עם סיליה שמקורם מהחולה בהשוואה לתאי הבר: 4498 תאים עם סיליה מתוך 4861 תאים בקבוצת הבקרה [92.53%] לעומת 5164 תאים מתוך 5448 תאים מהמטופל, $p < 0.057$ (איור 3, גרף 1). בנוסף, בוצעה השוואה של אחוז התאים בעלי הסיליה מתוך כמות התאים הכוללת בשני הניסויים: 86.14% ו-87.7% לעומת 96.31% ו-97.24%, $p < 0.0042$ (גרף 1). לאחר טיפול באטאלורן בתאי בר, חלה עלייה קטנה באחוז הסיליה, בעוד שבתאי המטופל, כאפקט של הטיפול באטאלורן, חלה ירידה קלה, $p < 0.086$ (גרף 1).



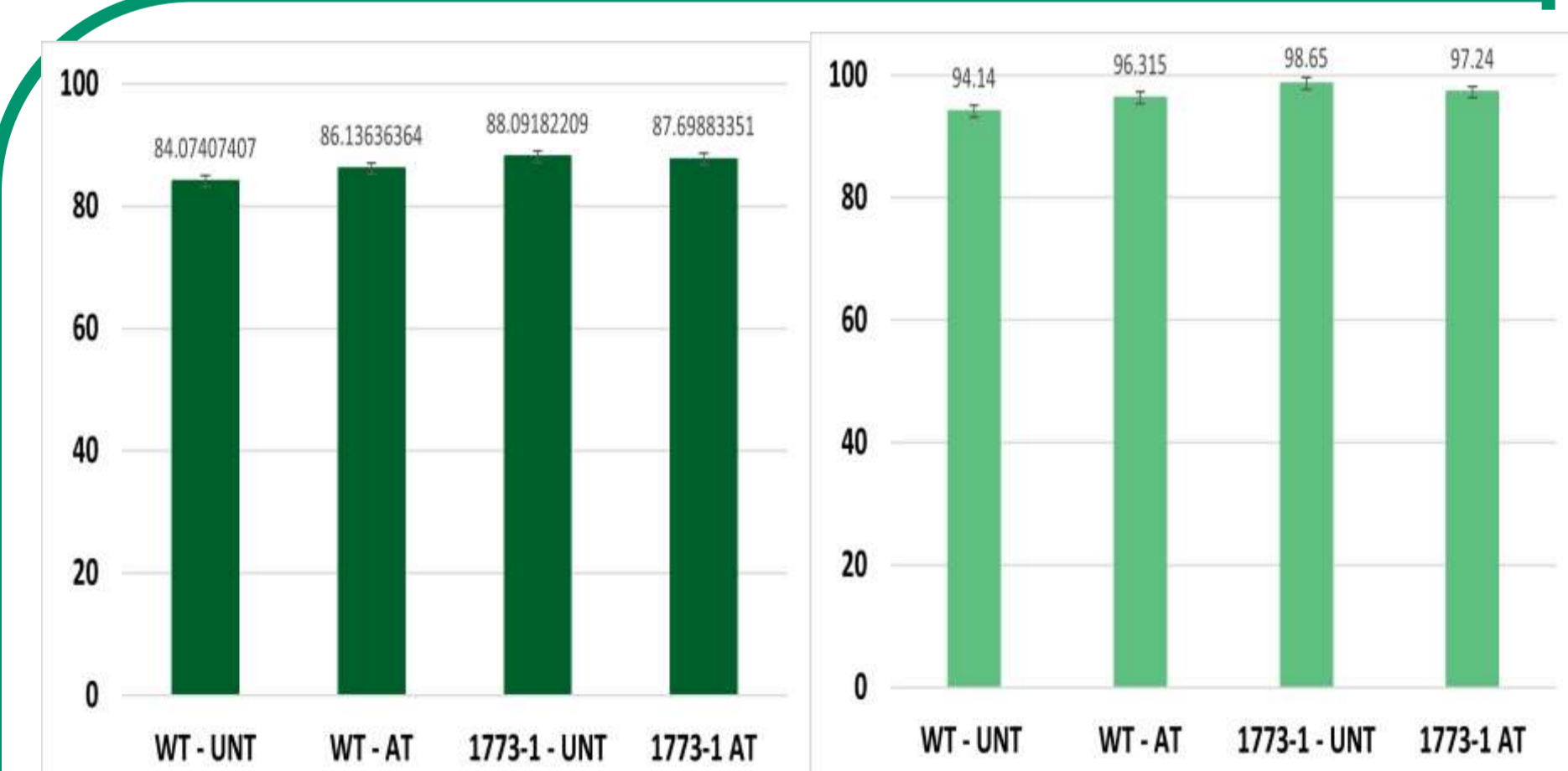
איור 3. השבת סיליה בתאי פיברובלסט של חולה FAM161A וזן הבר. צביעות אימונופולואורסצנטיות: (A) תאי בר לא מטופלים, (B) תאי בר שטופלו באטאלורן, (C) תאי חולה FAM161A לא מטופלים, (D) ותאי חולה שטופלו באטאלורן. אדום – סיליה, ירוק – גוף הבזאלי (אברון בתא הממוקם בבסיס כל ריס), כחול – גרעין התא. קנה המידה הוא 20 מיקרומטר.

מסקנות

מחקרים רבים מציגים את יעילות האטאלורן בתיקון מוטציות פסק. עם זאת, הממצאים הללו מראים שייצור הסיליה של החולה תקין. מאחר שלמטופל יש שתי מוטציות שונות בשני האללים ואחת היא splice site mutation, סיבה אפשרית לתוצאות היא המוטציה בנוקלאוטיד האחרון של אקסון 4 האחראי על ה-splicing של האקסון, דבר שעשוי לגרום לשינוי בהרכב החלבון. ככל הנראה, שילוב המוטציות מאפשר ייצור נמוך של חלבון FAM161A שמספיק ליצירת סיליה, אך לא מספיק כדי לשחזר את תפקודם ברשתית. עובדות אלו יכולות להסביר מדוע החולה בכל זאת סובל מ-RP.

חשיבות המחקר

מחקר זה מעלה אפשרות שבמקרים בהם יש יותר ממוטציה אחת בגן FAM161A, ואולי גם בגנים אחרים, ביטוי המחלה שונה ממוטציית פסק אחת. לאטלורן אין אותה השפעה על מקרים כאלה בניגוד לחולים הומוזיגוטים. תוצאות אלו עשויות להוביל לכיוון חדש של מחקר עבור חולים הסובלים ממוטציות פסק, ואף מוטציות אחרות בגן FAM161A או בגנים נוספים.



גרף 1: מספר התאים בעלי סיליה (באחוזים) כימות של תאי הסיליה בתאי חולה ובתאים בריאים, עם וללא הטיפול באטלורן. ירוק כהה- חזרה ראשונה, ירוק בהיר- חזרה שניה. (AT – Ataluren treated, UNT – untreated).

מתחרים

קאיה בר יוסף

ביה"ס

תיכון ליד האוניברסיטה,

ירושלים

מורה מלווה

גב' אורלי מצר כהנא

ד"ר יעל אברהם

מנחה

פרופ' דרור שרון,

האוניברסיטה העברית בירושלים

הנחיה מטעם התחרות

ד"ר אילנה כספי

