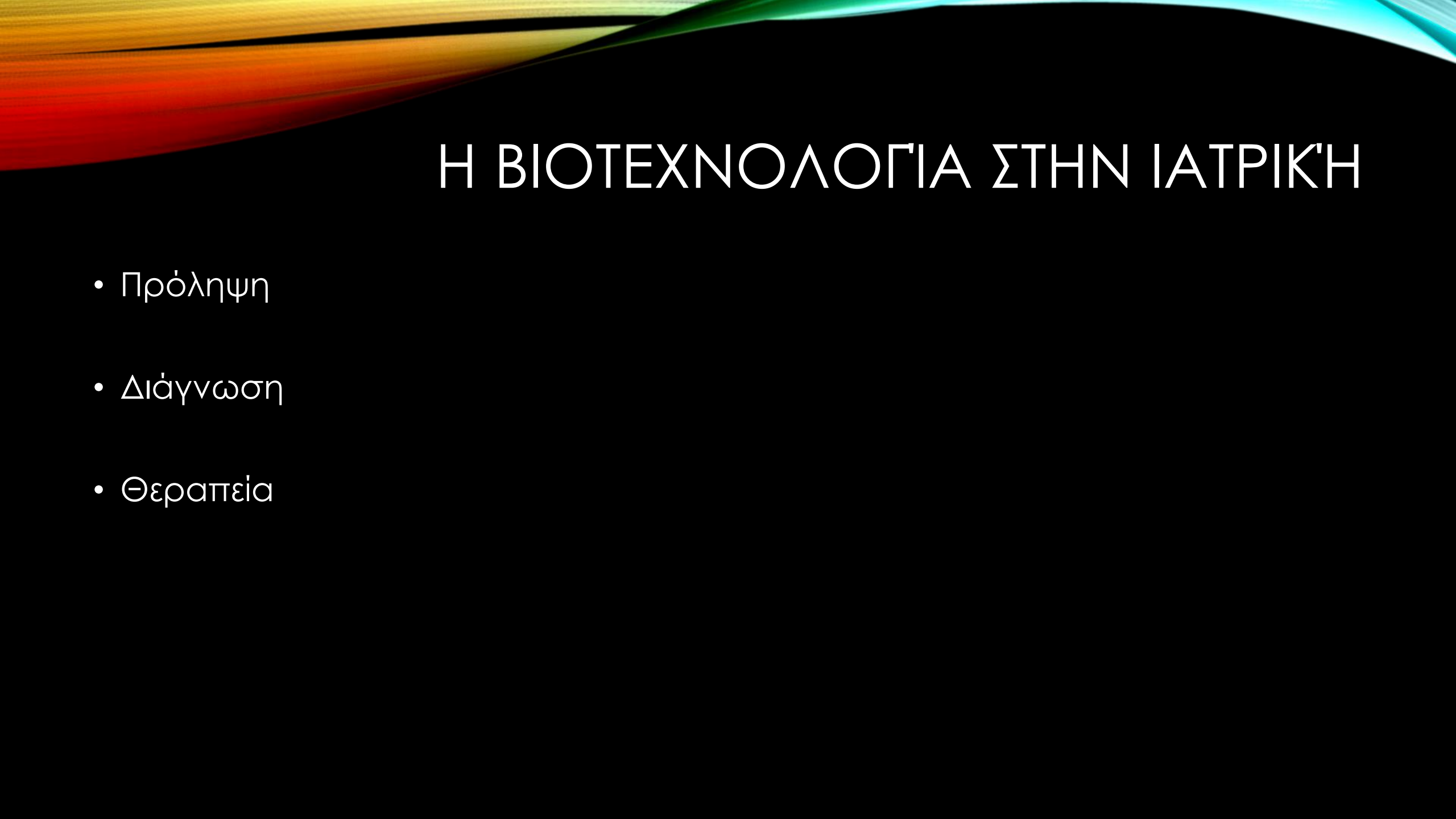




Η ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ

Κεφάλαιο: 8



Η ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ

- Πρόληψη
- Διάγνωση
- Θεραπεία

ΔΙΑΓΝΩΣΗ

- Έγκαιρη (πριν εμφανιστούν συμπτώματα, είτε πρόκειται για μόλυνση , είτε για κληρονομική ασθένεια)
- Ακριβής (να μην δίνει ψευδώς θετικά - ο άρρωστος να διαγνώσκεται άρρωστος- ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα – ο υγιής να διαγνώσκεται υγιής)

ΠΡΟΛΗΨΗ

- Κατασκευή αποδοτικού εμβολίου

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

- Εξατομικευμένη θεραπεία , κατάλληλη για τον κάθε ασθενή προσωπικά, προκύπτει μετά από εξετάσεις.
- Φαρμακευτική αγωγή – φαρμακευτικές πρωτεΐνες (πχ ινσουλίνη)
- Γονιδιακή θεραπεία

ΠΙΝΑΚΑΣ 8.1: Φαρμακευτικές πρωτεΐνες που έχουν παραχθεί με την τεχνολογία του ανασυνδιασμένου DNA

Πρωτεΐνη	Χρήση
α ₁ -αντιθρυψίνη	Θεραπεία εμφυσήματος
Καλσιτονίνη	Θεραπεία της οστεοπόρωσης
Χοριονική γοναδοτροπίνη	Θεραπεία στειρότητας σε γυναίκες
Ενδορφίνες και εγκεφαλίνες	Αναλγητικοί παράγοντες
Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας	Θεραπεία τραυμάτων
Ερυθροποιητίνη	Θεραπεία αναιμίας
Παράγοντας VIII	Θεραπεία αιμορροφιλίας Α
Παράγοντας IX	Θεραπεία αιμορροφιλίας Β
Αυξητική ορμόνη	Θεραπεία ακονδροπλασίας
Ινσουλίνη	Θεραπεία του διαβήτη
Ιντερφερόνες (α,β,γ)	Αναιικοί και ανακαρκινικοί παράγοντες
Ιντερλευκίνες	Θεραπεία καρκίνου και ασθενών του ανοσοποιητικού συστήματος
Ενεργοποιητής πλασμινογόνου ιστών (tPA)	Θρομβολυτικός παράγοντας
Παράγοντας νέκρωσης όγκων	Ανταρκινικός παράγοντας

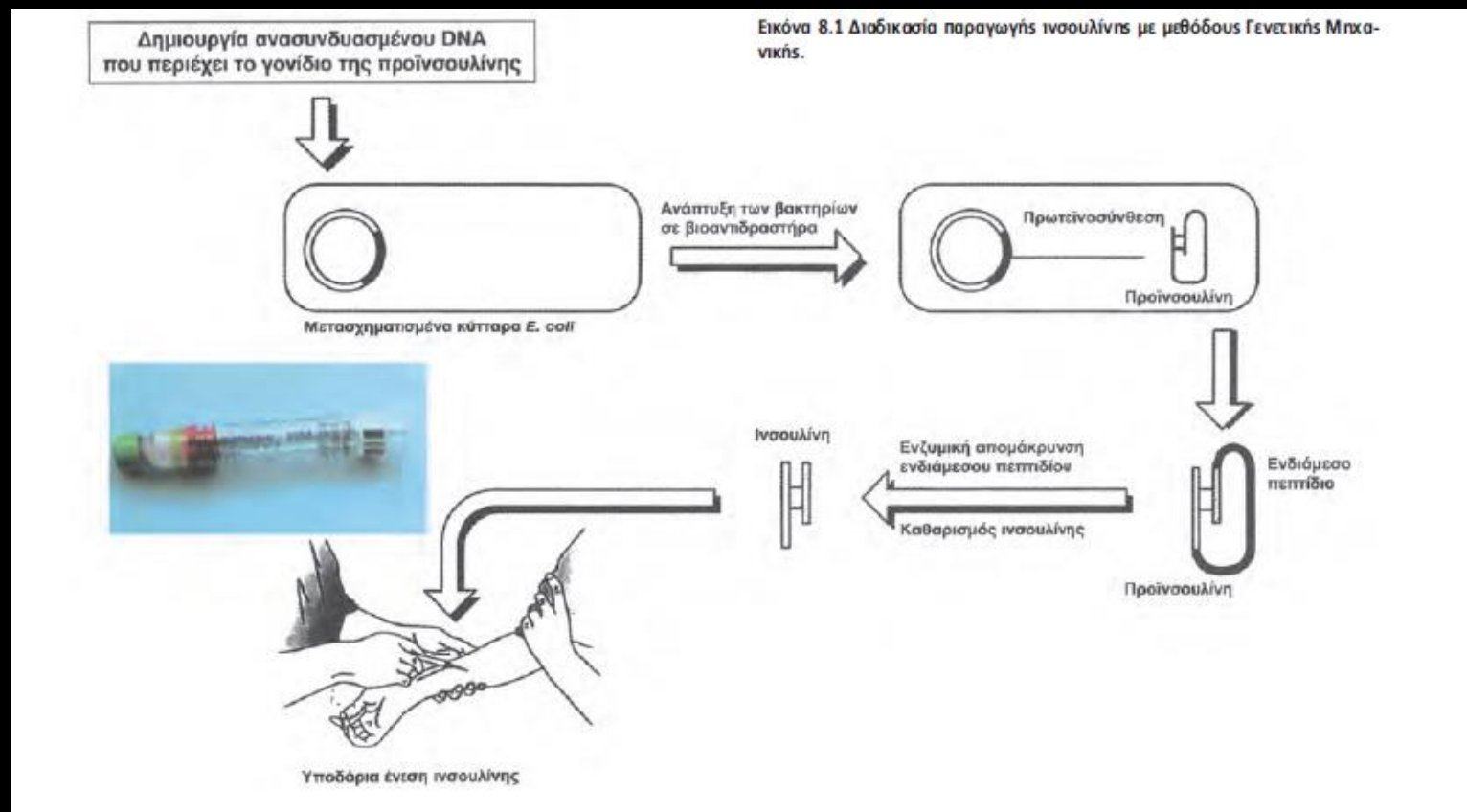
Η ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ

- Πρωτεΐνη από 51 αμινοξέα
- Αποτελείται από δύο πεπτίδια Α και Β τα οποία ενώνονται με δισουλφιδικούς δεσμούς
- Παράγεται από τα β κύτταρα του παγκρέατος
- Αρχικά παράγεται ως προ- ινσουλίνη η οποία μετατρέπεται σε ινσουλίνη με μέτα- μεταφραστικές τροποποιήσεις.
- Οι μετα- μεταφραστικές τροποποιήσεις γίνονται από ευκαρυωτικά κύτταρα

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΑΠΟ ΒΟΟΕΙΔΉ

- Δύσκολη και επίπονη διαδικασία
- Απομόνωση μικρής ποσότητας ινσουλίνης
- Αλλεργία στον άνθρωπο, αφού η ινσουλίνη των βοοειδών διαφέρει λίγο από την ινσουλίνη των ανθρώπων
- Ακριβή διαδικασία

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΙΝΣΟΥΛΪΝΗΣ



ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΕΣ

- Ιντερφερόνες : α , β , γ
- Αντιικές πρωτεΐνες
- Παράγονται από κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιό
- Έχουν και αντικαρκινική δράση
- Παράγονται σε ίχνη από τον ανθρώπινο οργανισμό

ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

- Είναι πρωτεΐνες
- Αντισώματα που αναγνωρίζουν έναν μόνο αντιγονικό καθοριστή
- Έχουν μεγάλη εξειδίκευση για το αντιγόνο για το οποίο φτιάχτηκαν και δεν δίνουν λάθος (ψευδώς θετικές ή ψευδώς αρνητικές) - διασταυρούμενες αντιδράσεις.
- Φτιάχνονται από έναν και μόνο κλώνο Β λεμφοκυττάρων
- Χρησιμοποιούνται στη διάγνωση (έχουν μεγάλη ακρίβεια) και στη θεραπεία συζευγμένα με φάρμακα. (Συνδυάζεται η ακρίβεια του αντισώματος με την τοξικότητα του φαρμάκου)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΉ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

- Ένεση σε ποντίκι του αντιγόνου για το οποίο θέλουμε να φτιάξουμε μονοκλωνικό αντίσωμα.
- (Έτσι, θα αρχίσουν να παράγονται B λεμφοκύτταρα που να φτιάχνουν τα μονοκλωνικά αντισώματα για το αντιγόνο που εγχύσαμε.)
- Απομόνωση σπλήνα ποντικού μετά από 2 εβδομάδες.
- Απομόνωση B λεμφοκυττάρων από τον σπλήνα του ποντικού.
- Σύντηξη B λεμφοκυττάρων με καρκινικά κύτταρα, παραγωγή **υβριδωμάτων**.
- Καλλιέργεια αυτών των υβριδικών κυττάρων
- Φύλαξη υβριδωμάτων στους -80 ο C θεωρητικά για πάντα.

ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ & ΔΙΑΓΝΩΣΗ

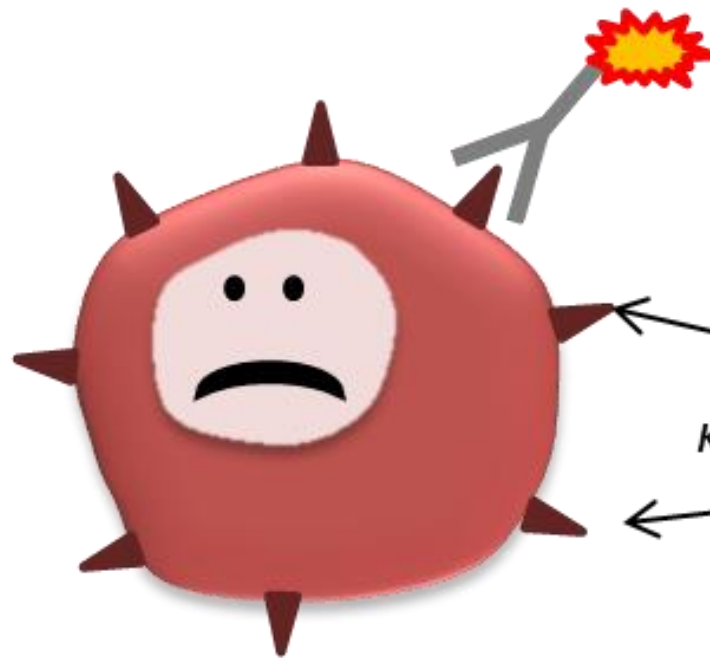
- Τεχνική απλή και γρήγορη
- Με μεγάλη ευαισθησία (Το αντίσωμα θα βρει το αντιγόνο για το οποίο φτιάχτηκε, ακόμα και αν αυτό υπάρχει σε ίχνη. Δεν δίνει ψευδώς αρνητικές απαντήσεις)
- Με μεγάλη ακρίβεια. (Το μονοκλωνικό αντίσωμα αναγνωρίζει το αντιγόνο για το οποίο φτιάχτηκε και μόνο αυτό. Δεν δίνει ψευδώς θετικές απαντήσεις, γιατί δεν κάνει λάθος – διασταυρούμενες- αντιδράσεις)
- Η διάγνωση είναι έγκαιρη
- Με μονοκλωνικά αντισώματα γίνεται η διάγνωση μιας κύησης (τεστ εγκυμοσύνης), ανιχνεύονται μικροοργανισμοί στο αίμα ή και σε όλα τα υγρά του σώματος, προσδιορίζονται τα επίπεδα των ορμονών.
- Η χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων είναι στην ρουτίνα του διαγνωστικού εργαστηρίου αλλά και στην καθημερινότητα μας (ταχυδιαγνωστικό τεστ εγκυμοσύνης)

ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ & ΘΕΡΑΠΕΙΑ

- Στη θεραπεία του καρκίνου όταν στην επιφάνεια καρκινικών κυττάρων υπάρχουν καρκινικά αντιγόνα.
- Τα θεραπευτικά μονοκλωνικά αντισώματα είναι συζευγμένα με ισχυρά αντικαρκινικά φάρμακα (τοξίνες)
- Τα μονοκλωνικά αντισώματα αναγνωρίζουν τα καρκινικά κύτταρα με μεγάλη ακρίβεια.
- Τα αντικαρκινικά φάρμακα σκοτώνουν τα καρκινικά κύτταρα με μεγάλη ακρίβεια.
- Δεν έχουν παρενέργειες όπως η χημειοθεραπεία ή οι ακτινοβολίες.
- Herceptin όταν υπάρχουν οι υποδοχείς her σε συγκεκριμένους τύπους καρκίνου μαστού.



Φυσιολογικό Κύτταρο



Μονοκλωνικό αντίσωμα με ένα ισχυρό αντικαρκινικό φάρμακα

καρκινικά αντιγόνα

Καρκινικό Κύτταρο

Photo design: Evita Athanasiou

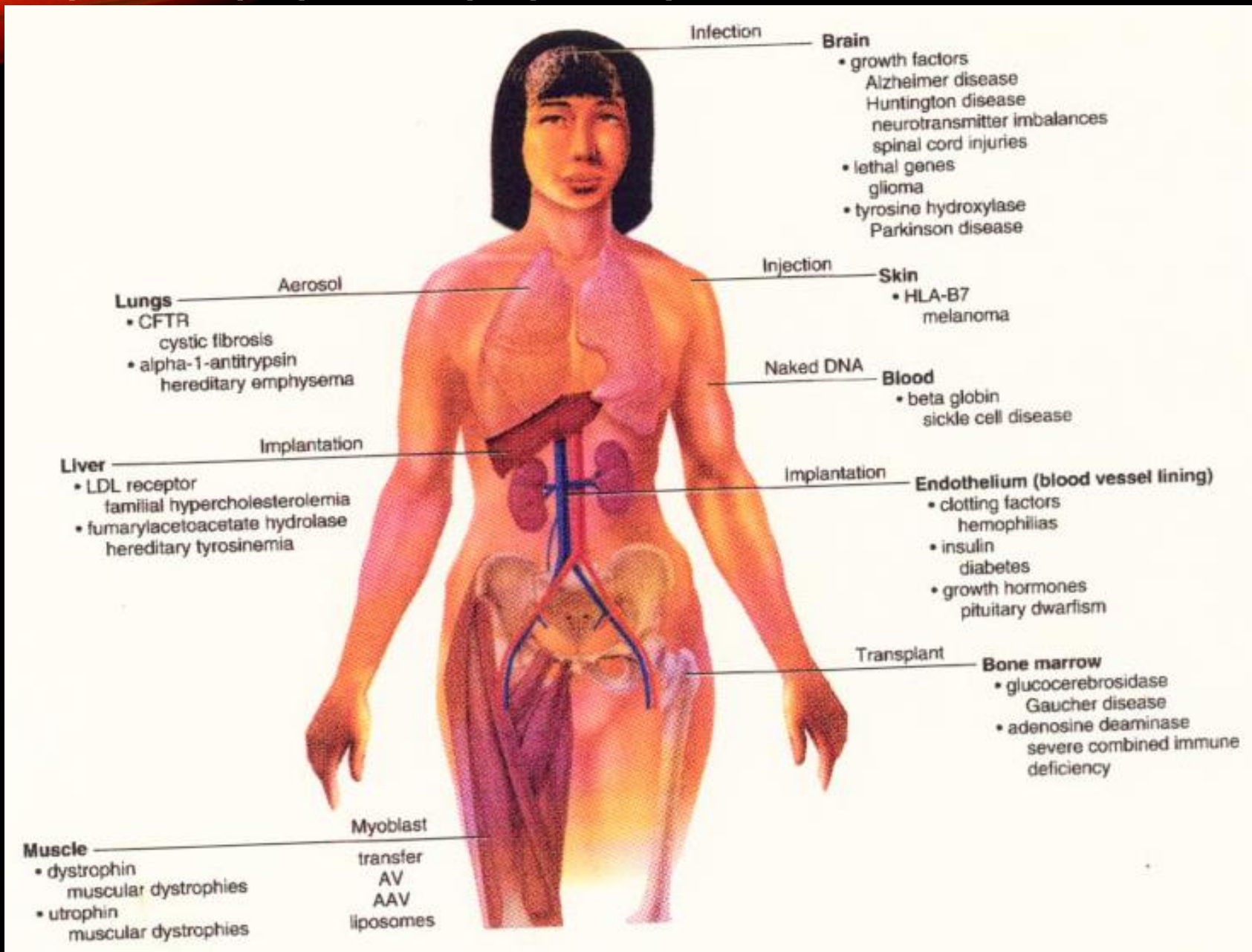
ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ & ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΕΙΣ

- Γίνεται έλεγχος των οργάνων των δωρητών
- Ελέγχεται η συμβατότητα δωρητή και ασθενή
- Αποφεύγεται η απόρριψη μοσχεύματος

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ



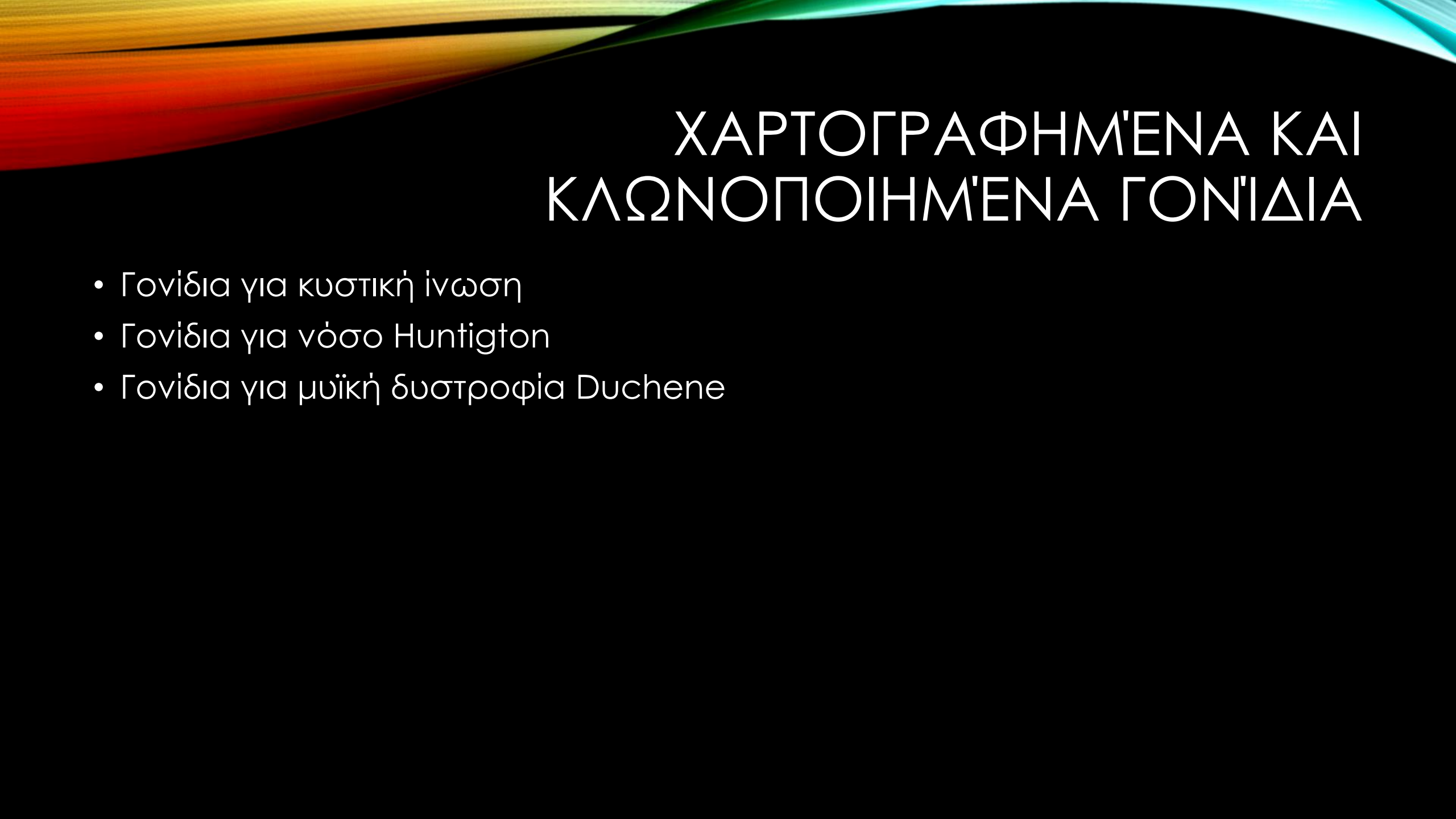
Κύτταρα και ιστοί στο σώμα που μπορεί να εφαρμοστεί η γονιδιακή θεραπεία ορισμένων γενετικών ασθενειών



Προϊόν γονιδίου	Ασθένεια	Συχνότητα	Θεραπεία	Πρόγνωση
Απαμινάση της αδενοσίνης (ADA)	Σοβαρή ανοσοανεπάρκεια έλλειψη T και B λεμφοκυττάρων	1:10 ⁶	Μεταμόσχευση μυελού	Κλινική βελτίωση, επέκταση της ζωής για λίγο χρόνο
Υποδοχέας LDL	Υπερχοληστερολαιμία	1:500.000	Δίαιτα, φάρμακα	
Γλυκοσερεμπροζιδάση	Ασθένεια Gaucher	1:2.500	Μεταμόσχευση μυελού	
Παράγοντας της πήξης του αίματος VIII	Αιμοφιλία A	1:10.000	αντιβιοτικά	
α1-αντιθρυψίνη	Εμφύσημα λόγω έλλειψης του καταστολέα των πρωτεασών πρωτεϊνών του ορού	1:3500	Αύξηση του παράγοντα 8 με μεταγγίσεις	
CFTR (κυστική ίνωση) Δυστροφίνη	Κυστική ίνωση Μυϊκή δυστροφία	1:2500 1:7500	Αντιβιοτικά Αναπνευστική υποστήριξη	
Διακαρβαμυλάση της ορνιθίνης	Βλάβη στον κύκλο της ουρίας, συσσώρευση αμμωνίας, έλλειψη αργινίνης	1:40000	Δίαιτα πρωτεΐνης προσθήκη αργινίνης	
β-σφαιρίνη	Χρόνια αναιμία, βλάβη στη σπλήνα και στην καρδιά	1:500	Μεταγγίσεις	

ΠΡΟΫΠΟΘΈΣΕΙΣ ΓΙΑ ΓΟΝΙΔΙΑΚΉ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

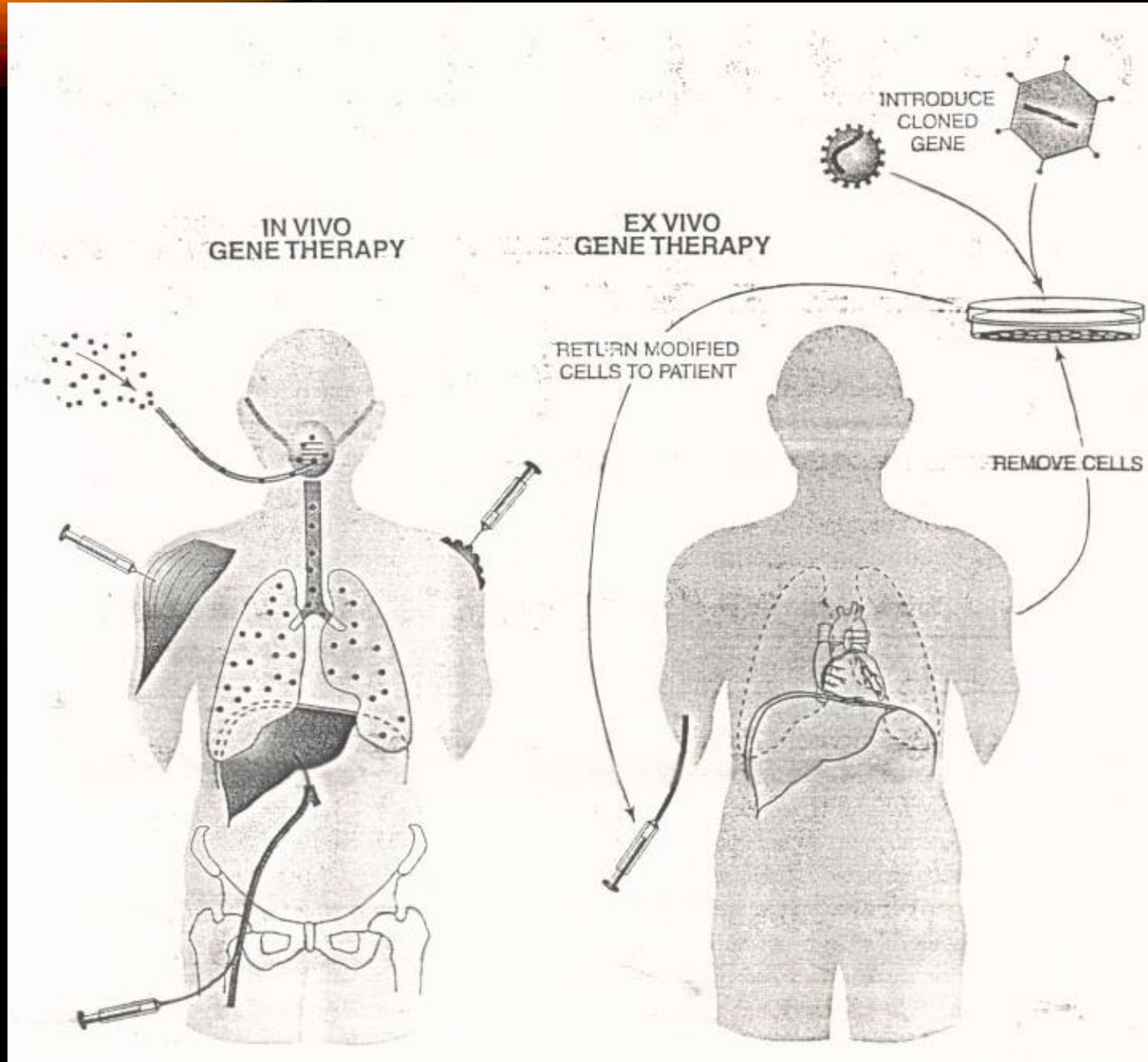
- Δεν είναι θεραπεία για όλες τις ασθένειες.
- Η ασθένεια στην οποία θα κάνουμε γονιδιακή θεραπεία θα πρέπει να οφείλεται σε ένα γονίδιο.
- Το γονίδιο στο οποίο οφείλεται η ασθένεια θα πρέπει να κληρονομείται με υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας ώστε η ενσωμάτωση του φυσιολογικού γονιδίου να οδηγεί σε υγιή φαινότυπο.
- Το φυσιολογικό γονίδιο θα πρέπει να είναι χαρτογραφημένο και κλωνοποιημένο.
- Πρέπει να υπάρχει φορέας κλωνοποίησης που να μπορεί να προσεγγίσει το κύτταρο στόχο στο οποίο εκφράζεται το γονίδιο.

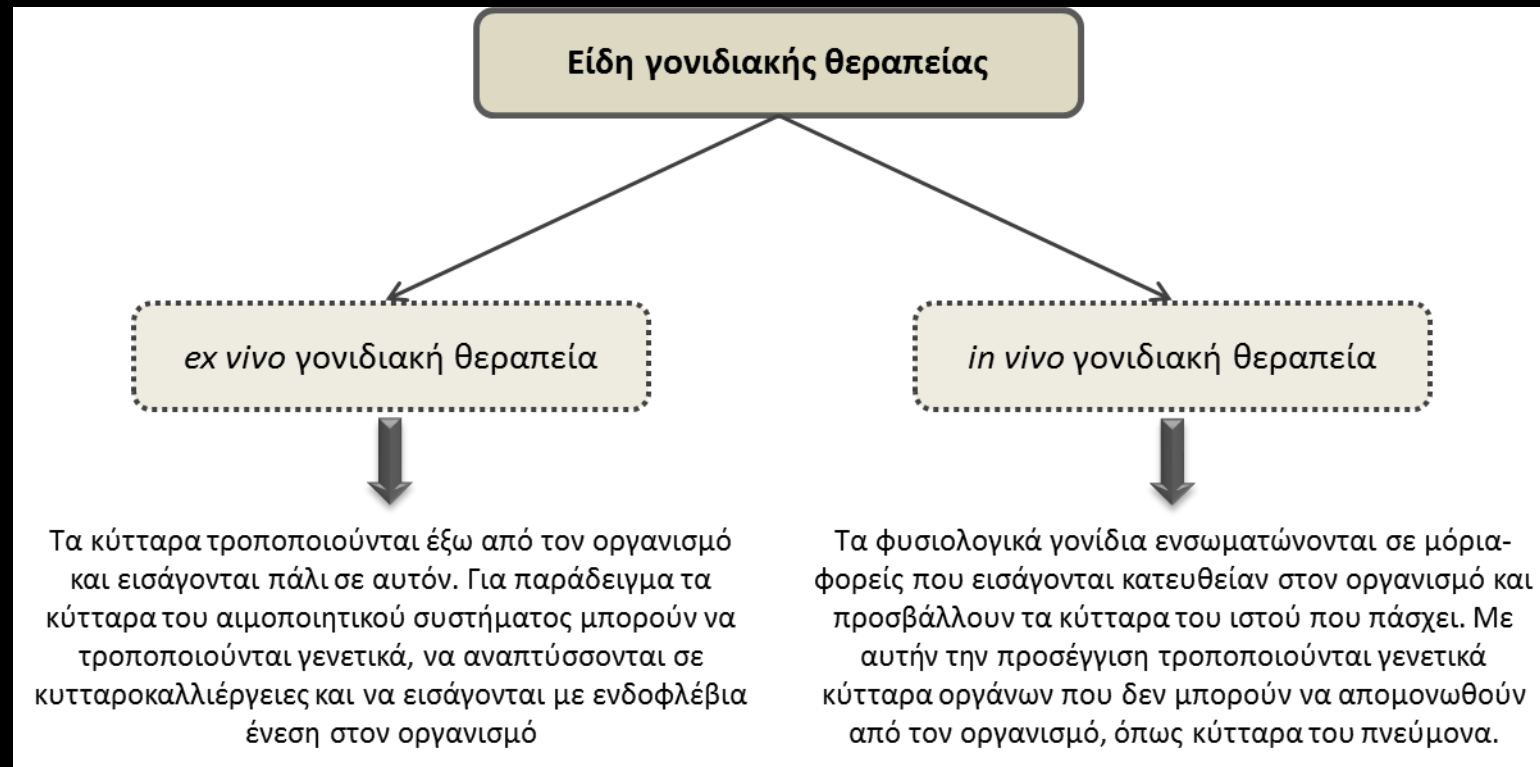


ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΜ'ΕΝΑ ΚΑΙ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΜ'ΕΝΑ ΓΟΝΊΔΙΑ

- Γονίδια για κυστική ίνωση
- Γονίδια για νόσο Huntington
- Γονίδια για μυϊκή δυστροφία Duchene

Δύο μέθοδοι γονιδιακής θεραπείας, in vivo και ex vivo





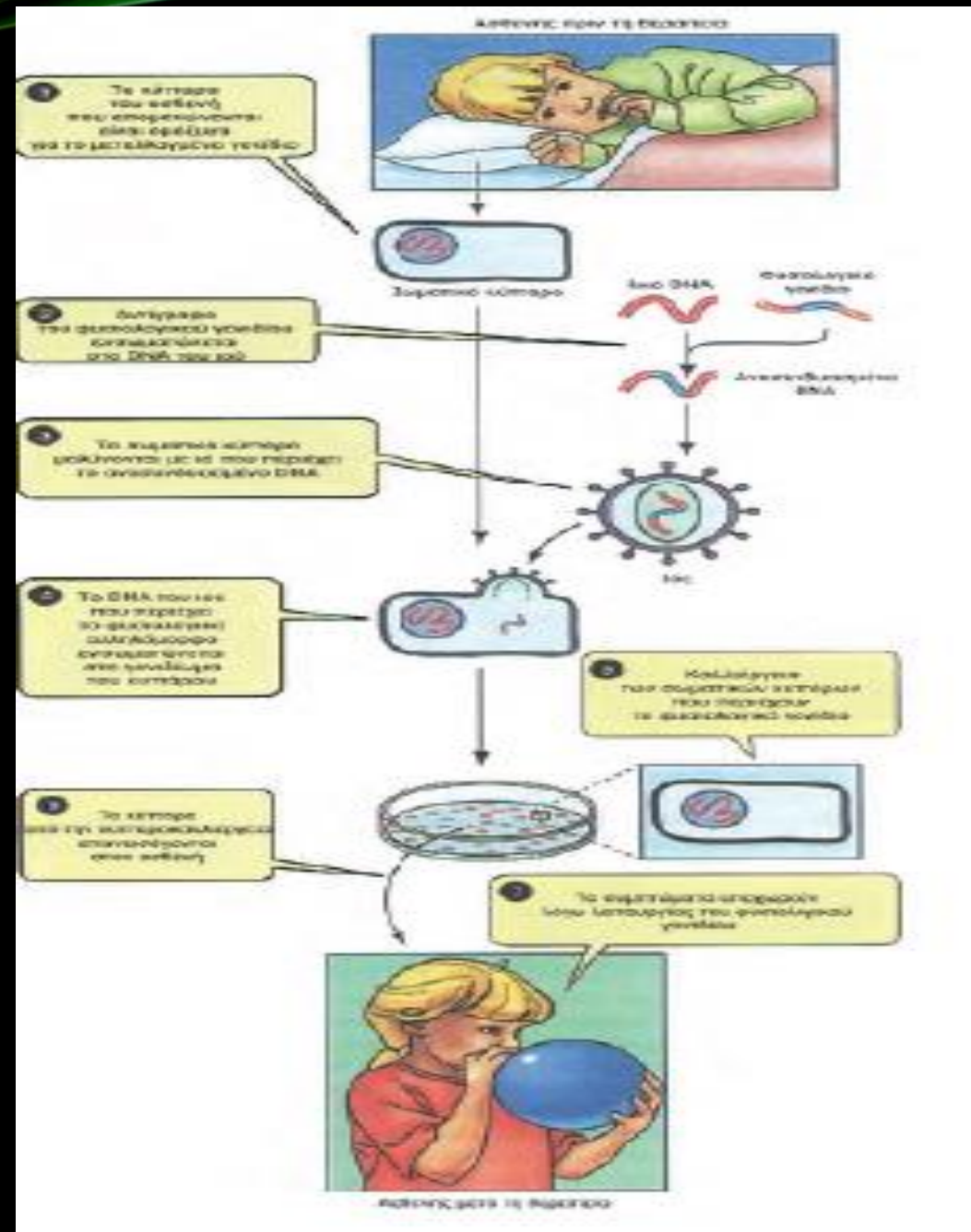
Θεραπεία για την Έλλειψη
του ενζύμου
Απαμινάση της Αδενοσίνης

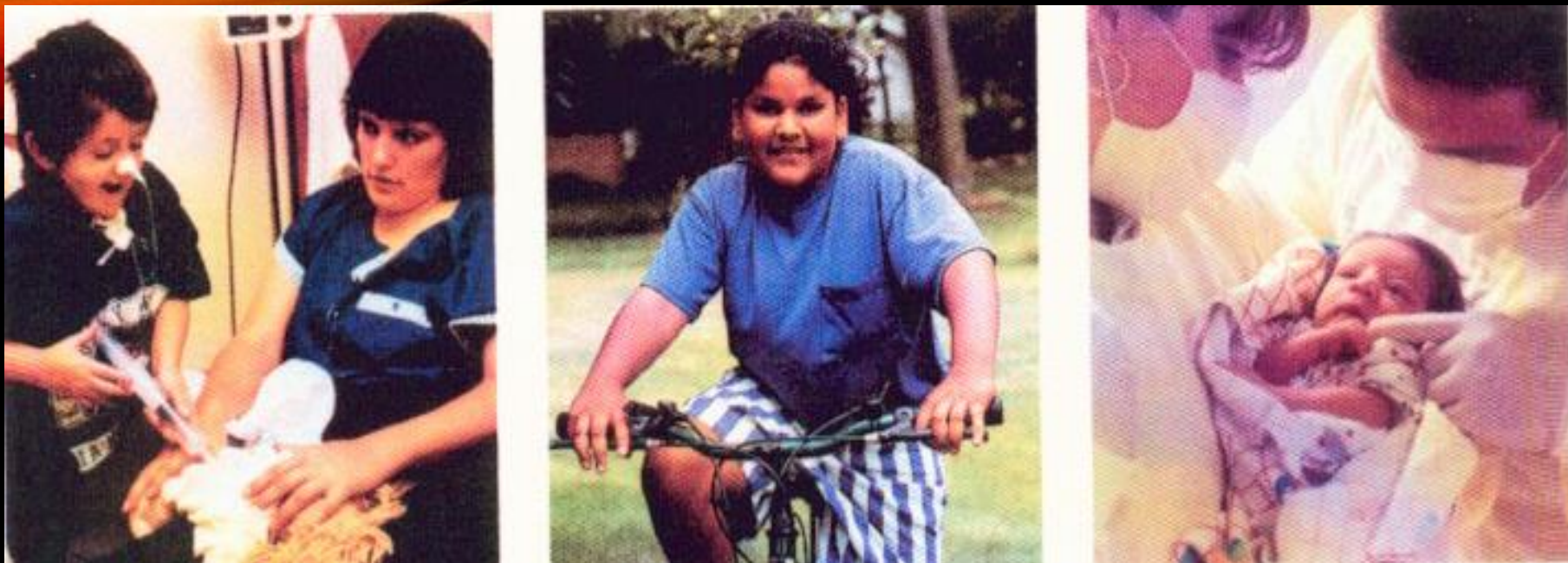
Θεραπεία της Κυστικής Ίνωσης

Photo design: Evita Athanasiou

Εξ- vivo

Γονιδιακή Θεραπεία





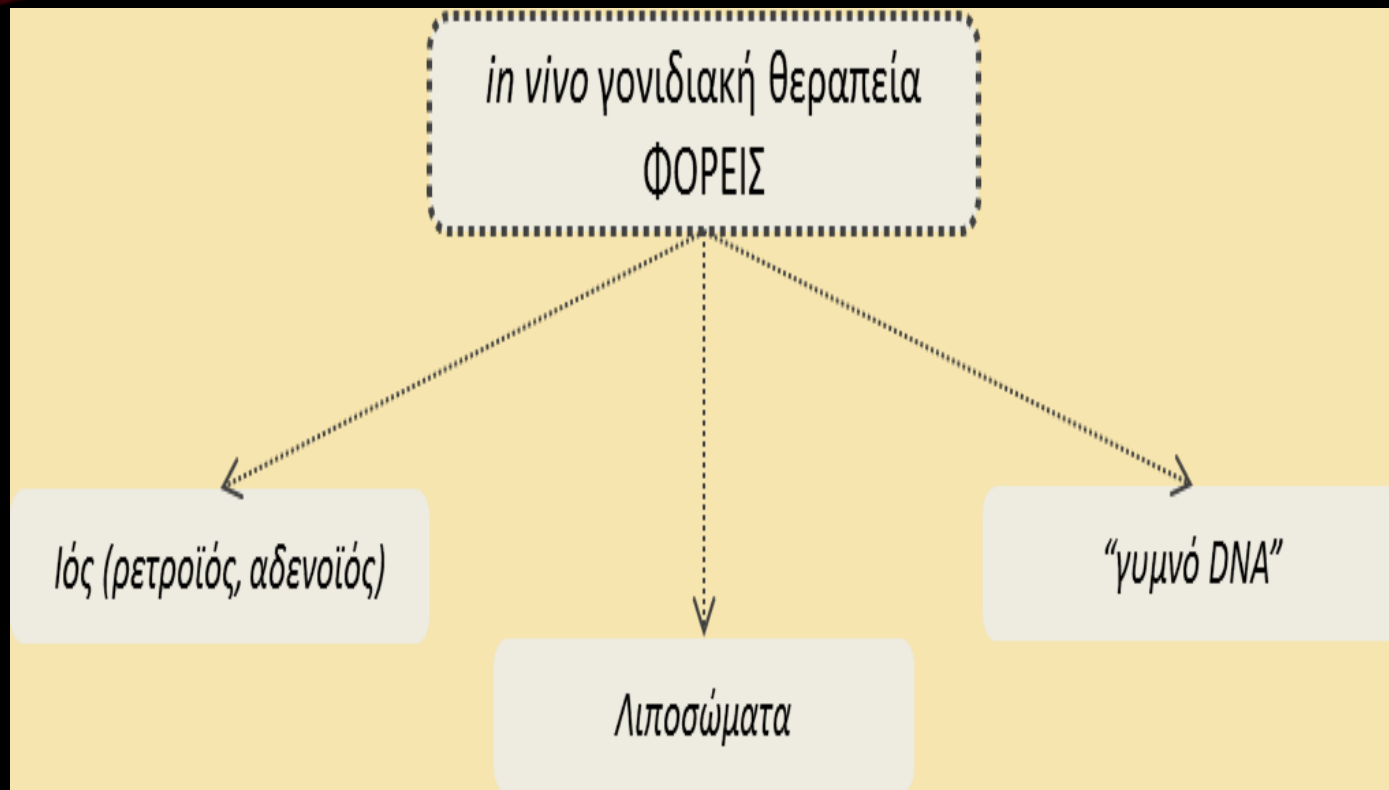
- A. Η Laura Cay Boren έπασχε από ανοσοανεπάρκεια λόγω έλλειψης του ενζύμου ADA. Ήταν το πρώτο άτομο που έκανε ένεση με PEG-ADA.
- B. Η Asanti DaSilva ήταν η πρώτη στην οποία εφαρμόστηκε η γονιδιακή θεραπεία.
- C. Το νεογέννητο Andrew Gobeia πήρε το γονίδιο ADA σε στελεχιαία κύτταρα του. Το % ποσοστό των Τ λεμφοκυττάρων που έχουν το γονίδιο στο αίμα του μεγαλώνει σταθερά. Τώρα πηγαίνει στο σχολείο.

in vivo γονιδιακή θεραπεία
ΦΟΡΕΙΣ

Ιός (ρετροϊός, αδενοϊός)

Λιποσώματα

“γυμνό DNA”



Φορείς που χρησιμοποιούνται στην Γονιδιακή Θεραπεία

Φορέας	Χαρακτηριστικά	Εφαρμογές
Ρετροϊοί	Σταθερή ενσωμάτωση στο γονιδίωμα. Έκφραση για πολύ χρόνο. Μόλυνση διαιρούμενων κυττάρων, μη τοξικοί.	Αρκετοί καρκίνοι Ασθένεια Gaucher Ασθένεια ανοσοανεπάρκειας (ADA)
Ερπητοϊός	Μόλυνση νευρικών κυττάρων. Έκφραση για πολύ χρόνο	Όγκοι εγκεφάλου
Αδενοϊοί (AV)	Μεγάλοι ιοί, μεταφέρουν μεγάλα γονίδια, παροδική έκφραση, ανοσολογική αντίδραση, μόλυνση διαιρούμενων και μη κυττάρων κυρίως στο αναπνευστικό σύστημα	Κυστική ίνωση, κληρονομικό εμφύσημα
Αδενο-συνοδεύοντες ιοί (AAV)	Ενσωμάτωση σε ειδικές θέσεις στο γονιδίωμα. Έκφραση για πολύ χρόνο. Μη τοξικοί. Μόλυνση διαιρούμενων και μη κύτταρων . Μεταφορά μικρών γονιδίων	Κυστική ίνωση, δρεπανοκυτταρική αναιμία, θαλασσαιμία

ΤΑ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

- Δεν μπορεί να γίνει σε όλες τις γενετικές ασθένειες γονιδιακή θεραπεία.
- Τα αποτελέσματα της γονιδιακής θεραπείας δεν κληρονομούνται αφού δεν αλλάζει το γενετικό υλικό των γαμετών.
- Δεν υπάρχουν φορείς (οχήματα μεταφοράς του φυσιολογικού γονιδίου) για όλα τα κύτταρα στόχους.
- Η χρήση των φορέων μπορεί να οδηγήσει σε φαινόμενα τοξικότητας.
- Η τυχαία ενσωμάτωση γενετικού υλικού στα κύτταρα στόχους μπορεί να οδηγήσει ακόμα και σε καρκίνο.

Γνώση της Ασθένειας για την εφαρμογή της Γονιδιακής Θεραπείας

- Ποιό ποσοστό των κυττάρων-στόχων πρέπει να «διορθωθούν» για να μειωθούν η να εξαλειφθούν τα συμπτώματα
 - Είναι επικίνδυνη η υπερέκφραση του θεραπευτικού γονιδίου;
 - Είναι επικίνδυνη η «διαφυγή» του θεραπευτικού γονιδίου προς άλλους ιστούς ;
 - Ποιά κύτταρα πρέπει να επιλεγθούν ;
 - Για πόσο χρόνο θα λειτουργούν τα διορθωμένα κύτταρα ;
 - Προκαλούν ανοσολογική αντίδραση τα διορθωμένα κύτταρα;
-

HUMAN GENOME PROJECT

Το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ

- Αλληλούχηση όλου του ανθρώπινου γονιδιώματος
- Χαρτογράφηση γονιδιώματος (πού ακριβώς βρίσκεται το κάθε γονίδιο)
- Έρευνα: Ποιες περιοχές του γονιδιώματος είναι γονίδια, ποιες περιοχές είναι ρυθμιστικές αλληλουχίες, τι ακριβώς κάνει η κάθε αλληλουχία
- Μελέτη των εξελικτικών σχέσεων των οργανισμών μέσω της σύγκρισης συγκεκριμένων αλληλουχιών.
- Ιατρική: Ακριβής Διάγνωση- Εξατομικευμένη Θεραπεία
- Βιοτεχνολογία : Μαζική παραγωγή προϊόντων, χρήσιμων στη φαρμακοβιομηχανία, στη γεωργία και τη κτηνοτροφία με χρήση κατάλληλων γονιδίων.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ



Η ΚΥΣΤΙΚΉ ΊΝΩΣΗ ΚΛΗΡΟΝΟΜΕΙΤΑΙ ΜΕ

- **α.** φυλοσύνδετο επικρατή τύπο κληρονομικότητας.
- **β.** φυλοσύνδετο υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.
- **γ.** αυτοσωμικό επικρατή τύπο κληρονομικότητας.
- **δ.** αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.

ΘΈΜΑ 2/ 2004

- Ποια βήματα απαιτούνται για την παραγωγή μιας
- φαρμακευτικής πρωτεΐνης ανθρώπινης προέλευσης από
- ένα διαγονιδιακό ζώο;
- Ποιος ο ρόλος των μονοκλωνικών αντισωμάτων ως
- ανοσοδιαγνωστικά;

ΘΈΜΑ: 2/ 2007

- Τι είναι και πού οφείλεται η κυστική ίνωση; (μονάδες 2) Ποια είναι η διαδικασία που εφαρμόστηκε για τη γονιδιακή θεραπεία της κυστικής ίνωσης το 1993; (μονάδες 6)

ΘΈΜΑ:2 / 2008

- Τι είναι η γονιδιακή θεραπεία και ποιος ο στόχος της;

Θ'ΕΜΑ:: 3/ 2003

- **1.** Πώς αντιμετωπίζεται η κυστική ίνωση με γονιδιακή θεραπεία;
- **Μονάδες 10**
- **2.** Άνδρας ο οποίος πάσχει από κυστική ίνωση και υποβλήθηκε σε γονιδιακή θεραπεία για τη νόσο αποκτά παιδιά με φυσιολογική γυναίκα. Τι πιθανότητες υπάρχουν να είναι τα παιδιά τους φυσιολογικά; Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας.
- **Μονάδες 15**

ΘΈΜΑ: 3 2003 ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΌ

- Η ινσουλίνη είναι μία ορμόνη απαραίτητη για την καλή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού.
- 1. Ποιος είναι ο ρόλος της ινσουλίνης στον οργανισμό μας;
- Μονάδες 5
- 2. Από τι αποτελείται το μόριο της ινσουλίνης;
- **Μονάδες 5**
- 3. Να γράψετε συνοπτικά τα στάδια παραγωγής της ανθρώπινης ινσουλίνης σε καλλιέργεια βακτηρίων.
-
- Μονάδες 15

ΘΈΜΑ:3 / 2005 ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΌ

- Η Βιοτεχνολογία με την παραγωγή μονοκλωνικών
- αντισωμάτων και τη γονιδιακή θεραπεία έχει συμβάλει
- αποτελεσματικά στην υλοποίηση των βασικών στόχων της
- Ιατρικής, μεταξύ των οποίων είναι και η αποτελεσματική
- θεραπεία ασθενειών.
- 1. Γιατί τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να
- χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία του καρκίνου
- (Μονάδες 6) και ποια είναι τα πλεονεκτήματα που
- παρουσιάζει η χρήση τους έναντι άλλων μεθόδων
- θεραπείας του (Μονάδες 2);
- Μονάδες 8
- 2. Ποια διαδικασία ακολουθείται στη γονιδιακή θεραπεία
- της ανεπάρκειας του ανοσοποιητικού συστήματος η
- οποία οφείλεται στην έλλειψη του ενζύμου απαμινάση
- της αδενοσίνης (Μονάδες 8) και τι πιθανά προβλήματα
- αντιμετωπίζουν τα άτομα που πάσχουν από τη
- συγκεκριμένη ασθένεια (Μονάδες 3);
- Μονάδες 11
- 3. Γιατί η χρήση της γονιδιακής θεραπείας θα είναι
- περιορισμένη στο άμεσο μέλλον;
- Μονάδες 6

ΘΈΜΑ: 3/ 2007

- Η Βιοτεχνολογία με την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA, τη χρήση της τεχνικής PCR και την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων συνεισφέρει σε τομείς, όπως η γεωργία, η κτηνοτροφία και η Ιατρική.
- 1. Τι επιτρέπει η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR); (μονάδες 4)
4) Να αναφέρετε τρεις πρακτικές εφαρμογές της (μονάδες 3).
-
- **Μονάδες 7**
- 2. Να περιγράψετε τη διαδικασία παραγωγής στο εργαστήριο μονοκλωνικών αντισωμάτων για ένα επιλεγμένο αντιγόνο.
- **Μονάδες 8**
- 3. Να περιγράψετε τη διαδικασία παραγωγής διαγονιδιακών φυτών, ανθεκτικών στα έντομα, με τη χρήση της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA και του βακτηρίου *Bacillus thuringiensis*.
- **Μονάδες 10**

2017

B3. Κατά την έναρξη της κύησης ο οργανισμός της εγκυμονούσας παράγει μια ειδική ορμόνη, τη χοριακή γοναδοτροπίνη. Να περιγράψετε τη διαδικασία παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε διαγνωστικούς ελέγχους (τεστ) κύησης.

Μονάδες 7