



UANSEELIG ORM LÆRER OS OM ALDRING OG SYGDOMME

En millimeter stor rundorm bruges i laboratorier verden over, til at afsløre grundlæggende biologiske mekanismer involveret i for eksempel aldring og udviklingen af alvorlige sygdomme, som Parkinsons og ALS.

Om forfatteren



Katrine Vogt Møller er ph.d.-studerende ved Sektion for Molekylær Intervention, Institut for Molekylærbiologi og Genetik, Aarhus Universitet samt Sektion for Bioteknologi, Institut for Kemi og Biovidenskab, Aalborg Universitet.

Katrine har arbejdet med *C. elegans* både under sit speciale, hvor hun studerede en sygdomsmodel for Parkinsons, og i sit ph.d.-projekt, hvor hun har brugt *C. elegans* til at finde gavnlige bakterier, som øger ormens levetid.

kvc@mbg.au.dk og kvc@bio.aau.dk

Det kan måske være svært at forestille sig, at en mikroskopisk orm, nærmest umulig at se med det blotte øje, kan gøre os klogere på sygdomsudvikling i mennesker. Ikke desto mindre bruger forskere verden over den lille rundorm på knapt 1 mm med det flotte latinske navn *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) til at studere netop dette, og også som et værktøj til at screene efter nye lægemidler.

På trods af den tydelige forskel i udseende har *C. elegans* flere ligheder med mennesket, end man lige skulle tro. Den har blandt andet et nerve-, et tarm-, og et immunsystem, om end strukturerne er simple end hos mennesket. Dette er en stor fordel, når man studerer indviklede sammenhænge. Alle de forskellige indre strukturer er mulige at se ved hjælp af et almindeligt lysmikroskop, fordi ormen er gennemsigtig, og man behøver dermed ikke at dissekere den for at se, om der er udviklingsdefekter.

Man kan også ved brug af et fluorescensmikroskop direkte følge med i udtrykket af et bestemt protein, hvis proteinet er koblet til et fluorescerende molekyle som GFP (grønt fluorescerende protein).

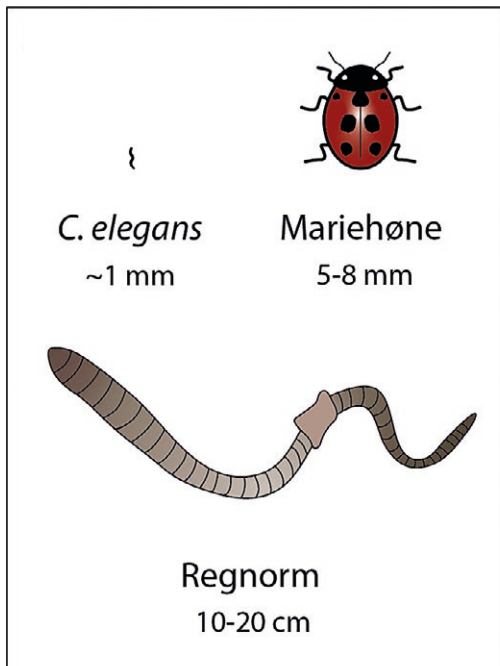
C. elegans findes primært som hermafrodit, som betyder, at den både producerer ægceller og sædceller og befrugter sig selv, og på den måde er afkommet genetisk identisk med hinanden. Det betyder, at man kan mindske baggrundsstøjen fra genetiske forskelle, som en menneskelig befolkning har, og dermed kigge isoleret på de ændringer i adfærd og udseende, som specifikke mutationer eller tilførte egenskaber har på ormen.

Orme som sygdomsmodeller

Kortlægningen af organismers genomer har haft en stor betydning for studier af sygdomsudvikling, og *C. elegans* var den første færdige organisme, som fik sit komplette genom kortlagt i 1998. Overraskende nok har det vist sig,

at antallet af gener i den lille orm ikke er langt fra det estimerede antal gener i et menneske, selvom antallet af kromosomer og celler er markant lavere (se faktaboks). Derudover er der stor lighed mellem mange af generne i *C. elegans* og menneskets gener, som betyder at genprodukterne (dvs. proteiner) også minder meget om hinanden, hvilket ligeledes afspejles i antallet af signalveje, som eksisterer i både orme og mennesker. Derfor er det muligt for forskere at få svar på komplekse spørgsmål om menneskelige sygdomsgener ved at kigge på orme.

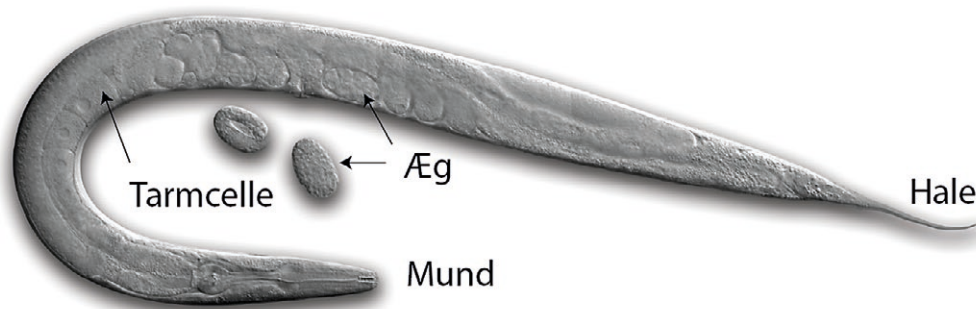
I kombination med molekylære teknikker er der blevet lavet et hav af forskellige sygdomsmodeller i *C. elegans*, hvor arvematerialet er blevet muteret, hele gener er blevet slettet, eller der er tilført nye gener, der er involveret i en bestemt sygdom hos mennesker. Den nyeste genmodificeringsteknik CRISPR, som kan lave præcise ændringer i arvematerialet, har revolutioneret



En mariehøne bliver omkring 5-8 mm, hvor *C. elegans* kun er ~1 mm, så den er langt fra så stor som en regnorm, der kan blive over 25 cm.



C. elegans blev introduceret til biologisk forskning i 1960'erne, men findes i naturen i jord og kompost, hvor dens normale føde er bakterier. I laboratoriet opbevares de på små agarplader med en bakterieplet på.



C. elegans er gennemsigtig, og dermed kan man se de forskellige strukturer ved at bruge et lysmikroskop. Dens mund og svælg knuser bakterierne, hvorefter de passerer videre til tarmen, der er lavet af store tarmceller. Den har også et forplantningssystem, hvor den producerer både æg og sædceller, og dermed bliver dens afkom til små kloner af sig selv. Foto: WormAtlas.org

muligheden og ikke mindst tidshorisonten for at lave nye modeller, der kan give ny viden om, hvordan genetiske ændringer er involveret i sygdomsudvikling.

Orme og aldring

Aldring er et eksempel på en proces, som *C. elegans* har givet forskerne mere indsigt i. Menneskets gennemsnitlige levetider har været stigende siden 1800-tallet, og det forudsiges, at spædbørn født i Danmark i dag i gennemsnit vil blive mellem 90 og 100 år. Da aldring er den største risikofaktor for at udvikle en række sygdomme, kan man frygte, at flere vil udvikle aldersrelaterede sygdomme i fremtiden. Det er derfor vigtigt

at finde årsagerne for så vidt muligt at kunne behandle og forebygge disse, således at alderdommen ikke bliver forbundet med sygdom og besvær, som er dyrt for samfundet og hårdt for individet og familien. *C. elegans* er en god modelorganisme til at studere aldring og aldersrelaterede sygdomme, fordi den har en kort levetid på 2-3 uger. Det gør det muligt at studere genetiske og miljømæssige ændringers virkning på grundlæggende mekanismer i en levende organisme på meget kort tid i forhold til andre modelorganismer som mus og højere forsøgsdyr.

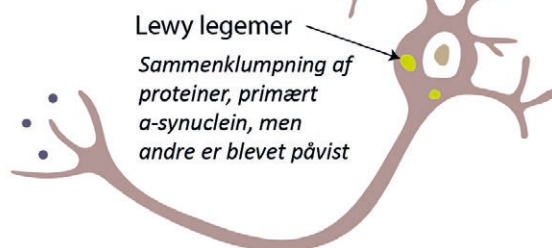
Ved at bruge *C. elegans* som modelorganisme er der blevet identifi-

ceret flere signalveje, som regulerer aldring. I slutningen af 1980'erne identificerede man for første gang et gen, der påvirker, hvor længe *C. elegans* lever, og det blev derfor kaldt *age-1*. Nogle år senere blev et andet gen identificeret, *daf-2*, som fordobler ormens levetid, når genet muteres. Begge gener har vist sig at indgå i samme signalvej, og nu ved man, at den er evolutionært bevaret, fordi man også ser forlænget levetid hos fluer og mus, når gener i denne signalvej muteres. Senere har studier i *C. elegans* og fluer (*D. melanogaster*) identificeret et centralt protein i signalvejen, der regulerer levetiden. Det gen findes også i mennesker, og nu har man

Normal dopaminær neuron



Dopaminær neuron hos Parkinsonspatient



Nervecellerne, der producerer dopamin i den sorte substans i hjernen (*substantia nigra*), forsvinder gradvist hos patienter med Parkinsons. I de døende nerveceller kan man finde Lewy-legemer, som primært består af α -synuclein.

opdaget en genvariant hos nogle befolkningsgrupper, der hænger sammen med levetid.

Orme med Parkinsons

De samme signalveje, der påvirker levetid, er også ofte involveret i aldersrelaterede sygdomme. Parkinsons er en aldersrelateret nervesygdom, hvor antallet af patienter, der diagnosticeres stiger kraftigt efter 60 år. Hos Parkinsons-patienter ser man, at en bestemt type nerveceller dør i et område af hjernen kaldet den sorte substans (*substantia nigra*). Disse nerveceller indeholder signalstoffet dopamin og kaldes derfor dopaminerge neuroner. Dopamin er en del af hjernens belønningssystem og frigives, når vi føler os lykkelige, men det er også involveret i at finjustere bevægelser for forskellige muskelgrupper. Mængden af dopamin i dopaminerge nerveceller i den sorte substans er meget lavere hos Parkinsons-patienter og giver symptomer som stivhed i arme og ben, rystelser, samt ikke motoriske symptomer som udvikling af demens. Det vides stadig ikke, hvorfor denne specifikke gruppe af nerveceller dør, og der findes endnu ikke en måde at kurere eller bremse sygdommen på, derfor er det i dag kun muligt at symptombehandle. Et patologisk kendetegn for sygdommen er

sammenklumpning af forskellige proteiner (Lewy-legemer) i de døende nerveceller, hvor et dominerende protein er α -synuclein, som derfor er blevet nærstuderet i jagten på at finde den underlæggende mekanisme for udviklingen af sygdommen. *C. elegans*-modeller, der udtrykker det menneskelige α -synuclein-protein, udviser flere træk, der ser ud som dem hos Parkinsons-patienter, såsom tab af dopaminerge neuroner og øget sammenklumpning af proteinet, jo ældre ormene bliver. Mutationer i *daf-2*-genet, som indgår i den tidligere nævnte signalvej, der regulerer aldring, er blevet vist at dæmpe patologiske kendetegn i forskellige *C. elegans* sygdomsmodeller inklusiv Parkinsons, men også for Alzheimers og Huntingtons.

Giver ideer til fremtidige behandlinger

Selvom der ses mest α -synuclein i Lewy-legemerne, kan andre proteiner også give vigtig information om Parkinsons sygdom. Laboratoriegruppen under ledelse af Anders Olsen på institut for Kemi og Biovidenskab på Aalborg Universitet bruger *C. elegans* til at studere aldring og aldersrelaterede sygdomme, heriblandt at undersøge hvordan nerveceller ødelægges under Parkinsons sygdom. *C. elegans'* nervesystem består af kun 302 nerveceller, mens der er omkring 100 billioner neuroner i den menneskelige hjerne. Selvom antallet af nerveceller er lavt hos ormen, finder man blandt disse 118 forskellige under typer af neuroner, som giver en høj diversitet i ormens nervesystem.

Ved at udtrykke gensekvensen for proteiner fundet i Parkinsons-patienter i ormens dopaminerge neuroner, kan man studere, hvilken effekt proteinerne har på molekylært niveau og desuden finde ud af, hvilke molekyler det vekselvirker med. Ved at fusionere et protein til det fluorescerende molekyle GFP kan man også kigge på, om nervecellerne ændrer udseende. I en af sygdomsmodellerne for Parkinsons, som forskerne studerer i Anders Olsens laboratorium, ses det, at de dopaminerge neuroners form ændrer sig, jo ældre ormen bliver. Først er de runde, så bliver de mere aflange for til sidst at blive en tynd streng og helt forsvinde. Med så tydelig en ændring kan man introducere mutationer mange tilfældige steder i ormes arvemateriale og efterfølgende kigge efter orme med runde nerveceller, selvom de også udtrykker det Parkinsons-relaterede protein. Via denne fremgangsmåde har gruppen fundet flere mulige gener, som kan være mål for lægemidler i behandlingen mod Parkinsons sygdom i fremtiden.

Hjælper i kampen mod sygdommen ALS

C. elegans har en god historik, som en nyttig hjælper i jagten på ny medicin for menneskelige sygdomme. Ved at bruge orme-sygdomsmodeller, kan man screene tusindvis af kemiske forbindelser og finde kandidater, der har en gunstig virkning på forskellige faktorer, som er involveret i en bestemt sygdom. For nyligt er der eksempelvis blevet identificeret et lovende medikament

Videre læsning

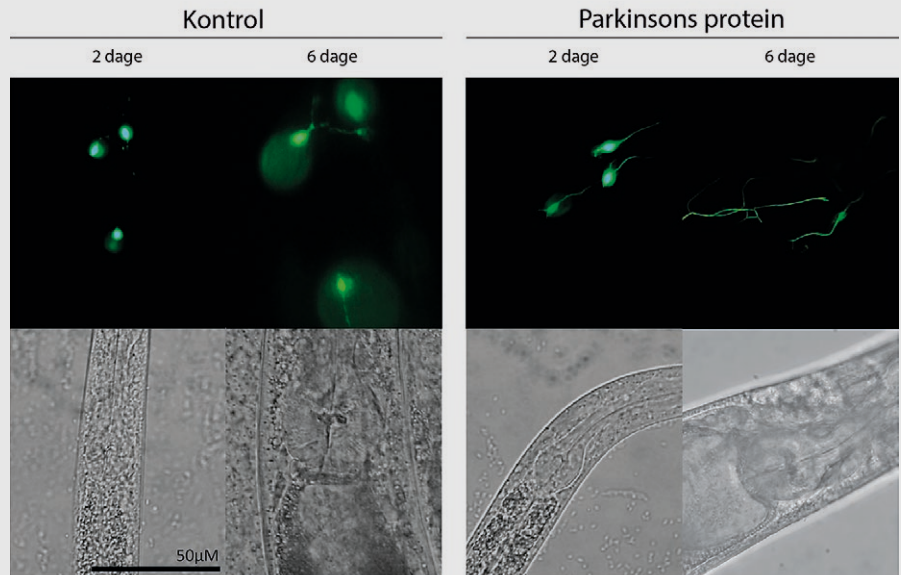
Thomsen, L.E., Færgeman, N.J. og Kallipolitis, B.H.: Orm som forsøgsdyr. *Aktuel Naturvidenskab* 3/2008

Apfeld J., Alper S. (2018): What Can We Learn About Human Disease from the Nematode *C. elegans*? *Disease Gene Identification. Methods in Molecular Biology*, vol 1706. doi: 10.1007/978-1-4939-7471-9_4

Christensen K.V., Morch M.G., Morthorst T.H., Lykkemark S., Olsen A. (2017): Microbiota, Probiotic Bacteria and Ageing. *Ageing: Lessons from C. elegans. Healthy Ageing and Longevity*. Springer. doi: 10.1007/978-3-319-44703-2_18

	Menneske	<i>C. elegans</i>
Celler	$\sim 7 \cdot 10^{13}$	~ 1000
Kromosomer	46	6
Gener	20 000	18 000
Neuroner	$\sim 20 \cdot 10^9$	302

De viste billeder stammer fra en *C. elegans*-sygdomsmodel for Parkinsons. Her udtrykkes et protein, der er blevet identificeret i Lewy-legemer sammen med α -synuclein i mennesker, i de dopaminerge neuroner i ormen. Man mener, at dette protein spiller en rolle i sygdomsudviklingen. Proteinet er koblet til det fluorescerende molekyle GFP, som gør at man let kan afsløre, hvor proteinet dannes, da det lyser op. Det er tydeligt at se, at mens de dopaminerge neuroner i normale orm er runde – og i store træk forbliver runde – så bliver de mere og mere aflange og trådliggende med tiden i sygdomsmodellen. Ved at afsløre den underliggende mekanisme og signalvej, kan man finde frem til mulige angrebsmål for fremtidige behandlinger af Parkinsonspatienter.



i behandlingen af den alvorlige nervesygdom amyotrofisk lateral sklerose (ALS), hvor patienten normalt dør indenfor få år. Her blev *C. elegans* brugt som screeningsplatform til at finde medikamenter, der modvirker nedsat bevægelighed. Det blev efterfølgende vist, at flere af de medikamenter, man fandt frem til, havde den samme effekt i zebrafisk og mus, heriblandt pimozide som

havde en særlig kraftig effekt. Derfor er pimozide nu blevet inkluderet i et klinisk studie med ALS-patienter, og det bliver spændende at se, hvordan og i hvor høj grad patienternes sygdomsforløb påvirkes.

Et uvurderligt værktøj for forskerne

Som det er fremgået, er der meget at lære fra orme. I denne artikel

har jeg kun givet nogle få eksempler på, hvordan denne simple modelorganisme har bidraget til forståelsen af menneskelige nervesygdomme. Men der er mange flere områder af biologien, hvor *C. elegans* har været et vigtigt værktøj, og alt peger på, at den uanseelige orm vil forblive en uvurderlig hjælp for forskerne mange år fremover. ■

Study Mathematical Bioscience

Roskilde University offers a unique integrated master's programme for students with a deep interest in mathematics and biology.

Specialize in mathematical modeling of health and disease developments, ecology, or mathematical methods.

→ **Mathematical Bioscience**

ruc.dk/en/master/programmes



RUC