

Lydia Saari

PSEUDOXANTHOMA ELASTICUM -TAUDIN VAIKUTUKSET SILMÄNPOH- JASSA

Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunta
Kandidaatin tutkielma
Huhtikuu 2021

TIIVISTELMÄ

Lyydia Saari: Pseudoxanthoma elasticum -taudin vaikutukset silmänpohjassa
Kandidaatin tutkielma
Tampereen yliopisto
Bioteknologian ja biolääketieteen tekniikan tutkinto-ohjelma
Huhtikuu 2021

Verkkokalvo on silmänpohjassa oleva kerrosrakenne, joka on tärkeässä roolissa näköhavainnon synnyssä. Verkkokalvoa ylläpitää sen alla olevat pigmenttiepiteelisolut (RPE solut), jotka ovat kiinni Bruchin kalvossa. Ongelmat näissä rakenteissa näkyvät suoraan verkkokalvon rakenteessa ja toiminnassa, mikä taas johtaa näköaistin heikkenemiseen.

Pseudoxanthoma elasticum (PXE) on pehmytkudoksiin vaikuttava harvinainen geneettinen sairaus, jossa elastiinisäikeet kalsifikoituvat ja särkyvät. Kudokset, joissa taudin merkit näkyvät ovat iho, ääreisverenkierto ja silmänpohja. Silmänpohjassa PXE:n vaikutukset näkyvät repeäminä Bruchin kalvossa, joka on seurausta tämän kalsifikaatiosta. Bruchin kalvon rikkoutuminen vaikuttaa sen päällä olevaan RPE solukerrokseen. Nämä häiriöt silmänpohjassa johtavat verkkokalvon hajoamisjätteiden kertymiseen RPE solujen ja verkkokalvon uloimpien osien väliin. Tästä voi seurata esimerkiksi verkkokalvon ulompien osien ja pigmenttisolujen rappeumaa sekä suonikalvon uudisuonimuutoksia silmänpohjassa.

PXE on aineenvaihduntasairaus. Sen primääriset syyt löytyvät maksasta, mutta vaikutukset näkyvät muualla kehossa. Taudin taustalla on variantti *ABCC6* geenissä, jota ilmennetään kehossa eniten maksasoluissa. Geeni ilmentää MRP6 proteiinia, joka kuljettaa tutkimusten mukaan ATP:tä maksasoluista plasmaan. Normaalisissa tilanteissa plasmaan kuljetettu ATP muutetaan entsyymien avulla pyrofosfaatiksi (PPI), joka estää kalsifikaatiota pehmytkudoksissa. PXE-taudissa PPI:tä ei tuoteta tarpeeksi, koska ATP:n kuljetus plasmaan MRP6 proteiinin avulla on häiriintynyt.

Monet aspektit PXE taudinkuvassa ovat vielä tuntemattomia. Esimerkiksi MRP6 proteiinin kokonaisvaltainen toiminta, kuljetusmekanismi ja kaikki sen kuljettamat aineet ovat vielä tutkinnan alaisina. Samoin spesifisten hoitomuotojen kehittäminen PXE:lle on tulevaisuudessa suuri kehityksen ja tutkimuksen kohde. Hoitojen kehittämisessä on myös tärkeää tunnistaa variantin tyyppi ja patogeenisyyden taso, jotta voidaan tarjota potilaalle parasta mahdollista hoitoa. Tärkeän tutkimusalan taudille tarjoaa kantasolumallit, joiden avulla voidaan tutkia PXE:n vaikutusta ihmisessä, ilman eläinmalleja ja hoitojen kehittämisessä voidaan käyttää potilaan omia soluja.

Kandidaatintutkielman kirjallisuuskatsauksessa käsitellään PXE-taudin ominaispiirteitä sekä solu- että kudostasolla. Työssä myös tuodaan esiin tämän harvinaissairauden ongelmakohtia hoitomuotojen kehityksessä sekä ylipäätään taudin tutkimisessa. Tavoitteena on pyrkiä löytämään mahdollisia malleja, joilla tautia voidaan tutkia ja hoitomuotoja kehittää turvallisesti, sekä pohtia, mihin tutkimuksen kannattaa PXE:n kohdalla keskittyä seuraavaksi.

Avainsanat: Pseudoxanthoma elasticum, verkkokalvon pigmenttiepiteeli, Bruchin kalvo, verkkokalvo, pehmytkudokskalsifikaatio, harvinaissairaus, kantasolumallit

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck –ohjelmalla.

ALKUSANAT

Tämä kandidaatintutkielma on kirjallisuuskatsaus ja tehty osana Tampereen yliopiston lääketieteen ja terveysteknologian tiedekuntaan kandidaatin tutkintoa. Tutkielman aihe valikoitui oman mielenkiinnon mukaan kahdesta vaihtoehdosta.

Haluan kiittää Tampereen yliopiston Silmäryhmää, joka tarjosi mielenkiintoisen aiheen tutkielmaleni sekä mahdollisuuden syventää tätä projektityön muodossa tulevaisuudessa. Suuret kiitokset osoitan myös Heli Skottmanille, joka auttoi minua työssäni ja vastasi nopeasti mieltä painaviin kysymyksiini. Kiitokset kuuluvat myös läheisilleni, jotka kannustivat ja motivoivat työn kirjoituksessa sekä ystävilleni, jotka tarjosivat tukea ja auttoivat eteen tulleissa ongelmissa.

Tampereella, 27.4.2021

Lyydia Saari

SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO	4
2. PSEUDOXANTHOMA ELASTICUM (PXE)	6
2.1 PXE silmänpohjassa	6
2.1.1 Verkkokalvon pigmenttiepiteeli (RPE).....	7
2.1.2 Bruchin kalvo.....	9
3. VARIAATIOT GEENISSÄ JA PROTEIINISSA.....	10
3.1 <i>ABCC6</i> geeni	10
3.2 MRP6 proteiini.....	11
4. HOITOKEINOT	13
5. KANTASOLUMALLIT	14
6. YHTEENVETO	16
7. LÄHTEET	18

1. JOHDANTO

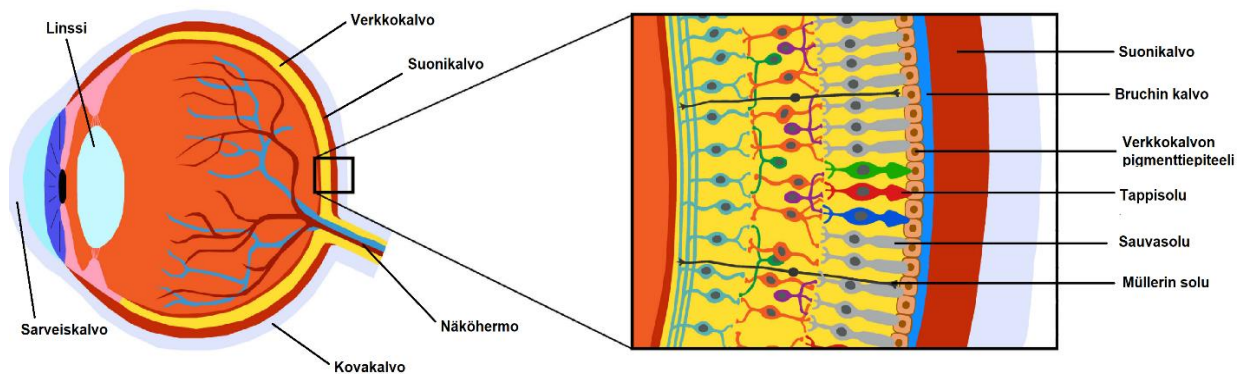
Harvinaissairaudeksi luetaan Euroopassa tauti, joka vaikuttaa alle viiteen ihmiseen kymmenestä-tuhannesta kansalaisesta (5 / 10 000) (<https://www.eurordis.org/content/what-rare-disease> 8.2.2021). Määritelmä harvinaissairaudelle on kuitenkin monitahoinen ja vaihteleekin maittain, mutta yhteistä näille taudeille usein on krooninen ja vaarallinen luonne sekä väestön pieni sairastavuusprosentti. Määritettyjä harvinaissairauksia on tunnistettu hieman yli 6 000, mutta harvinaisia tautteja on arvioitu olevan jopa yli 8 000. (<https://www.tays.fi/fi-fi/Palvelut/Harvinaissairaudet> 8.2.2021) Tautien harvinainen luonne tuo ongelmia niiden hoidossa sekä tunnistamisessa, koska sairaudesta ei välttämättä löydy paljon tietoa ja referenssipotilaita on niukasti. Usein ongelmaksi kehittyy juuri diagnoosin saaminen sekä asiantuntijan löytäminen. Oireet voivat olla vaikeasti tunnistettavissa, koska yhden taudin sisäinen vaihtelevuus potilaiden välillä voi olla suurta. Harvinaisuutensa vuoksi taudeista on vähän lääketieteellistä tuntemusta, niukasti tietoutta ja niiden tutkimus on hyvin rajallista. Itse potilaan lisäksi tauti myös vaikuttaa huomattavasti tämän lähipiiriin. (Nguengang ym. 2020)

Harvinaissairauksista arviolta noin 80 % on geneettisiä sairauksia. On tärkeää ymmärtää genomien vaikutus yksilöiden välillä ja tästä johtuva vaihtelevuus, jotta voidaan paremmin ymmärtää tautien prosesseja, jotka taas tarjoavat pohjan hoitojen kehitykselle. Genetiikassa referenssi sekvenssistä poikkeavia genomien muutoksia kutsutaan variantiksi ja nämä voivat vaikuttaa yksilöön monin tavoin tai olla vaikuttamatta. Tässä tutkielmassa käsiteltävän PXE-taudin kohdalla oleelliset mutaatiotyypit ovat yhden nukleotidin mutaatiot, indelit sekä jotkin rakenteelliset variantit. Yhden nukleotidin mutaatiot eli pistemutaatiot aiheuttavat yhden emäsparin eron DNA-ketjussa referenssiin nähden. Indelit puolestaan ovat alle 1 000 emäsparin liittymisiä (insertio) tai poistumisia (deleetio) DNA-ketjusta, kun taas rakenteelliset variantit ovat yli 1 000 emäsparin muutoksia sekvenssissä. (Jackson ym. 2020)

Jos mutaatio ilmenee sukusoluissa, on hyvin mahdollista, että tauti periytyy jälkeläisille. Jälkeläinen perii geeneistä kaksi versiota, toinen isältä ja toinen äidiltä, ja näitä eri muotoja samasta geenistä kutsutaan alleeleiksi. Vastinkromosomien alleelit määräävät yhdessä geenin ilmentävän ominaisuuden ilmentymisen ja alleelit voivat olla perimässä joko homotsygoottisia (samaperintäisiä) tai heterotsygoottisia (eriperintäisiä). Jotkin alleelit ovat dominoivia eli ne ilmentävät ominaisuutta jo, jos vain toinen alleeli on tämän tyylinen eli yksilön perimä voi olla hetero- tai homotsygoottinen. Toiset ovat taas resessiivisiä eli ominaisuuden ilmentyminen vaatii homotsygoottisen perimän, jossa on kaksi kappaletta samaa alleelia. (Happonen ym. 2012, s. 95 - 101)

Koska tässä kandidaatin tutkielmassa keskitytään erityisesti PXE:n vaikutukseen silmän rakenteeseen ja toimintaan, on hyvä tietää silmän perusrakenne ja sen toiminta. Kuvasta 1 voidaan nähdä vasemmalla silmän tärkeimmät ja tässä tutkielmassa oleelliset rakenteet ja oikealla tarkempi poikkileikkaus verkkokalvosta eli retinasta. Valon osuessa silmään ensimmäisen taittumispinnan tarjoaa sarveiskalvo, josta säteet ohjautuvat linssiin, jonka kuperuutta säätelällä saadaan haluttu kuva rakennettua verkkokalvolle oikeaan kohtaan. Verkkokalvolla olevat aistinsolut, sauva- ja tappisolut, lähettävät ärsykkeestä tuleen viestin eteenpäin muita hermosoluja pitkin näköhermon kautta aivoihin, jossa saatu havainto tulkitaan kuvana. Sauvasoluja on ihmisen verkkokalvolla paljon enemmän, kuin tappisoluja ja ne toimivat hämärässä, kun taas tappisolut kirkkaassa valossa ja vain nämä pystyvät muodostamaan värikuvan. (Happonen ym. 2014, s. 118 - 121)

PXE:n vaikutukset kohdistuvat verkkokalvon alla oleviin Bruchin kalvoon ja verkkokalvon pigmenttiepiteeliin (RPE) ja täten verkkokalvon rakenteeseen ja toimintaan. Kandidaatin tutkielmassa käydään läpi harvinaista periytyvää PXE tautia ja sen vaikutusta silmänpohjaan, etenkin Bruchin kalvoon ja RPE soluihin. Lopuksi vielä käsitellään kantasolumalleja, joiden avulla voidaan tutkia kyseistä tautia ja kehittää mahdollisia hoitomuotoja.



Kuva 1 Silmän ja verkkokalvon rakenne, muokattu lähteestä (Murphy ym. 2020).

2. PSEUDOXANTHOMA ELASTICUM (PXE)

PXE on hyvin harvinainen ihon, ääreisverenkierron verisuonien ja silmänpohjan aineenvaihduntasairaus. Tauti on autosomeissa resessiivisesti periytyvä geneettinen sairaus, jonka aiheuttaa mutaatio *ABCC6* geenissä. Virhe saa aikaiseksi solun ulkopuolisen pyrofosfaatin (PPi) pitoisuuden merkittävän alenemisen, joka johtaa puolestaan pehmytkudos kalsifikaatioon. Varsinkin elastinisaikkeet pehmytkudoksissa kalsifikoituvat ja tuhoutuvat. Suomessa 29 potilasta on saanut diagnoosin kyseiselle sairaudelle, mutta PXE:n vallitsevuuden oletetaan olevan huomattavasti suurempi, koska väestön geeniselvityksessä *ABCC6* geenin mutaatiota tavattiin odotettua enemmän. Sairauden diagnosointi on haastavaa sen harvinaisuuden ja laajojen sekä vaihtelevien oireiden vuoksi ja lopullinen diagnosointi saadaan varmistettua geenitestillä. (Peltari ym. 2019)

Taudissa keskeisenä piirteenä on säätelymekanismien pettäessä pehmytkudoksiin muodostuvat hydroksiapatiittikiteet, jotka muodostuvat kalsiumin ja fosfaatin reagoitessa keskenään. PPi estää näiden kalsifikaatiokiteiden muodostumista sitoutumalla hydroksiapatiittiin. PXE:tä sairastavalla henkilöllä PPi:n pitoisuus plasmassa voi olla jopa 40 % terveiden henkilöiden pitoisuudesta. *ABCC6* geenin tuottama proteiini vaikuttaa maksassa, joten primaarinen syy löytyy sieltä, mutta vaikutukset näkyvät ympäri kehon pehmytkudoksia, erityisesti kaulan iholla, pienissä valtimoissa ja silmänpohjassa. Iholle muodostuu ihottuman kaltaista mukulakivikuviota, joka on seurausta verinahan elastinisaikkeiden särkyemisestä. Pienten valtimoiden keskikerros eli media on kalsifikaation kohteena, josta seuraa varhaisella iällä kehittyvä ääreisverenkierron kovettumatauti (Peripheral arterial disease, PAD). Silmänpohjassa kalsifikaatio keskittyy Bruchin kalvoon, mikä estää hapen ja ravinteiden kulun verkkokalvolle, mikä johtaa heikentyneeseen näköön tai jopa sokeuteen. Pehmytkuduskalsifikaation lisäksi taudissa joidenkin solujen toiminta ja ilmeneminen muuttuu, esimerkiksi maksasolut ikääntyvät nopeammin, ihon fibroblastien toiminta häiriintyy tai endoteelisolujen sisäkerroksen eli intiman ylläpitävä signaalintireitti muuttuu yliaktiiviseksi, josta seuraa valtimoiden ahtautuminen. Tautiin ei ole löydetty vielä parantavaa hoitoa, mutta hoitomuotoja on testattu eläinmalleilla ja kokeellinen hoitotutkimus on käynnistymässä myös ihmisillä. Mahdollisia hoito- ja ehkäisymuotoja ovat esimerkiksi PPi korvaushoidot tai kirurgiset operaatiot. (Peltari ym. 2019)

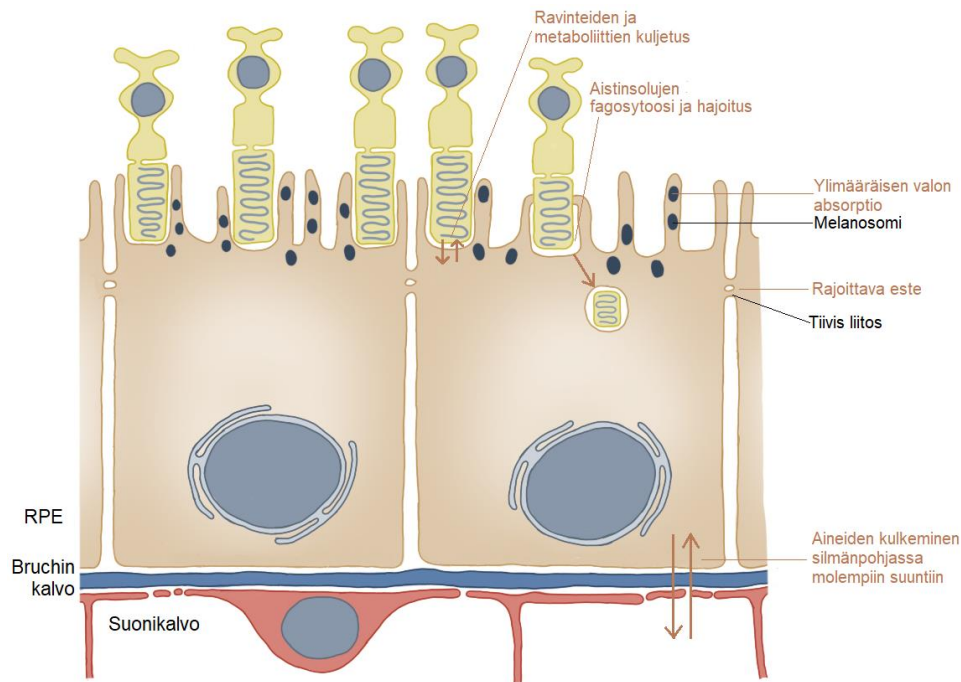
2.1 PXE silmänpohjassa

Vaikka PXE:n yleisin ja näkyvin oire on iholla näkyvä mukulakivikuvio, suurimalle osalle potilaista kehittyy myös silmäkomplikaatioita. Diagnoosi saadaan tällöin silmänpohjan tutkimuksesta. Tutkimuksen tuloksena silmänpohjassa voidaan nähdä esimerkiksi angioidijuosteita, retikulaarisia pseudodruseneita, verkkokalvon ulompien osien ja pigmenttisolujen (RPE solujen) rappeumaa sekä

suonikalvon uudissuonimuutoksia. Kaikki edellä mainitut tekijät johtavat potilaan näön huononemiseen ja lopulta sokeuteen, jos tauti on hoitamattomana. Keskeinen syy silmänpohjan muutoksille on Bruchin kalvon kalsifikaatio, joka estää hapen ja ravinteiden kulkeutumisen tämän lävitse verkkokalvolle. Hapen puute aiheuttaa verisuonten endoteelikasvutekijän (VEGF) vasteen nousun, joka saa aikaan oireita, jotka muistuttavat kosteaa ikärappeumaa, tautia, joka vaikuttaa tarkan näkemisen alueeseen ja näön nopeaan heikkenemiseen. Niin kuin ikärappeumassakin, hoitomuotona voidaan käyttää VEGF:n estäjä pistoksia silmän lasiaiseen, joka vähentää suonikalvon uudissuonimuodostumista ja siitä johtuvaa näön menetystä. (Pelttari ym. 2019)

2.2.1 Verkkokalvon pigmenttiepiteeli (RPE)

RPE sijaitsee verkkokalvon pohjassa ja muodostuu yhdestä kerroksesta RPE-soluja. Nämä ovat polarisoituneita ja niiden apikaalipuoli osoittaa aistinsoluihin ja silmän sisäosaa kohden. RPE-solujen ja aistinsolujen uloimpien osien välillä on myös rakenteellisia interaktioita. Basolateraalipuoli taas on tiukasti kiinni Bruchin kalvossa. Solujen poikkileikkauksesta nähdään, että basaalilla puolella ei ole melaniinijyväsia eli melanosomeja, mutta apikaalisella puolella soluista lähtee ulokkeita, jotka ovat vastuussa edellä mainituista rakenteellisista interaktioista ja niistä voidaan löytää melanosomeja (kuva 2). RPE soluilla on monia tärkeitä tehtäviä silmänpohjassa, niin kuin kuvasta 2 voidaan nähdä. Nämä solut muodostavat rajoittavan esteen, joka sallii lävitseen vain tarvittavat molekyylit, jotta verkkokalvon uloimpien osien ympäristö pysyy optimaalisena. RPE solut huolehtivat myös, että aistinsolut saavat tarvitsemansa ravinteet, jotta näiden valoherkät ulommaiset osat pystyvät toimimaan oikein. Apikaalipuolen pigmenttejä sisältävät ulokkeet huolehtivat ylimääräisen valon absorptiosta, mikä suojelee verkkokalvoa liiallisen valon aiheuttamilta vaurioilta. RPE siirtää myös ioneja, vettä ja metabolian lopputuotteita verkkokalvolta suonikalvolle Bruchin kalvon kautta. RPE solut omaavat myös tärkeän roolin silmän fysiologian kannalta muodostamalla esteen, jota ylläpitää solujen väliset tiukat sidokset, jotka estävät epäspesifisen aineiden liikkumisen solujen välistä suonikalvon ja verkkokalvon kesken. Solut myös fagosytoivat ja hajottavat aistinsolujen uloimpia osia ja toimivat yleisesti verkkokalvon jätteen poistajina ja tarpeen tullen eksosytoivat tavaraa suonikalvolle. Yksi ihmisen RPE-solu huolehtii noin 20-30 aistinsolun uloimpien osien tarpeista ja kunnosta ja ne tuottavat myös lukuisia kasvutekijöitä. (Bhutto & Luty 2012)

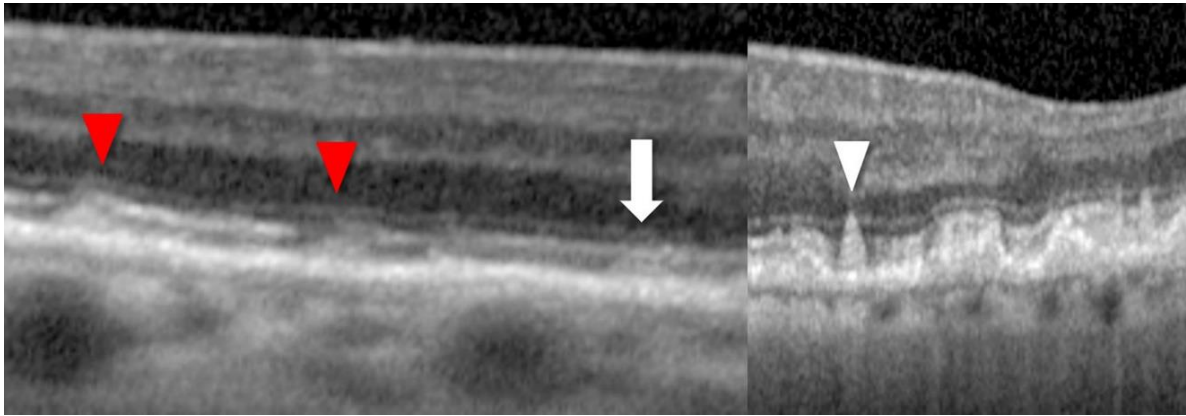


Kuva 2 RPE-solujen rakenne yksinkertaistettuna (mustalla) ja tehtävät (ruskealla). Muokattu lähteestä (Lehmann ym. 2014).

Kun Bruchin kalvo kalsifikoituu, sen toiminta häiriintyy, mikä johtaa RPE:n vajaatoimintaan. Yksi seuraus tästä vajaatoiminnasta on retikulaariset pseudodrusenit (RPD), jotka rakentuvat subretinaalisista rakenteista RPE solujen ja ellipsoidikerroksen, eli fotoreseptorien sisempien segmenttien uloimpien osien, välille. Subretinaaliset rakenteet ovat monimuotoisia aineita ja molekyyliä, kuten esimerkiksi silmänpohjassa syntyvät jätteet, vitronektiini, esteröimätön kolesteroli, apolipoproteiini E ja opsiini, joita ei voida enää normaalilla tavalla poistaa verkkokalvosta. RPD alueita muodostuu yleensä kohtiin, joissa on runsaasti saunasoluja ja vaikuttavatkin tämän vuoksi huomattavasti hämäränäköön. (Wightman & Guymer 2019)

Kuvantamismenetelmästä riippuen, RPD:t voidaan nähdä, joko yksitaisinä vaurioina tai valkokelertävänä verkkomaisena kuviona silmänpohjassa. Myös taudin etenemisaste vaikuttaa tähän. Silmän valokerroskuvauksessa (Optical Coherence Tomography, OCT) voidaan hyvin erottaa taudin neljä eri vaihetta, joista kolme on nähtävissä kuvassa 3. Ensimmäisessä vaiheessa ellipsoidikerros on hieman paksumpi ja kerrosten selkeät rajat ovat hävinneet. Toisessa vaiheessa RPE:n ja ellipsoidikerroksen välillä on havaittavissa pieniä kohoumia, kun taas kolmannessa nämä kohoumat ovat muuttuneet kartiomaisiksi ja ovat lävistäneet ellipsoidikerroksen. Neljännessä vaiheessa subretinaaliset rakenteet ja materiaalit ovat päässeet jo verkkokalvon sisempien kerroksien lävitse.

RPD:t vaikuttavat myös RPE-solujen morfologiaan siten, että näiden on todettu olevan epäsäännöllisiä ja niissä on tavattu hypertrofiaa eli solun rakenteelliset osat ovat lisääntyneet, joka on johtanut solun koon kasvamiseen. (Wightman & Guymer 2019)



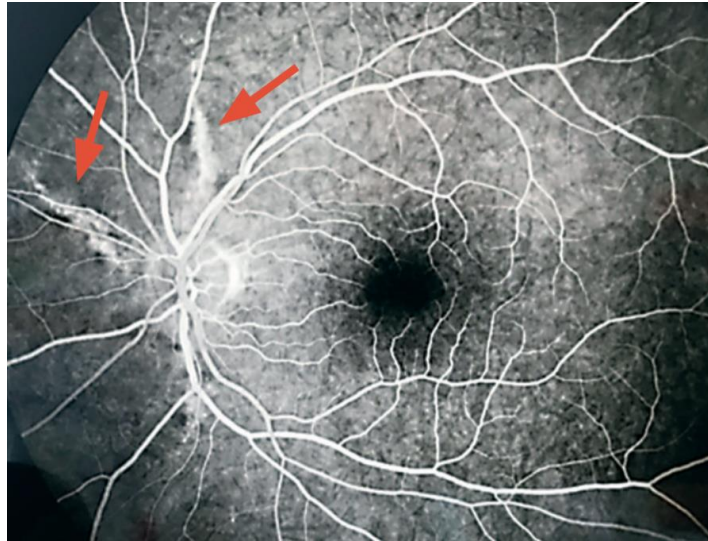
Kuva 3 Verkkokalvon valokerroskuvauksella (OCT) otettu kuva, josta nähdään RDP:n 1. (valkoinen nuoli), 2. (punainen kolmio) ja 3. vaiheet (valkoinen kolmio). Muokattu lähteestä (Wightman & Guymer 2019).

2.2.2 Bruchin kalvo

Bruchin kalvo on noin 2 – 4 μm ohut kalvo, joka sijaitsee verkkokalvon alla, tarkemmin sanottuna RPE solujen ja suonikalvon välissä. Kalvo luetaan soluväliaineeksi ja se sisältää paljon elastinisäikeitä ja kollageenia. Sen päätehtäviä ovat säädellä RPE solujen ja suonikalvon välistä molekyyli liikennettä molempiin suuntiin, antaa fysikaalista tukea RPE soluille ja tarjota niille pinta, jossa ne voivat liikkua ja erilaistua alkion kehityksen aikana. Kalvon tehtävänä on myös estää suonikalvon ja verkkokalvon solujen liikkumista näille väärään paikkaan. Bruchin kalvon läpäisevyys on pääsoin passiivista diffuusiota, johon vaikuttaa kalvon molekulaarinen koostumus, hydrostaattinen paine sen molemmilla puolilla ja tiettyjen biomolekyylien ja orgaanisten ionien konsentraatio. Koostumukseen vaikuttavat myös monet muut tekijä, kuten ikä tai sijainti silmässä, ja muutokset tässä tai rakenteessa vaikuttavat suoraan kalvon diffuusio-ominaisuuksiin, joka taas vaikuttaa RPE solujen toimintaan ja verkkokalvon uloimpiin osiin. (Bhutto & Luty 2012)

Koska Bruchin kalvo on hyvin elastini rikasta, PXE:n aiheuttama kalsifikaatio kohdistuu juuri näihin säikeisiin ja tuhoaa ne. Rakenteen särkyminen johtaa lopulta angioidijuosteiden ilmaantumiseen. Nämä juosteet muodostuvat näköhermon päätelevyn ympärille, niin kuin kuvasta 4 voidaan nähdä. Juosteet ovat Bruchin kalvoon muodostuneita repeämiä elastini ja kollageeni rikkaille alueilla, jossa kalvon rakenne on heikentynyt kalsifikaation vuoksi. Kalvon rakojen kohdalla tapahtuu uudisuonimuodostumista, josta seuraa taas tämän paikallista paksuuntumista repeämien kohdalla. Juosteiden paikallinen uudisuonimuodostus aiheuttaa näön heikkenemistä ja yhdessä RPD

kanssa RPE solujen vahingoittumista, joka taas johtaa verkkokalvon ulompien osien rappeutumiseen. (Takkar ym. 2020)



Kuva 4 Silmänpohjan autofluoresenssikuva, jossa nuolet osoittavat angioidijuosteita näköhermon päätelevyn ympärillä. Muokattu lähteestä (Pelttari ym. 2019).

3. VARIATIOT GEENISSÄ JA PROTEINIINISSA

3.1 *ABCC6* geeni

ABCC6 geenin (ATP binding cassette subfamily C 6) mutaatiot ovat tunnetusti ainoita, jotka johtavat PXE tautiin ja niitä tunnetaan yli 300 erilaista. Geeniä ilmennetään pääasiassa maksassa eniten ja toiseksi eniten munuaisissa. Monet kudokset ilmentävät hyvin vähän, jos ollenkaan *ABCC6* geeniä ja tämä johtuu kudosspesifisestä hiljentämisestä DNA:n metylaatiolla. PXE:ssä potilaan genotyypin on oltava homotsygoottinen eli molemmissa alleeleissa on oltava jokin variaatio, joka estää geenin ja tämän tuottaman proteiinin normaalin toiminnan. Heterotsygoottinen henkilö voi olla kokonaan oireeton taudinkantaja tai hänellä voi ilmetä lievempiä oireita. Mutaatioiden tunnistaminen on tärkeää potilaan diagnoosin ja hoidon kannalta. (Pelttari ym. 2019)

ABCC6 geenillä on myös kaksi pseudogeeniä ja kaikki kolme ovat hyvin samankaltaisia homologisesti. Tämä vaikeuttaa pelkkien *ABCC6*:n variaatioiden detektiota huomattavasti. Pseudogeenit ovat kuitenkin *ABCC6* lyhyempiä ja pienempiä ja oikeiden alukkeiden avulla saadaan detektoitua halutut variantit. (Verschuere ym. 2020)

Yli puolet tunnetuista varianteista ovat missense-mutaatioita. Missense on pistemutaatio, joka muuttaa kodonia siten, että se koodaa toista aminohappoa, kuin alkuperäinen kodoni olisi koodannut. Tästä syystä näiden vaikutus on vaikeinten ennustettavissa. Verschuere ym. tutkivat Sherlockmenetelmällä yhteensä 286 missense-mutaatiota, joista 15 olivat uusia ja täten niitä ei löytynyt tietokannoista, joihin tutkimuksen tuloksia verrattiin. 59 % tutkituista varianteista osui luokkaan, joiden merkitys oli epävarma taudin kannalta, ja 35 % taas olivat joko patogeenisiä tai todennäköisesti patogeenisiä. Loput variantit luokiteltiin joko hyvälaatuisiksi tai todennäköisesti hyvälaatuisiksi. Tietokantojen välillä kyseinen luokittelu kuitenkin vaihtelee, mikä voi johtua erilaisista luokittelu perusteista tai pienestä potilasmäärästä ja täten tiedon vähäisestä määrästä. Luokittelu onkin siis hyvä katsoa dynaamiseksi ja sitä tulisi jatkuvasti muokata uusimman tiedon valossa, niin kuin tutkimuksessakin painotettiin. (Verschuere ym. 2020)

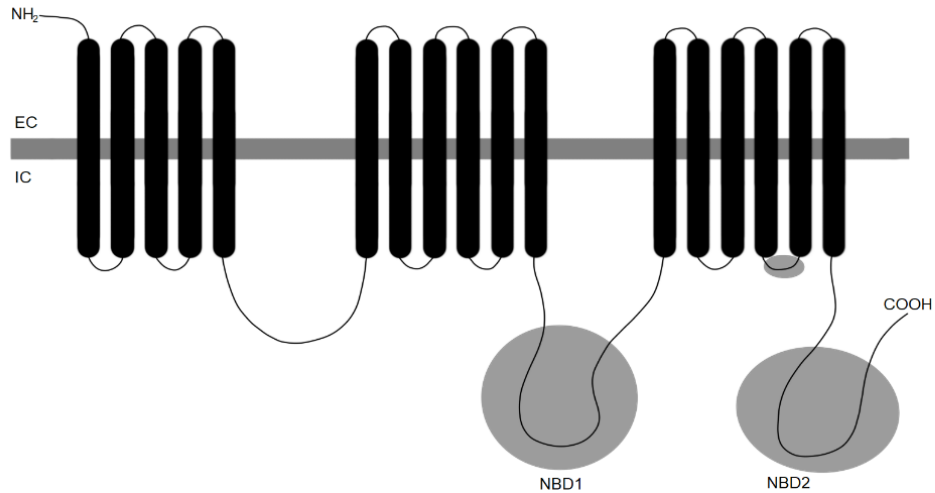
Taudin primäärinen syy on siis maksassa, mutta vauriota löytyy pehmytkudoksista ympäri kehoa, mikä viittaa taudin olevan aineenvaihduntasairaus. Kauffenstein ym. havaitsivat poistogeenisillä hiirimalleilla (*ABCC6*^{-/-}), että maksan geenien ilmentymisen lisäksi muutoksia todettiin myös valtimoiden geneeissä ja niiden ilmentymisessä. Tämä voi olla seurausta *ABCC6* tuottaman proteiinin transkriptionaalisista vaikutuksista muihin kudoksiin. Normaaliin hiirten vanhentuuessa todettiin myös neljän geenin lisääntyntä ilmentämistä, kun taas *ABCC6*^{-/-} hiirissä tätä ei havaittu. Vaurio *ABCC6* geenissä voi siis mahdollisesti johtaa kyseisten geenien ilmentämisen laskuun. Patofysiologia seurauksia ei vielä tiedetä, mutta yksi kyseisistä geneistä koodaa PPI:n valmistuksessa merkittävässä roolissa olevaa entsyymiä, ektonukleotidipyrofosfataasi fosfodiesteriäsi 1 (ENPP1). (Kauffenstein ym. 2018)

3.2 MRP6 proteiini

ABCC6 geenin tuotteena syntyy MRP6 kuljettajaproteiinia (multidrug resistance-associated protein 6). Se sijoittuu solukalvolle, mutta proteiinin toiminta sekä sen kuljettamat aineet eivät ole vielä täysin tiedossa. Yksi MRP6:n kuljettamista aineista solun sisältä ulos on kuitenkin adenosiniitriposfaatti (ATP). Edellä mainittu ENPP1 entsyymi pilkkoo suuren osan maksassa muodostuneesta ja MRP6 ulos kuljettamasta ATP:stä adenosiniinimonofosfaatiksi (AMP) sekä PPI:ksi. PXE potilailla variantti *ABCC6* geenissä voi vaikuttaa proteiinin biosynteesiin, sen laskostuminen muuttuu sekä liukoisuus pienenee. Nämä kaikki vaikuttavat taas proteiinin sijoittumiseen solussa, sen aineiden kuljetus kapasiteettiin ja kykyyn toimia oikein. Vain noin 10 % plasman PPI pitoisuudesta on MRP6 ja ENPP1 riippumatonta, joten geeni varianttien takia PPI:n pitoisuus plasmassa romahtaa huomattavasti. (Pelttari ym. 2019)

Rakenteeltaan MRP6 muistuttaa sen proteiiniperheen perusrakennetta eli se omaa kaksi nukleotideja sitovaa domeenia (ABC domeenit) ja kaksi transmembraanista domeenia. Näiden lisäksi pro-

teiinilla on vielä N-terminuksessa kaksi lisädomeenia, transmembraaninen ja solun sisäinen domeeni (kuva 5). Näiden lisärakenteiden vuoksi MRP6 luetaan yhdeksi ABCC-proteiiniperheen pitkistä muodoista. MRP6 eroaa myös perheen jäsenistään aineenkuljetus nopeutensa vuoksi, joka on tutkimusten mukaan huomattavasti hitaampi. (Váradi ym. 2011)



Kuva 5 MRP6:n rakenne solukalvolla yksinkertaistettuna. Harmaalla pohjalla olevat kohdat kuvaavat ketjun osia, joissa variantit usein esiintyvät. EC = soluvälitila, IC = solun sisäinen tila NBD = nukleotideja sitova domeeni. Kuva muokattu lähteestä (Verschuere ym. 2020).

Kuten edellä mainittiin, MRP6 kuljettamat aineet ja toiminta on vielä kovan tutkimuksen alaisena. Eräs aine, johon MRP6 proteiinin epäillään liittyvän, on K-vitamiini. Eräessä artikkelissa, tätä käsiteltiin hiirimalleilla, jossa normaaleiden hiirien tiettyjen K-vitamiini muotojen pitoisuus plasmassa oli paljon korkeampi, kuin *ABCC6*^{-/-} -hiirillä. Tämä tulkittiin, että MRP6 on jollain tavalla yhteydessä K-vitamiinin kuljetukseen, absorptioon tai metaboliaan. Mineralisaation ja K-vitamiinin välillä ei kuitenkaan havaittu mitään yhteyttä, mutta alhaisia K-vitamiini tasoja plasmassa voidaan mahdollisesti käyttää tulevaisuudessa hyväksi PXE:n diagnosointiin, kun saadaan varmempaa tietoa K-vitamiinin ja MRP6 yhteydestä. (Váradi ym. 2011) Kauffenstein ym. havaitsivat, että maksa on yksi elimistön suurimmista P*Pi*:n ja puriinien tuottajista koko keholle ja näiden vapautuminen maksasta on MRP6 riippuvainen tapahtuma. Samaisessa tutkimuksessa huomattiin myös, että MRP6:n toiminnan laskulla on vaikutusta verisuonien puriinimetaboliaan valtimoiden muuttuneen geenien ilmentämisen, liukoisten nukleotidaasien aktiivisuuden ja kiertävien nukleotidien tasojen välityksellä. Tämä puolestaan avaa ovia taudin patogeneisyyden tulkintaan sekä hoitomuotojen kehitykseen. (Kauffenstein ym. 2018)

4. HOITOKEINOT

PXE:n hoitamiseen ei ole suoranaisia keinoja, mutta sen oireita voidaan lievittää muutamain tavoin. Verisuonten osalta PXE on vaikeasti hoidettavissa. Esimerkiksi tromboosi lääkitys voi tapauskohtaisesti toimia, mutta PXE potilailla on isompi riski ruuansulatuskanavan verenvuotoon pitkäaikaisen käytön seurauksena. Tämä johtuu ruuansulatuskanavan limakalvojen verisuonten haurastumisesta. (Pelttari ym. 2019) Väärämäki ym. (2019) raportin tapauksessa iskemiaa PXE potilaan raajassa hoidettiin myös operaatiolla, jossa poistettiin tukkeumia raajan verisuonista. Tällaiset kirurgiset hoidot ovat kuitenkin harvinaisia. Kyseiselle potilaalle annettiin myös suun kautta Na_2PPi , joko jauhetussa muodossa sekoitettuna veteen tai kapselissa. Hoito aloitettiin kaksi viikkoa ennen potilaan operaatiota ja tarkoituksena oli estää verisuonten uudelleen tukkeutumista sekä PPI pitoisuuden nostaminen plasmassa. Kirurginen operaatio ja parantuminen sujuivat komplikaatiotta ja PPI antaminen suullisesti nosti plasman PPI pitoisuutta, ja sivuvaikutukset olivat mitättömiä vuoden seurannan jälkeen. PPI korvaushoitoja on tutkittu hiirimalleilla enemmän ja näissä ei ole huomattu merkittäviä muutoksia luuston massassa tai rakenteessa, mikä olisi hyvin mahdollista, koska liian korkea PPI pitoisuus aiheuttaa luukatoa estämällä luiden kalsifikaatiota (Pelttari ym. 2019). Ihmisille korvaushoitoa ei ole vielä päästy kunnolla kliinisesti tutkimaan ja hyöty-haittasuhde onkin vielä epäselvä (Väärämäki ym. 2019). Koska PPI:n määrä plasmassa on alentunut PXE-taudissa, PPI korvaushoidot ovatkin yksi tärkeimmistä tutkimuskohteista taudin hoitamiseksi. Silmänpohjassa olevia oireita on hoidettu samalla tavalla, kuin kosteaa ikärappeumaa eli VEGF pistoksilla. Tämä hidastaa ja vähentää verkkokalvon hapenpuutteesta johtuvaa uudissuonimuodostusta ja täten myös näön menetystä. Ihossa näkyvät muutokset eivät ole vaarallisia, joten niiden hoitaminen on potilaan oma päätös ja korjaus tapahtuu kirurgisesti. Myös yksi yleinen tapa monien sairauksien ehkäisyyn on elämäntapojen muutos terveellisempään suuntaan. (Pelttari ym. 2019)

Tulevaisuudessa mahdollisia hoitomuotoja tai tutkimuksen kohteita voisivat olla esimerkiksi geeniterapia, jossa nostetaan *ABCC6* geenin toimintaa. Tämä pitäisi kuitenkin keskittää maksaan, jossa ongelma ilmenee eniten, jotta muiden elinten geenin ilmentämistasot pysyisivät normaalina eli alhaisina, koska liian korkean ilmentymisen seurauksista ei ole tietoa. Joissain tapauksissa variantti aiheuttaa vain proteiinin osittaisen toiminnan menetyksen. Tällaisissa tilanteissa geenin transkription lisäys tai RNA ja proteiinin stabiilisuuden parantaminen voisivat toimia. Tässä vastaan tuleva ongelma on RNA:n ja proteiinin stabiilisuuden säätelyn tuntemattomuus, mutta onneksi osa transkription säätelytekijöistä on jo saatu tunnistettua. MRP6:n vääränlaisen laskostumisen yhteydessä toimiva hoitomuoto voisi olla tietynlainen farmakologinen yhdiste, joka toimisi kaitsijaproteiinin tavoin ja auttaisi MRP6 proteiinin laskostumaan oikein variantista huolimatta. Nonsense varianttien eli liian aikaisten lopetuskodonien tapauksessa on jo tutkittu aineita, jotka pystyisivät hiljentämään

kyseisen kodonin, aminohapon insertion seurauksena. Hiirimalleilla tehdyt kokeet kuitenkin osoittivat läpilukemisen olevan hyvin alhainen, joten kyseinen ratkaisu vaatii vielä kehittämistä. Kaikki edellä mainitut hoitomuoto vaihtoehdot vaativat syvempää tutkimusta esimerkiksi kantasolumalleilla. (Váradi ym. 2011)

5. KANTASOLUMALLIT

Kantasolut ovat erilaistumattomia soluja, jotka voivat erilaistua moniksi eri solutyypeiksi. Ne voidaan jakaa vielä tarkempiin luokkiin niiden ominaisuuksien avulla. Esimerkiksi alkion kantasolut (embryonic stem cells, ESC) ovat pluripotentteja ja voivat erilaistua kaikiksi kehon solutyypeiksi, paitsi ekstraembryonaalisten kudosten soluiksi, kun taas aikuisten kantasolut ovat multipotentteja tai unipotentteja, niitä löytyy ympäri kehoa ja ne pystyvät erilaistumaan tietyn kudoksen tai elimen muutamaksi solutyypeiksi tai vain yhdeksi solutyypiksi.

Aikuisen kantasoluja on kehossa hyvin rajoitettu määrä ja niiden kerääminen voi olla haastavaa, kun taas alkion kantasolujen keräämisessä ja käyttämisessä tulee eettiset ongelmat vastaan. On siis kehitetty muita keinoja, jolla saadaan muodostettua soluja, jotka omaavat kantasolujen ominaisuuksia. Indusoidut pluripotentit kantasolut (induced pluripotent stem cells, iPSCs) ovat yleensä aikuisten somaattisista soluista muodostettuja pluripotentteja kantasoluja. Somaattiset solut ohjelmoidaan uudelleen siten, että ne saadaan ilmentämään tiettyjä pluripotenttisuuteen yhdistettyjä geenejä, joita nykypäivänä on löydetty useita. (Achberger ym. 2019)

Ihmisten pluripotentit kantasolut (human pluripotent stem cell, hPSC) ovat suurena mielenkiintona *in vitro* tutkimuksissa, tautimallinnuksessa, soluterapiassa, farmakologisissa sovelluksissa sekä kudosten kehityksen tarkastelussa. Varsinkin verkkokalvon organisaatio, morfologia, kehityksen kulku, proteiini koostumus ja toiminta vaihtelevat eliöiden välillä suuresti, joten eläinmallit eivät välttämättä tarjoa tarpeeksi hyvää pohjaa näiden tutkimiseen ihmissilmän näkökulmasta. Suurin osa ihmisen verkkokalvon tutkimuksesta tapahtuukin nykypäivänä kantasolumallien avulla. (Achberger ym. 2019)

Kaksiulotteinen (2D) erilaistuneiden verkkokalvon solutyypin viljely paljasti paljon kyseisten solujen ominaisuuksista. 2D-viljely onkin todettu toimivaksi, ja se on vakiintunut monien vuosikymmenien saatossa. Nämä ovat suhteellisen halpoja ja helppokäyttöisiä edellä mainituista syistä, mutta ongelmia tulee vastaan, kun *in vivo* olosuhteissa solut eivät kasva kaksiulotteisella pinnalla vaan kolmiulotteisessa (3D) ympäristössä. 2D-mallit ovatkin nykypäivänä korvattu osittain 3D-malleilla. Verkkokalvon tutkimuksessa yksi esimerkki 3D-malleista on verkkokalvon organoidit, jotka

määritellään kolmiulotteisiksi rakenteiksi, jotka omaavat läheisen morfologian ja toiminnan niitä vastaavien *in vivo* vastineiden kanssa. Morfologia kattaa tässä yhteydessä solujen asettelun ja jokaisen solutyypin polarisaation kudosspesifisessä kerroksessa, kun taas toiminnallisuus kattaa kudosspesifisten tekijöiden tuoton tai signaalin välityksen soluverkoston eri tasojen välillä. Solut järjestäytyvät ja kiinnittyvät itsenäisesti organoideissa kelluviin solurykelmiin. Tämä mekanismi muistuttaa huomattavasti luonnossa tapahtuvaa alkionkehitysprosessia. Organoidit ovat todettu hyviksi systeemeiksi ihmisen verkkokalvon kehityksen, tautimallien ja farmakologisten sovellusten tutkimuksessa. Jotta saadaan kuitenkin toteutettua verkkokalvo *in vitro* olosuhteissa mahdollisimman läheiseksi sen *in vivo* vastinettaan, sen fysikaalisten ja toiminnallisten ominaisuuksien kanssa, täytyy kehitys saada mahdollisimman lähelle *in vivo* tapahtuvaa kehitystä. On myös mahdollista yhdistää 2D- ja 3D-viljelymenetelmiä. (Achberger ym. 2019)

Kantasolumallien avulla voidaan tutkia esimerkiksi kudosten tai elinten kehitystä ja kehityksessä tiettyjen geenien tai proteiinien roolia. Kantasoluja voidaan myös muokata ilmentämään tiettyä geeniä tai hiljentämään toisen geenin ilmentyminen. Tämän seurauksena voidaan katsoa, miten kyseiset variantit vaikuttavat kudoksen kehitykseen tai toimintaan. Tautien tutkiminen ihmisten kantasolumalleilla antaa myös tarkempia tuloksia ihmisestä, kuin eläinmallit antaisivat. Tautimallien avulla voidaan identifoida tärkeitä taudin mekanismeja ja reittejä molekyyllitasolla, mutta vastaan tulee kuitenkin *in vivo* olosuhteissa oleva kudosten ja elinten monimutkainen kokonaisuus, jota on vaikea *in vitro* mallintaa. Potilaan omista soluista valmistetut iPSC-solut myös tarjoavat alustan yksilöidylle lääketieteelle. Kantasolumallien avulla voidaan myös testata ja tutkia uusien lääkkeiden vaikutuksia ja mahdollisia riskejä tai sivuvaikutuksia turvallisesti. (Achberger ym. 2019)

Verkkokalvon toiminta on monimutkainen, joten täytyy olla hyvin kriittinen arvioidessa, toteuttaako verkkokalvon *in vitro* malli tämän toiminnon, kuinka hyvin. Morfologialtaan mallin täytyy omata verkkokalvon monet solutyypit ja aistinsolut, missä 3D-mallit ovat parempia, kuin 2D-mallit. Itse järjestäytyvät verkkokalvon organoidit seuraavat hyvin pitkälti samaa linjaa, kuin alkionkehityksessä, joten näissä verkkokalvo on hyvin järjestynyt rakenne ja kehittyneesti kerrostunut. Myös RPE-solujen ja aistinsolujen välinen vuorovaikutus on saatava kuntoon, koska se on tärkeä aistinsolujen ravinnon saamiselle ja oikeanlaisen ympäristön luomiselle. Tämä on kuitenkin haastava ja tarkkuutta vaativa prosessi, jota voidaan muokata erilaisten menetelmien avulla oikeanlaiseksi. (Achberger ym. 2019)

Verkkokalvon monimuotoisuus on kuitenkin vielä kaukana kehittyneestä *in vivo* vastineestaan organoidien kohdalla. Esimerkiksi verisuonitus ja sileät lihassolut samoin kuin immuunisolut puuttuvat tästä mallista. Organoidien rakenne ei myöskään muistuta täydellisesti niiden *in vivo* vastineen kalvorakennetta vaan on muotoutunut ellipsin muotoiseksi, luultavammin sen takia, että tämä muoto on suspensiossa solujen suosima. Ympäröivän kudoksen ja soluväliaineen puute estää

myös polarisaation kudoksen kehityksessä, joka on välttämätöntä periferian erikoistumisen ja näköhermon kupin muodostumiselle. Myös sisimmän kerroksen ravinteiden saaminen on vain passiivisen diffuusion varassa, joka taas rajoittaa organoidin kasvua ja solujen elinkykyä. Myös RPE solujen ja aistinsolujen välinen vuorovaikutus ei ole niin läheinen, kuin *in vivo*. Huonona puolena organoidimenetelmässä on vielä niiden monimutkainen ja aikaa vieviä prosessi, joka on vaikea vakioida. (Achberger ym. 2019)

Jos PXE:tä tutkittaisiin kantasolujen avulla, vaaditaan potilaan solujen vertailukohteeksi terveen yksilön soluja kontrolliksi. Esimerkiksi Hongisto ym. tutkivat Sorsby fundus dystrofiaa (SFD), jonka oireet ovat osittain samoja silmässä, kuin PXE:ssä. Tutkimusta varten uudelleen ohjelmoitiin taudinkantajan ja kontrollin ihon biopsiasta SFD-hiPSC-soluja ja kontrolli hiPSC-soluja, jotka erilaistettiin molemmat RPE-soluiksi. Näiden solujen välillä sen jälkeen tutkittiin mm. niiden morfologiaa, toimintaa ja proteiini koostumusta, ilmentymistä sekä erityistä. Näistä tekijöistä yritettiin löytää eroja, jotka voisivat auttaa mallintamaan kyseistä tautia solutasolla ja mahdollisesti auttaa myös löytämään tai kehittämään hoitomuotoja. (Hongisto ym. 2020) Myös PXE taudin kohdalla on mahdollista tehdä samantyylistä solujen karakterisointia, joka mahdollisesti tulevaisuudessa auttaisi hoitomuotojen kehityksessä sekä räätälöinnissä yksilöitä kohden. PXE taudin tapauksessa myös maksasolut, ja tarkemmin MRP6 proteiinin toiminta ja ilmentyminen, voisivat olla yksi kantasolumallinnuksen kohde, joka auttaisi selvittämään kyseisen proteiinin toimintaa terveissä ja varianttia kantavissa soluissa.

6. YHTEENVETO

PXE on harvinainen periytyvä aineenvaihdunta sairaus, joka on seurausta geeni variantista *ABCC6* geenissä. Geeniä ilmennetään eniten maksassa ja variantti vaikuttaa tämän geenin koodaaman proteiinin, MRP6, toimintaan ja rakenteeseen variantin tyypistä riippuen. Variantti saa aikaiseksi PPI tasojen laskemisen plasmassa, joka johtaa pehmytkudos kalsifikaatioon erityisesti ihossa, äärisverenkierrassa ja silmänpohjassa. Silmänpohjassa vaikutukset näkyvät Bruchin kalvon kalsifikaationa, joka taas vaikuttaa RPE solujen toimintakykyyn. Kun RPE solut eivät pysty kunnolla enää ylläpitämään verkkokalvon uloimpien osien olosuhteita, aistinsolut menettävät toimintakykyään ja siitä seuraa näön menetys. Taudin harvinaisen luonteen, useiden eri varianttien ja oireiden vaihteluvuuden takia, PXE on vielä mekanismeiltaan osin tuntematon ja hoitomuotojen kehitys ja tutkimus on vielä kesken. Tässä suurena apuna toimivat kantasolumallit, joiden avulla voidaan tutkia tautia solu- ja kudostasolla sekä sen eroja terveeseen yksilöön verrattaessa. Myös yksilöllistetyn hoidon,

soluterapian ja farmakologisten sovellusten tulisi olla suuri tutkimuksen kohde, samoin, kuin MRP6 proteiinin toiminnan ja merkityksen tarkempi selvittäminen, PXE-taudissa.

Syy, miksi kalsifikaatio osuu juuri edellä mainittuihin kudoksiin, on epäselvä. Kaikki nämä kudokset sisältävät kollageeni IV, joka löytyy niiden basaalilaminasta (<https://www.uniprot.org/uniprot/P53420> 17.3.2021) sekä ne ovat myös elastiinisäie rikkaita rakenteita ja niiden kestävyys ja toiminta ovat riippuvaisia joustavasta, mutta kestävästä tukirakenteesta. On myös mahdollista, että näiden kudosten rakenteessa on jotain, joka altistaa erityisesti nämä hydroksiapatiittikiteiden muodostumiselle. Näissä kolmessa kudoksessa on hyvin alhainen, lähes olematon *ABCC6* geenin ilmentyminen ja ENPP1 entsyymien ilmentyminen on myös olematonta. ENPP1 ja MRP6 ja ovat vastuussa 90 % PPI:n tuotosta eritetyistä ATP:stä, joten iho, verisuonet ja silmät ovat riippuvaisia muiden elinten tuottamasta PPI:stä kalsifikaation estämiseksi. Joten, kun PPI:n tuotanto laskee PXE potilailla, ei tämän määrä riitä estämään kalsifikaatiota ääreisverenkierrassa, iholla, erityisesti kaulan alueella, ja Bruchin kalvolla. ENPP1 entsyymien toimintaan vaikuttaa myös suora alhainen ATP:n määrä. Jos ATP:n konsentraatio on pieni plasmassa, muodostuu fosforyloituja väli tuotteita, jotka taas hidastavat ATP:n hydrolyysiä entisestään (<https://www.uniprot.org/uniprot/P22413> 17.3.2021).

Hoitomuotojen kehittäminen ja tutkiminen on paljon kiinni siitä, missä kohdassa variantti on, min-käläinen variantti on kyseessä ja miten se vaikuttaa MRP6:n toimintaan. Varianteja *ABCC6* geenissä, on löydetty yli 300 ja niiden vaikutukset proteiiniin ja sen ilmentymiseen vaihtelevat suuresti. Näistä varianteista yli puolien toiminta ja seuraukset ovat tuntemattomia eikä osata sanoa ovatko ne hyvälaatuisia vai patogeenisiä taudin kannalta. Potilaiden vähäinen määrä ja dynaamiset luokittelu periaatteet varianteille myös muuttavat varianttien määrittystä, mutta näistä syistä niiden tulisikin olla yksi suuri PXE tautiin liittyvä tutkimuksen kohde. Tämä auttaisi, jotta tulevaisuudessa saataisiin tarkempia diagnooseja jo potilaan varhaisella iällä, ennen kuin suurempia oireita alkaa ilmentyä.

Hoitomenetelmien lisäksi tutkimuksen olisi hyvä myös keskittyä MRP6 proteiinin toimintaan, koska tapa, jolla tämä kuljettaa aineita maksasoluista plasmaan on tuntematon. Samoin MRP6:n kuljettamat aineet tulisi selvittää, jotta saataisiin tietoa siitä, että vaikuttaako ATP:n laskun lisäksi jokin muu MRP6:n kuljettama aine PXE:n kehitykseen. Näiden asioiden selvittäminen voi esimerkiksi tarjota ratkaisun siihen, että miksi oireet kertyvät tiettyihin kudoksiin.

Kantasolumallit tarjoavat hyvän pohjan mm. PXE:n tutkimiselle. Potilaiden soluista saadaan uudelleen ohjelmoitua iPSC-soluja, joista taas saadaan erikoistettua esimerkiksi RPE-soluja, joiden avulla voidaan tutkia, miten juuri kyseisen potilaan kantama variantti vaikuttaa kyseisten solujen toimintaan. Suuremmalla mittakaavalla voidaan myös kehittää verkkokalvon organoideja, jotka taas tarjoavat laajemman tutkimus alustan koko verkkokalvolle. Kantasolumallien avulla voidaan

siis tutkia tautia ja sen proteiinihoitoa, reittejä ja tapahtumia molekyylitasolla, kehittää yksilöllisiä hoitomenetelmiä ja tutkia uusia. Kantasolujen avulla voidaan myös tehdä mahdollisia solukorvaushoitoja, esimerkiksi erilaistuneilla RPE-soluilla, jossa voidaan korvata tuhoutuneita tai vahingoittuneita soluja uusilla.

7. LÄHTEET

Achberger, K., Haderspeck J., Kleger, A. ym. 2019, "Stem cell-based retina models", *Advanced drug delivery reviews*, vol. 140, s. 33-50.

Bhutto, I. & Luty, G. 2012, "Understanding age-related macular degeneration (AMD): Relationships between the photoreceptor/retinal pigment epithelium/Bruch's membrane/choriocapillaris complex", *Molecular aspects of medicine*, vol. 33, no. 4, s. 295-317.

Happonen, P., Holopainen, M., Sotkas, P. ym. 2012, *BIOS 2: Solu ja perinnöllisyys*, 4. - 7. painos, Sanoma Pro Oy, Helsinki, s. 95 - 101.

Happonen, P., Holopainen, M., Sariola, H. ym. 2014, *BIOS 4: Ihmisen biologia*, 7. – 11. painos, Sanoma Pro Oy, Helsinki, s. 118 - 121.

Hongisto, H., Dewing, J., Christensen, D. ym. 2020, "In vitro stem cell modelling demonstrates a proof-of-concept for excess functional mutant TIMP3 as the cause of Sorsby fundus dystrophy", *The Journal of Pathology*, vol. 252, no. 2, s. 138.

Jackson, M., Marks, L., May, G. ym. 2020, "The genetic basis of disease", *Essays in biochemistry*, vol. 62, no. 5, s. 643–723.

Kauffmanstein G., Yegutkin GG., Khiati S. ym. 2018, "Alteration of Extracellular Nucleotide Metabolism in Pseudoxanthoma Elasticum", *J Invest Dermatol*, vol. 138, no. 8, s. 1862-1870.

Lehmann, G., Benedicto, I., Philip, N. ym. 2014, "Plasma membrane protein polarity and trafficking in RPE cells: Past, present and future", *Experimental Eye Research*, vol. 126, s. 5-15.

Murphy, A., Truong, Y., O'Brien, C. ym. 2020, "Bio-inspired human in vitro outer retinal models: Bruch's membrane and its cellular interactions", *Acta Biomaterialia*, vol. 104, s. 1-16

Nguengang Wakap, S., Lambert, D.M., Olry, A. ym. 2020, "Estimating cumulative point prevalence of rare diseases: analysis of the Orphanet database", *European journal of human genetics: EJHG*, vol. 28, no. 2, s. 165-173

- Pelttari, S., Väärämäki, S., Uusitalo, H. ym. 2019, "Pseudoxanthoma elasticum: pyrofosfaatin puutostauti", *Duodecim*, vol. 135, no. 7, s. 654-662.
- Takkar, B., Rathi, A., Venkatesh, P. ym. 2020, "Giant Idiopathic Angioid Streaks", *J Ophthalmic Vis Res*, vol. 15, no. 2, s. 240-245.
- Wightman, A., & Guymer, R. 2019, "Reticular pseudodrusen: current understanding", *Clinical & experimental optometry*, vol. 102, no. 5, s. 455–462.
- Váradí, A., Szabó, Z., Pomozi, V. ym. 2011, "ABCC6 as a Target in Pseudoxanthoma Elasticum", *Current drug targets*, vol. 12, no. 5, s. 671–682.
- Verschuere, S., Navassiolava, N., Martin, L. ym. 2020, "Reassessment of causality of ABCC6 missense variants associated with pseudoxanthoma elasticum based on Sherlock", *Genetics in medicine*, vol. 23, s. 131–139.
- Väärämäki, S., Uusitalo, H., Tökési, N. ym. 2019, "Pyrophosphate Treatment in Pseudoxanthoma Elasticum (PXE)-Preventing ReOcclusion After Surgery for Critical Limb Ischaemia", *Surgical Case Reports*, s.1-3.