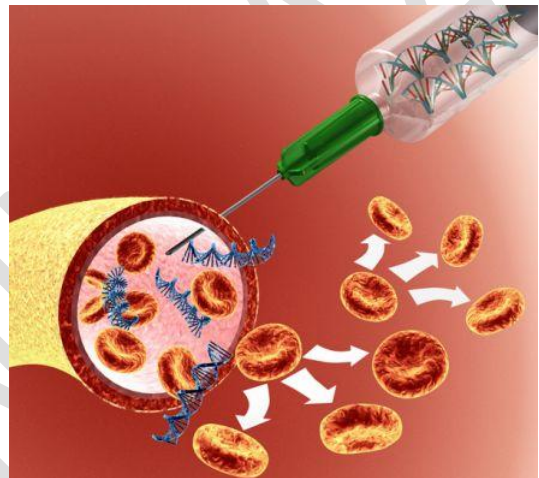
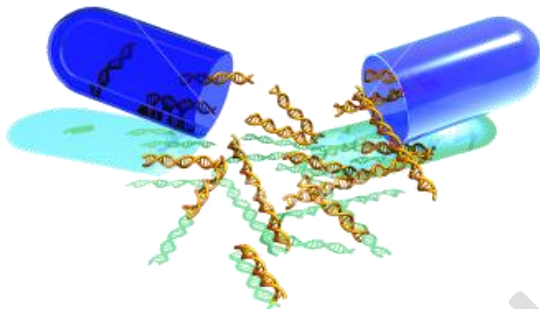


Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στην Ιατρική



8ο κεφάλαιο

Περιεχόμενα

	από σελίδα
Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στην Ιατρική (εισαγωγή)	177
• Πλήθος φαρμακευτικών πρωτεϊνών συντίθενται από Βακτήρια με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής	178
• Μονοκλωνικά αντισώματα	181
• Εμβόλια	184
• Αντιβιοτικά	186
• Γονιδιακή θεραπεία	187
• Το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος	191
Απαντημένες ερωτήσεις συνδυασμού και σύγκρισης	193

8.1 Σε ποιους βασικούς στόχους της Ιατρικής έχει συμβάλει η Βιοτεχνολογία και πώς;

- Η Βιοτεχνολογία έχει συμβάλει αποτελεσματικά σε **τρεις βασικούς στόχους** της Ιατρικής, που είναι η έγκαιρη διάγνωση μιας ασθένειας, η πρόληψη και η αποτελεσματική θεραπεία της.
- Η **έγκαιρη διάγνωση** μιας ασθένειας απαιτεί την ανάπτυξη ευαίσθητων τεχνικών που μπορούν:
 - να **εντοπίσουν την ασθένεια** στα αρχικά της στάδια, πριν να εμφανιστούν τα συμπτώματά της στον οργανισμό,
 - να **ανιχνεύσουν κάποια μόλυνση** από παθογόνους οργανισμούς ή
 - να **διαπιστώσουν** την ύπαρξη **κάποιας κληρονομικής ασθένειας**.
- Η **πρόληψη σοβαρών ασθενειών** χρειάζεται **εμβόλια** πιο εξελιγμένα, επαρκώς ασφαλή αλλά και οικονομικά προσιτά,
 - ✓ όπως για την ηπατίτιδα Β, την πολιομυελίτιδα και τη φυματίωση.
 - Επίσης, είναι πλέον επιτακτική ανάγκη η ανάπτυξη εμβολίων για την πρόληψη ασθενειών,
 - ✓ όπως το AIDS, η μηνιγγίτιδα και ο καρκίνος.
- Η **αποτελεσματική θεραπεία**:
 - **προϋποθέτει την κατανόηση**
 - ✓ των βιοχημικών μηχανισμών και
 - ✓ του γενετικού υπόβαθρου της ασθένειας.
 - **μπορεί να εφαρμοστεί**
 - ✓ είτε με φαρμακευτική αγωγή
 - ✓ είτε ακόμη και με «γενετική διόρθωση» της βλάβης.

8.2 Με ποιες τεχνικές συνεισφέρει η Βιοτεχνολογία στην Ιατρική;

- Η Βιοτεχνολογία συνεισφέρει ουσιαστικά στους παραπάνω στόχους με:
 - την ανάπτυξη της **τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA**,
 - τη χρήση:
 - ✓ της τεχνικής **PCR**, καθώς και
 - ✓ **ανιχνευτών** μορίων DNA.

8.3 Πού βρίσκουν εφαρμογή οι τεχνικές της Βιοτεχνολογίας;

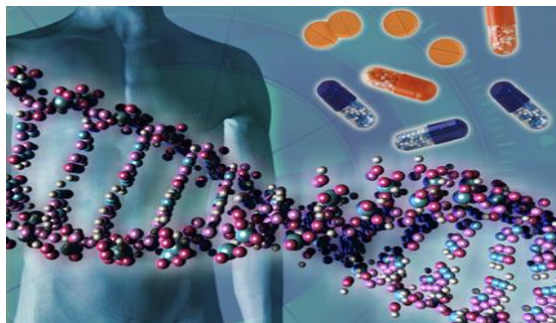
- Οι τεχνικές αυτές βρίσκουν εφαρμογή:

→ στη **βελτίωση και παραγωγή** σε ευρεία κλίμακα:

- ✓ ευαίσθητων **διαγνωστικών ουσιών**, όπως τα μονοκλωνικά αντισώματα,
- ✓ αποτελεσματικών **εμβολίων** και
- ✓ **φαρμακευτικών προϊόντων**.

→ στη **γονιδιακή θεραπεία** (που βασίζεται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA), για τη θεραπεία πολλών σοβαρών ασθενειών, όπως:

- ✓ η κυστική ίνωση,
- ✓ το σύνδρομο επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS) και
- ✓ διάφοροι τύποι καρκίνου.



Πλήθος «φαρμακευτικών» πρωτεϊνών συντίθενται από βακτήρια με μεθόδους Γενετικής

Μηχανικής

8.4 Ποια συγκριτικά στοιχεία υπάρχουν για την παραγωγή των φαρμακευτικών πρωτεϊνών πριν και μετά την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA;

- Οι φαρμακευτικές πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται για τη **θεραπεία** διαφόρων **ασθενειών***.
- **Πριν από την ανάπτυξη** της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA, για τις περισσότερες φαρμακευτικές πρωτεΐνες ίσχυε ότι:
 - ήταν διαθέσιμες σε **πολύ μικρές ποσότητες**,
 - η παραγωγή τους ήταν **πολύ ακριβή** και συχνά
 - η βιολογική δράση τους δεν ήταν πλήρως κατανοητή.
- Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA έδωσε τη δυνατότητα παραγωγής φαρμακευτικών πρωτεϊνών σε **σημαντικές ποσότητες**,
 - τόσο για τον αποτελεσματικό έλεγχο της δράσης τους
 - όσο και για ευρεία κατανάλωση.
- Σήμερα έχουν κλωνοποιηθεί ανθρώπινα γονίδια για περισσότερες από **300 φαρμακευτικές πρωτεΐνες**.
 - Μεταξύ των πρώτων μορίων που παρασκευάστηκαν είναι η ινσουλίνη, οι ιντερφερόνες και η αυξητική ορμόνη.

* κληρονομικών.

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

Πρωτεΐνη	Χρήση
α1-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 αχονδροπλασίας
Ινσουλίνη	θεραπεία του διαβήτη
Ιντερφερόνες (α,β,γ)	Αντιικοί και αντικαρκινικοί παράγοντες
Ιντερλευκίνες	θεραπεία καρκίνου και ασθενειών του ανοσοποιητικού συστήματος
Ενεργοποιητής πλασμινογόνου ιστών (tPA)	θρομβολυτικός παράγοντας
Παράγοντας νέκρωσης όγκων	Αντικαρκινικός παράγοντας

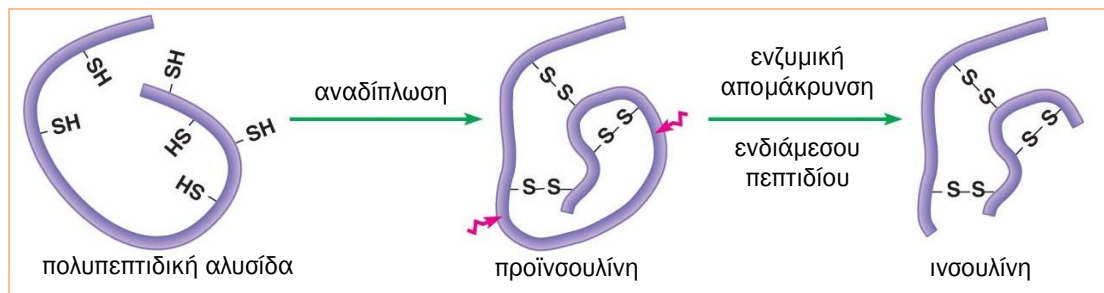
8.5 Γιατί η ινσουλίνη ήταν από τα πρώτα μόρια που παρασκευάστηκαν και πώς παραγόταν πριν την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA; ΠΕ '16

- Ο **διαβήτης** είναι μια ασθένεια που χαρακτηρίζεται από **έλλειψη ή μείωση ινσουλίνης**.
→ Υπολογίζεται ότι πάνω από 60.000.000 άτομα στον κόσμο πάσχουν από διαβήτη.
- Η ινσουλίνη χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των διαβητικών ατόμων.
→ **Πριν από το 1982** οι κύριες πηγές ινσουλίνης ήταν το **πάγκρεας** από χοίρους και από βοοειδή.
→ Η ινσουλίνη παραγόταν από την **εκχύλιση** αυτών των ιστών με μια **δαπανηρή** και **πολύπλοκη διαδικασία**.
→ Επιπλέον, επειδή είχε **μικρές διαφορές** στη **σύσταση** των **αμινοξέων** της από την ανθρώπινη, προκαλούσε **αλλεργικές αντιδράσεις**.

8.6 Τι γνωρίζετε για τη δομή και το ρόλο της ινσουλίνης; ΠΕ '05, '15

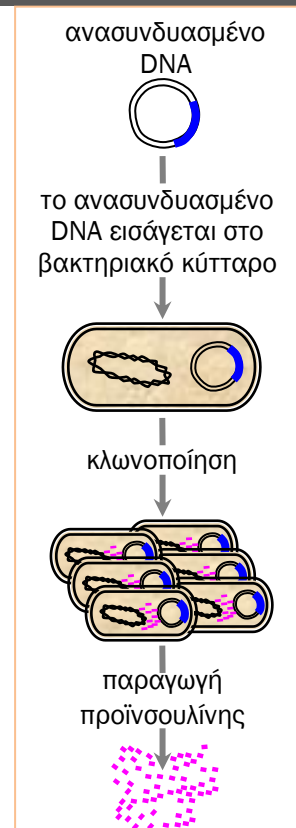
- Η ινσουλίνη:
→ είναι μια **ορμόνη***¹ που αποτελείται από **51 αμινοξέα**.
→ αποτελείται από **δύο μικρά πεπτίδια**, Α και Β, που συγκρατούνται μεταξύ τους με **δισουλφιδικούς δεσμούς**.
- Η ορμόνη αυτή:
→ **παράγεται** από **ειδικά κύτταρα** του **παγκρέατος**.
→ **ρυθμίζει**:
✓ το μεταβολισμό των υδατανθράκων και
✓ ειδικότερα το ποσοστό της γλυκόζης στο αίμα.
→ χρησιμοποιείται για τη **θεραπεία ασθενών με διαβήτη**.

- Το γονίδιο της ινσουλίνης παράγει ένα **πρόδρομο μόριο**, την **προϊνσουλίνη**, το οποίο μετατρέπεται*² τελικά σε ινσουλίνη.



8.7 Ποιες διαδικασίες περιλαμβάνει η μέθοδος παραγωγής ανθρώπινης ινσουλίνης στα βακτήρια και ποια είναι τα στάδια της μεθόδου συνοπτικά;

- Η μέθοδος:
 - οδηγεί στην παραγωγή του πρόδρομου μορίου της σε μια βακτηριακή καλλιέργεια και τη μετατροπή της σε ινσουλίνη με ενζυμική κατεργασία.
 - περιλαμβάνει:
 - ✓ την κατασκευή **cDNA βιβλιοθήκης** από τα κύτταρα του παγκρέατος που εκφράζουν το γονίδιο της ινσουλίνης και
 - ✓ την **επιλογή του κλώνου** που περιέχει το γονίδιο.
- Συνοπτικά τα στάδια κλωνοποίησης και απομόνωσης του γονιδίου της ινσουλίνης είναι:
 - **Απομόνωση** του **συνολικού mRNA**, από κύτταρα του ανθρώπινου παγκρέατος.
 - **Κατασκευή δίκλωνων μορίων DNA** και **ενσωμάτωσή τους σε πλασμίδια***³.
 - **Μετασχηματισμός** βακτηρίων με τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια και **πολλαπλασιασμός** των μετασχηματισμένων βακτηρίων σε **υγρό θρεπτικό υλικό**.
 - **Επιλογή** των **βακτηρίων** που περιέχουν το γονίδιο, το οποίο κωδικοποιεί το πρόδρομο μόριο της ινσουλίνης.
 - **Ανάπτυξη** των βακτηρίων σε **βιοαντιδραστήρα** και **παραγωγή προϊνσουλίνης**.
 - **Συλλογή** και **μετατροπή** της **προϊνσουλίνης** σε **ινσουλίνη**, με κατάλληλο **ένζυμο** που αφαιρεί το ενδιάμεσο πεπτίδιο.



*¹ πρωτεϊνικής φύσεως.

*² με ενζυμική απομάκρυνση ενδιάμεσου πεπτιδίου.

*³ ανασυνδυασμός.

8.8 Τι είναι οι ιντερφερόνες και ποιος είναι ο ρόλος τους;

ΠΕ '05

- Οι ιντερφερόνες:
 - είναι **οικογένεια συγγενών πρωτεϊνών**, που ταξινομούνται ανάλογα με τη **χημική και βιολογική ενεργότητα** τους σε τρεις ομάδες, **α, β και γ**.
 - είναι **αντιιικές πρωτεΐνες**, που παράγονται από κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιούς.
 - **επάγουν την παραγωγή άλλων πρωτεϊνών** από τα γειτονικά υγιή κύτταρα,
 - ✓ οι οποίες εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των ιών σ' αυτά.
- Οι ιντερφερόνες:
 - έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως **αντιιικοί** και πιθανόν ως **αντικαρκινικοί** παράγοντες.
 - **παράγονται σε ελάχιστες ποσότητες στο σώμα** και
 - ✓ γι' αυτό δεν ήταν ευρεία η χρήση τους στη θεραπεία ασθενειών.
 - είναι σήμερα δυνατόν, μετά την κλωνοποίηση ορισμένων γονιδίων ιντερφερονών, να παραχθούν σε μεγάλες ποσότητες, με **παρόμοια μέθοδο παραγωγής με αυτή της ινσουλίνης**.

Μονοκλωνικά αντισώματα

Ο πρωτοπόρος Γερμανός γιατρός **Ehrlich** είπε ότι, «το **ιδανικό φάρμακο** πρέπει να μπορεί να **εξουδετερώνει** τις μολύνσεις **χωρίς να προκαλεί παρενέργειες** στον οργανισμό».

Η φύση έχει φτιάξει ένα «**τέλειο φάρμακο**», τα αντισώματα.

8.9 Ποια είναι τα χαρακτηριστικά των αντισωμάτων;

- Τα αντισώματα:
 - είναι **πρωτεϊνικά μόρια**.
 - παράγονται από τα **Β-λεμφοκύτταρα** του ανοσοποιητικού μας συστήματος,
 - ✓ όταν ένα αντιγόνο (παθογόνος μικροοργανισμός, ιός ή ξένο υλικό) προσβάλλει τον οργανισμό.
 - **αντιδρούν με το αντιγόνο** και το εξουδετερώνουν.

8.10 Ποια αντισώματα ονομάζονται μονοκλωνικά;

ΠΕ '16

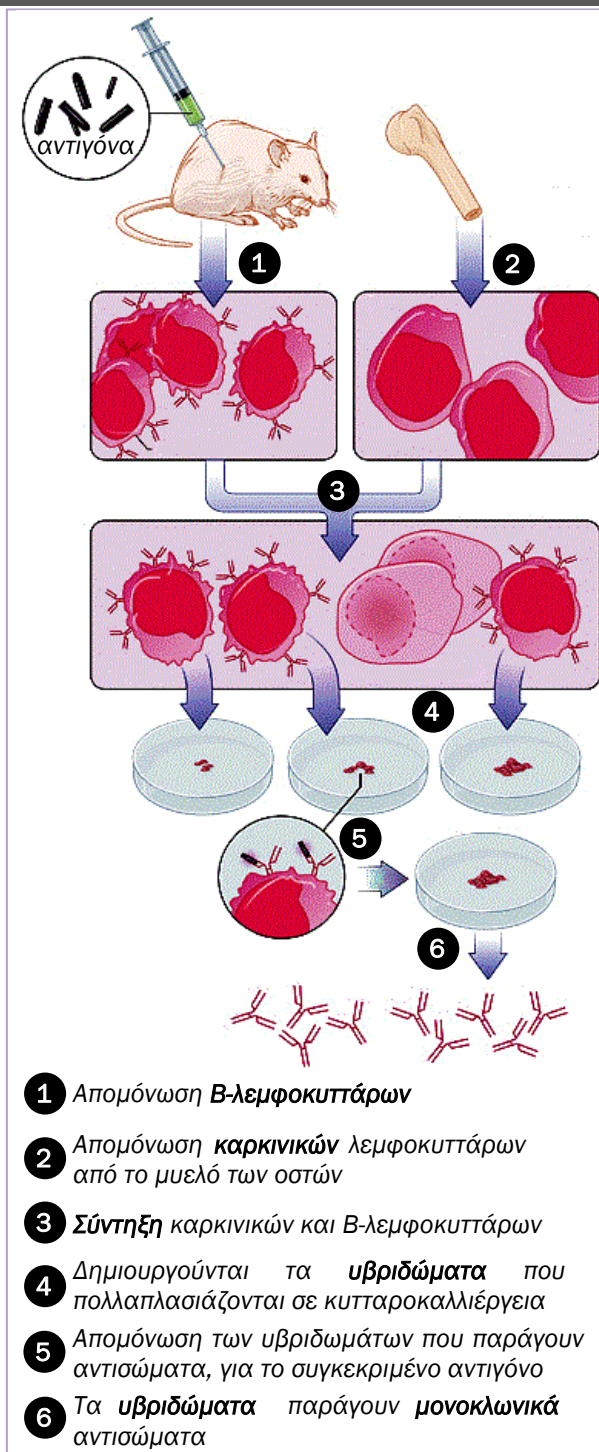
- Ο οργανισμός μας είναι ικανός να παράγει αντισώματα εναντίον κάθε ξένου αντιγόνου.
- Ένα αντίσωμα αναγνωρίζει μόνο μια **περιοχή του αντιγόνου (αντιγονικός καθοριστής)**.
 - Ένα μεγάλο **αντιγόνο** π.χ. ένας μικροοργανισμός, έχει πολλούς αντιγονικούς καθοριστές, γι' αυτό παράγονται πολλά είδη αντισωμάτων εναντίον του.

- Κάθε είδος αντισώματος που αναγνωρίζει έναν αντιγονικό καθοριστή παράγεται από μια ομάδα ίδιων Β-λεμφοκυττάρων, που αποτελούν έναν κλώνο.
- Τα αντισώματα που παράγονται από έναν κλώνο Β-λεμφοκυττάρων ονομάζονται μονοκλωνικά.

8.11 Περιγράψτε την τεχνική παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων.

ΠΕ '00, '07, '10, '17

- **Χορήγηση** επιλεγμένου αντιγόνου σε ποντίκι με ένεση.
 - Προκαλεί ανοσολογική αντίδραση και παραγωγή αντισωμάτων από εξειδικευμένα Β-λεμφοκύτταρα.
- **Αφαίρεση σπλήνα** μετά από δυο εβδομάδες και απομόνωση Β-λεμφοκυττάρων.
 - Τα Β-λεμφοκύτταρα δεν επιβιώνουν πολύ έξω από το σώμα και δεν διατηρούνται σε κυτταροκαλλιέργειες. Το πρόβλημα αυτό λύνεται με το ακόλουθο βήμα.
- **Σύντηξη Β-λεμφοκυττάρων με καρκινικά κύτταρα.**
- Παραγωγή υβριδικών κυττάρων που ονομάζονται **υβριδώματα**,
 - τα οποία παράγουν μεγάλες ποσότητες ενός μονοκλωνικού αντισώματος.
- **Φύλαξη** των υβριδωμάτων επί μακρόν στην κατάψυξη (-80°C) και
 - παραγωγή οποιαδήποτε στιγμή του συγκεκριμένου μονοκλωνικού αντισώματος σε μεγάλες ποσότητες.



8.12 Πού χρησιμοποιούνται τα μονοκλωνικά αντισώματα;

- Ως **διαγνωστικά** για την ανίχνευση*¹ ασθενειών.
- Ως **εξειδικευμένα φάρμακα***² εναντίον παθογόνων μικροοργανισμών ή ακόμη και εναντίον καρκινικών κυττάρων.
- Για την **επιλογή οργάνων συμβατών για μεταμόσχευση**.

*¹ Δεν ανιχνεύονται οι ασθένειες, αλλά οι μικροοργανισμοί ή οι τοξίνες τους, που τις προκαλούν.

*² Χρησιμοποιούνται ως μεταφορείς εξειδικευμένων φαρμάκων.

8.13 Ποιες είναι οι εφαρμογές των μονοκλωνικών αντισωμάτων ως ανοσοδιαγνωστικά; ΠΕ '04

- **Μπορούν να ανιχνεύσουν** επειδή αναγνωρίζουν ειδικά έναν αντιγονικό καθοριστή, στα υγρά του σώματος (αίμα, ούρα κ.ά.):
 - **ουσίες** υπεύθυνες για ποικίλες ασθένειες,
 - **παθογόνους μικροοργανισμούς**,
 - τη **διακύμανση της συγκέντρωσης** διαφόρων προϊόντων του μεταβολισμού, η οποία μπορεί να **προοιωνίζει** την πιθανότητα εμφάνισης κάποιας ασθένειας.
- Η τεχνική ανίχνευσης είναι **γρήγορη, απλή, ευαίσθητη, ακριβής** και **επιτρέπει τη διάγνωση** ασθενειών στα πολύ αρχικά στάδιά τους δηλαδή πριν εμφανιστούν τα συμπτώματα.
- **Συνεισφέρουν** στην αύξηση της ευαισθησίας **κλινικών δοκιμασιών**, όπως:
 - η τυποποίηση (προσδιορισμός) των ομάδων αίματος,
 - η εξακρίβωση μιας πιθανής κύησης.
 - ✓ Στην τελευταία περίπτωση έχουν κατασκευαστεί ειδικά ανοσοδιαγνωστικά τεστ, τα οποία περιέχουν μονοκλωνικά αντισώματα για ειδικές ορμόνες που παράγονται κατά την κύηση.

8.14 Ποιες είναι οι εφαρμογές των μονοκλωνικών αντισωμάτων ως θεραπευτικά κατά του καρκίνου και σε τι πλεονεκτούν; ΠΕ '09

- Τα αντισώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θεραπευτικά. Η πιο ενδιαφέρουσα εφαρμογή τους αφορά τη θεραπεία του καρκίνου.
- Τα καρκινικά κύτταρα έχουν στην εξωτερική τους επιφάνεια μεγάλη ποικιλία αντιγόνων, που δεν υπάρχουν στα φυσιολογικά κύτταρα, και ονομάζονται **καρκινικά αντιγόνα**.
 - Έτσι μπορούν να κατασκευαστούν μονοκλωνικά αντισώματα εναντίον αυτών των αντιγόνων.
 - ✓ Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι πολύ ειδικά μόνο για τα καρκινικά κύτταρα και μπορούν να γίνουν «**μεταφορείς**» **ισχυρών αντικαρκινικών φαρμάκων**.

→ Όταν εισαχθούν στον οργανισμό, βρίσκουν και προσβάλλουν τους **καρκίνους-στόχους**.

- ✓ Τα αντικαρκινικά φάρμακα, που είναι συνδεδεμένα με τα αντισώματα, δρουν κατευθείαν στα καρκινικά κύτταρα και τα καταστρέφουν.

- Επιτρέπουν έτσι τη θεραπεία με αποφυγή:
 - της χειρουργικής επέμβασης και
 - των δυσάρεστων επιπτώσεων της χημειοθεραπείας.



8.15 Ποιες είναι οι εφαρμογές των μονοκλωνικών αντισωμάτων στην επιλογή οργάνων συμβατών για μεταμόσχευση;

ΠΕ '12

- Τα κύτταρα των οργάνων έχουν στην επιφάνειά τους ειδικά **αντιγόνα επιφανείας**, που αναγνωρίζονται από ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα.
- Με τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορεί να γίνει **έλεγχος των οργάνων δωρητών**, για να διαπιστωθεί αν ταιριάζουν με τα αντίστοιχα με των ασθενών.
- Έτσι, είναι δυνατόν να **αποφευχθεί η απόρριψη μοσχεύματος** και οι μεταμοσχεύσεις είναι επιτυχείς.

Εμβόλια

8.16 Από τι αποτελούνται τα εμβόλια και πώς παράγονται;

- Τα εμβόλια αποτελούνται από **νεκρές** ή από **εξασθενημένες** μορφές ενός παθογόνου μικροοργανισμού.
- Για το σκοπό αυτό, ο παθογόνος μικροοργανισμός
 - αναπτύσσεται σε κυτταροκαλλιέργεια,
 - απομονώνεται και
 - είτε **νεκρώνεται** είτε **απενεργοποιείται** (γίνεται μη μολυσματικός), χωρίς βέβαια να χάνει την ικανότητά του να προκαλεί ενεργητική ανοσία.

8.17 Ποια μειονεκτήματα υπάρχουν στην παραγωγή εμβολίων με τον κλασσικό τρόπο;

Μολονότι έχουν παραχθεί αποτελεσματικά εμβόλια για μια σειρά από ασθένειες όπως η διφθερίτιδα, ο τέτανος, η ευλογιά και η πολιομυελίτιδα, υπάρχουν πολλά μειονεκτήματα στην παραγωγή εμβολίων με τον παραπάνω τρόπο.

Τα μειονεκτήματα αυτά είναι:

- **Δεν μπορούν όλοι οι μολυσματικοί παράγοντες να αναπτυχθούν σε κυτταροκαλλιέργεια** και έτσι δεν έχουν αναπτυχθεί εμβόλια για πολλές ασθένειες.

- **Ορισμένοι ιοί των ζώων αναπτύσσονται με αργό ρυθμό** σε κυτταροκαλλιέργειες και συνεπώς η απόδοσή τους είναι πολύ χαμηλή, άρα και τα εμβόλια γίνονται πολύ ακριβά.
- Χρειάζονται **μεγάλες προφυλάξεις**, για να μην εκτεθεί το προσωπικό που κατασκευάζει τα εμβόλια στον παθογόνο παράγοντα.
- **Δεν είναι όλα τα εμβόλια αποτελεσματικά** για μια ασθένεια π.χ. για τον ιό του AIDS γίνονται συνεχείς ανεπιτυχείς προσπάθειες κατασκευής εμβολίου.

8.18 Πώς συνέβαλε η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA στην παραγωγή εμβολίων νέας γενιάς και ποια είναι τα σημαντικότερα είδη;

- Την τελευταία δεκαετία η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA έδωσε τη δυνατότητα ανάπτυξης μιας νέας γενιάς εμβολίων που υπερνικούν τα μειονεκτήματα των παραδοσιακών.
Η **κλωνοποίηση των γονιδίων** έδωσε τη δυνατότητα ανάπτυξης νέων στρατηγικών για την **πρόκληση ισχυρής ενεργητικής ανοσίας** εναντίον του παθογόνου παράγοντα.
- Τα σημαντικότερα είδη εμβολίων που παράγονται με βιοτεχνολογικές μεθόδους είναι τα
 - **εμβόλια-υπομονάδες,**
 - **εμβόλια από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς** και
 - **εμβόλια γυμνού DNA.**

8.19 Πού στηρίχθηκε η παραγωγή των εμβολίων-υπομονάδων και πώς παράγονται;

- Η παραγωγή των εμβολίων-υπομονάδων στηρίχθηκε στο γεγονός ότι **όλα τα συστατικά ενός παθογόνου μικροοργανισμού δεν είναι απαραίτητα για την πρόκληση της ανοσολογικής αντίδρασης** στον οργανισμό που θα προσβάλουν. Συνήθως, **μόνο ορισμένες πρωτεΐνες επιφάνειας έχουν αντιγονική ιδιότητα**. Τα εμβόλια-υπομονάδες στηρίζονται στην παραγωγή μόνο αυτών των συστατικών.
- Έτσι, **γονίδια του παθογόνου μικροοργανισμού που κωδικοποιούν την πρωτεΐνη** με την αντιγονική δράση **εισάγονται σε κύτταρα** που αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες και **παράγουν την πρωτεΐνη** αυτή σε μεγάλες ποσότητες. Στη συνέχεια, η πρωτεΐνη καθαρίζεται και χρησιμοποιείται ως εμβόλιο.

8.20 Πώς παράγονται εμβόλια από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς;

Ένας άλλος τύπος εμβολίων είναι τα εμβόλια από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς.

- Στην περίπτωση αυτή **γονίδια από επικίνδυνο ιό ή άλλο μικροοργανισμό ενσωματώνονται σε άλλο ιό**, που είναι αβλαβής για τον άνθρωπο, όπως ο ιός της δαμαλίτιδας.
- Ο γενετικά τροποποιημένος ιός που προκύπτει εξακολουθεί να είναι αβλαβής, αλλά επειδή **παράγει την αντιγονική πρωτεΐνη** του ιού ή του μικροοργανισμού, εισάγεται στο σώμα και προκαλεί έντονη ανοσολογική αντίδραση

Αντιβιοτικά

8.21 Τι είναι τα αντιβιοτικά, ποιος είναι ο ρόλος τους, πώς παράγονται ποια είναι η συμβολή τους στην υγεία;

- Τα αντιβιοτικά είναι **χημικές ουσίες** που παράγονται από μικροοργανισμούς και θανατώνουν άλλους μικροοργανισμούς ή αναστέλλουν την ανάπτυξη τους.
→ Είναι προϊόντα του μεταβολισμού τους και σήμερα ορισμένα από αυτά παράγονται σε μεγάλες ποσότητες σε βιοαντιδραστήρες.
- Πολλά αντιβιοτικά μπορούν να **συντεθούν και χημικά**, αλλά η διαδικασία είναι τόσο **ακριβή** και **επίπονη** που δεν μπορεί να συγκριθεί σε κόστος με την παραγωγή από βακτήρια και από μύκητες.
- Η παγκόσμια χρήση των αντιβιοτικών για την καταπολέμηση των μικροβίων έχει βελτιώσει σημαντικά την υγεία των ανθρώπων και αναμφίβολα έχει σώσει εκατομμύρια ανθρώπινες ζωές.

8.22 Ποια προσπάθεια γίνεται για την απομόνωση αντιβιοτικών από μικροοργανισμούς;

- Έως σήμερα έχουν απομονωθεί από διάφορους μικροοργανισμούς, **περισσότερα από 8.000** αντιβιοτικά με ποικίλους τρόπους δράσης.
→ Η πλειονότητα των πιο σημαντικών αντιβιοτικών έχουν απομονωθεί από το **βακτήριο του εδάφους**, γένους *Streptomyces*, μολονότι και άλλα βακτήρια καθώς και μύκητες είναι πηγές αντιβιοτικών.
- Υπολογίζεται ότι αρκετές εκατοντάδες νέα αντιβιοτικά ανακαλύπτονται κάθε χρόνο ύστερα από εντατική έρευνα κατά την οποία ελέγχονται πολλές χιλιάδες διαφορετικοί μικροοργανισμοί, για να βρεθούν εκείνοι που παράγουν νέα αντιβιοτικά.

8.23 Με ποιο στόχο εφαρμόζεται η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA στην παραγωγή των εμβολίων;

Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA άρχισε πρόσφατα να εφαρμόζεται με στόχο:

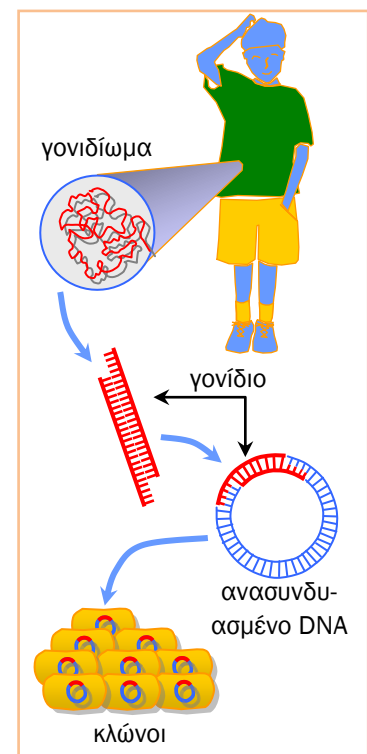
- Την **κλωνοποίηση όλων των γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα** απαραίτητα για τη βιοσύνθεση ενός αντιβιοτικού.
- Την ανάπτυξη **αντιβιοτικών με ισχυρότερη δράση** εναντίον ορισμένων μικροβίων και με **λιγότερες παρενέργειες**.
- Την κατασκευή **γενετικά τροποποιημένων μικροοργανισμών** με στόχο τη **μεγαλύτερη απόδοση στην παραγωγή αντιβιοτικών**.

Γονιδιακή θεραπεία**8.24 Πού οφείλονται οι γενετικές ασθένειες και τι προκαλούν;**

- Περισσότερες από **4.000** ασθένειες οφείλονται σε **γονιδιακές μεταλλάξεις** και πολλές από αυτές εμφανίζονται στις μεγάλες ηλικίες.
- **Οφείλονται:**
 - μερικές σε ένα μόνο γονίδιο,
 - άλλες σε αλληλεπίδραση δυο ή περισσότερων γονιδίων,
 - πολλές σε συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως η ακτινοβολία και οι χημικές ουσίες.
- **Προκαλούν:**
 - **δυσμορφίες**, σχεδόν όλες.
 - **διανοητική καθυστέρηση**, το 80% όλων.
 - **θάνατο** στην παιδική ηλικία, το 1/5.

8.25 Πού οδήγησε η χρήση της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA σε συνδυασμό με την παραδοσιακή Γενετική (γενεαλογικά δένδρα);

- Έως πρόσφατα η μοριακή βάση των ασθενειών αυτών δεν ήταν γνωστή.
- Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA σε συνδυασμό με τις μεθόδους της παραδοσιακής Γενετικής (γενεαλογικά δένδρα) οδήγησε:
 - στον **εντοπισμό** της θέσης στα χρωμοσώματα (χαρτογράφηση) πολλών **μεταλλαγμένων γονιδίων**, που προκαλούν τις αντίστοιχες ασθένειες.
 - στην **κλωνοποίηση** ορισμένων μεταλλαγμένων **γονιδίων** και σύγκριση με τα φυσιολογικά τους, για να εξακριβωθεί το είδος των μεταλλάξεων:
- Η **χαρτογράφηση** όλων των γονιδίων στα χρωμοσώματα είναι ένας από τους κύριους στόχους του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος.
 - Σήμερα έχουν χαρτογραφηθεί και κλωνοποιηθεί τα γονίδια των οποίων οι μεταλλάξεις είναι υπεύθυνες για ασθένειες όπως
 - ✓ η κυστική ίνωση,
 - ✓ η ασθένεια του Huntington και
 - ✓ η μυϊκή δυστροφία Duchenne.



8.26 Ποιος είναι ο στόχος, οι προϋποθέσεις και οι περιορισμοί της γονιδιακής θεραπείας ΠΕ '19

- Η δυνατότητα ανάπτυξης θεραπείας που στηρίζεται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA ονομάζεται γονιδιακή θεραπεία.
- Έχει σαν στόχο να «διορθώσει» τη **γενετική βλάβη** εισάγοντας στους ασθενείς **φυσιολογικά αλληλόμορφα** του μεταλλαγμένου γονιδίου.
- Απαραίτητη προϋπόθεση για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας είναι:
 - η **κλωνοποίηση** του **υπεύθυνου γονιδίου** και
 - ο **προσδιορισμός των κυττάρων** που εμφανίζουν τη **βλάβη** από την ασθένεια.
- Περιορισμοί:
 - **Ενσωμάτωση** του φυσιολογικού γονιδίου στο γονιδίωμα συγκεκριμένων σωματικών κυττάρων και **όχι αντικατάσταση** του μεταλλαγμένου γονιδίου.
 - **Δεν μεταβιβάζεται** στους απογόνους.
 - Βλέπε ερωτήσεις 8.28 & 8.32

8.27 Πού οφείλεται η κληρονομική ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος και ποια είναι τα χαρακτηριστικά των ασθενών; ΠΕ '01

- Η ασθένεια οφείλεται στην **έλλειψη** του **ενζύμου απαμινάση** της **αδενοσίνης (ADA)**, που
 - παίρνει μέρος στο **μεταβολισμό των πουρινών***¹ στα κύτταρα*² του **μυελού των οστών**.
- Η έλλειψη οφείλεται σε **μετάλλαξη του γονιδίου** που παράγει το ένζυμο αυτό.
- Η ασθένεια εμφανίζει **αυτοσωμικό υπολειπόμενο** τύπο κληρονομικότητας.
- Οι ασθενείς:
 - πάσχουν από **χρόνιες μολύνσεις**,
 - έχουν προδιάθεση **για ανάπτυξη καρκίνου σε πολύ μικρή ηλικία**
 - και **πολλοί πεθαίνουν** ύστερα από λίγους μήνες ζωής.

**8.28 Περιγράψτε την ex vivo διαδικασία γονιδιακής θεραπείας της ADA και τους περιορισμούς της. ΠΕ '01, '13**

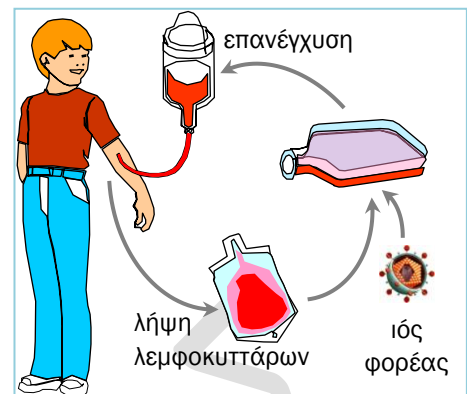
- Είναι γνωστή η περίπτωση ενός παιδιού που έζησε εννέα χρόνια σε έναν πλαστικό θάλαμο, για να εμποδιστεί η επαφή του με ιούς, επειδή το ανοσοποιητικό του σύστημα δεν μπορούσε να τους καταπολεμήσει.
- Η διαδικασία είναι η εξής:
 - **Λήψη** και **πολλαπλασιασμός λεμφοκυττάρων***³ του παιδιού σε **κυτταροκαλλιέργειες**.

*1 Αδενίνη και γουανίνη.

*2 Κύτταρα στόχος για in vivo γονιδιακή θεραπεία.

*3 Κύτταρα στόχος για ex vivo γονιδιακή θεραπεία.

- **Ενσωμάτωση** του φυσιολογικού γονιδίου της ADA σε **ιό-φορέα** (που έχει καταστεί **αβλαβής**) με τις τεχνικές του ανασυνδυασμένου DNA.
- **Εισαγωγή** του **γενετικά τροποποιημένου** ιού στα λεμφοκύτταρα.
- Εισαγωγή των γενετικά τροποποιημένων λεμφοκυττάρων στο παιδί με **ενδοφλέβια ένεση** και παραγωγή του ενζύμου ADA.



→ **Περιορισμοί:**

- ✓ Τα τροποποιημένα λεμφοκύτταρα δεν ζουν για πάντα -δηλαδή η θεραπεία δεν είναι μόνιμη- και **χρειάζεται συνεχής έγχυση** τέτοιων κυττάρων. Όμως, όπως στην περίπτωση των διαβητικών, τα άτομα μπορούν να ζουν φυσιολογικά, κάνοντας σε κανονικά χρονικά διαστήματα αυτή τη θεραπεία.
- Ο τύπος αυτός της γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται **ex vivo**, γιατί τα κύτταρα τροποποιούνται έξω από τον οργανισμό και εισάγονται πάλι σ' αυτόν.
- Τα **κύτταρα** του **αιμοποιητικού συστήματος** μπορούν να τροποποιούνται γενετικά, να αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες και να εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση στον οργανισμό.

8.29 Τι γίνεται όμως αν πρέπει να τροποποιηθούν κύτταρα ενός άλλου οργάνου όπως ο πνεύμονας και όχι κύτταρα του αιμοποιητικού;

- Ο Anderson και οι συνεργάτες του πρότειναν μια άλλη προσέγγιση.
 - Ανέπτυξαν «**έξυπνους**» **φορείς**, οι οποίοι προσβάλλουν τα κύτταρα του ιστού που πάσχει.
 - Συγκεκριμένα, τα φυσιολογικά γονίδια ενσωματώνονται σε **μόρια-φορείς**, που εισάγονται κατευθείαν στον οργανισμό.
 - Το είδος αυτό της γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται **in vivo** και εφαρμόστηκε για τη θεραπεία της κυστικής ίνωσης το 1993.

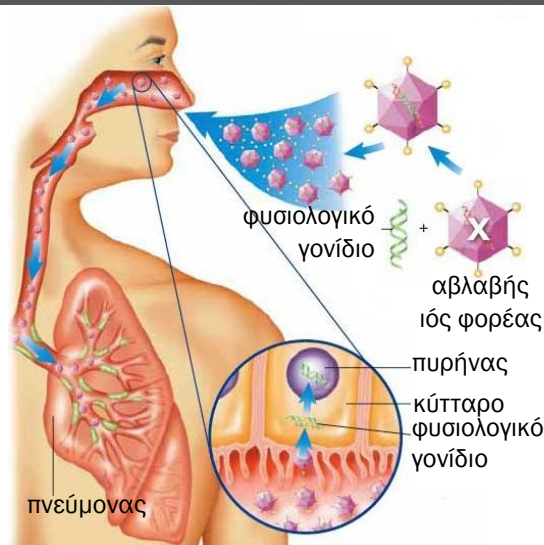
8.30 Πού οφείλεται η κυστική ίνωση και ποια είναι τα χαρακτηριστικά της;

- Οφείλεται σε **μεταλλάξεις ενός γονιδίου**, το οποίο κωδικοποιεί μια **πρωτεΐνη**, που είναι απαραίτητη για τη σωστή λειτουργία των **επιθηλιακών κυττάρων** των πνευμόνων.
- Η ασθένεια:
 - παρουσιάζει **υπολειπόμενη αυτοσωμική κληρονομικότητα** και
 - επηρεάζει κύρια τη λειτουργία των πνευμόνων.

8.31 Περιγράψτε την *in vivo* διαδικασία γονιδιακής θεραπείας της κυστικής ίνωσης.

ΠΕ '03

- Το φυσιολογικό γονίδιο ενσωματώθηκε αρχικά σε έναν **αδενοϊό**.
- Ο ανασυνδυασμένος ιός:
 - **εισήλθε** στον οργανισμό με **ψεκασμό** με τη βοήθεια **βρογχοσκοπίου** και
 - **μόλυνε** τα κύτταρα του αναπνευστικού συστήματος.
- Μετά την εισαγωγή του στα κύτταρα, το φυσιολογικό γονίδιο:
 - **ενσωματώθηκε** στο γονιδίωμά τους και
 - **παρήγαγε** το φυσιολογικό προϊόν.



8.32 Γιατί η χρήση της γονιδιακής θεραπείας θα είναι περιορισμένη στο άμεσο μέλλον;

- Έως πρόσφατα η πιθανότητα επιτυχούς γονιδιακής θεραπείας ανήκε στη σφαίρα της επιστημονικής φαντασίας. Με τον προσδιορισμό γονιδίων που είναι υπεύθυνα για γενετικές ασθένειες και την εύρεση της αλληλουχίας τους δημιουργούνται νέες προοπτικές για τη γονιδιακή θεραπεία πολλών ασθενειών.
- Είναι βασικό να τονιστεί ότι παρόλο που η γονιδιακή θεραπεία παρουσιάζεται ως πανάκεια στην Ιατρική, η εφαρμογή της, τουλάχιστον στο άμεσο μέλλον, θα είναι περιορισμένη επειδή δεν έχουν ακόμη ξεπεραστεί **προβλήματα**, όπως αυτά που αφορούν τη **χρήση των φορέων**.
 - Στις περισσότερες περιπτώσεις ως φορείς χρησιμοποιούνται ιοί, οι οποίοι, αν και καθίστανται αβλαβείς, έχουν μικρή πιθανότητα να προκαλέσουν:
 - ✓ **παρενέργειες** και σε ορισμένες περιπτώσεις
 - ✓ **καρκίνο**.
- Έτσι λοιπόν η **ανάπτυξη πιο κατάλληλων φορέων** είναι ο επόμενος στόχος για τη βελτίωση των μεθόδων της γονιδιακής θεραπείας.

Το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος**8.33 Σε τι πιστεύεται ότι θα μας βοηθήσει η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας βάσεων του DNA και πότε ξεκίνησε αυτή;**

- Το ανθρώπινο γονιδίωμα* αποτελείται από 3×10^9 ζεύγη βάσεων DNA, το οποίο κατανέμεται σε χρωμοσώματα.
- Η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας βάσεων του DNA πιστεύεται ότι θα μας βοηθήσει να κατανοήσουμε **πώς έχει «κατασκευαστεί» και λειτουργεί** ο ανθρώπινος οργανισμός.
- Για το σκοπό αυτό το 1986 ξεκίνησε μια διεθνής συνεργασία με σκοπό:
 - τη **χαρτογράφηση**, δηλαδή τον εντοπισμό της θέσης των **γονιδίων** στα χρωμοσώματα, και
 - τον **προσδιορισμό της αλληλουχίας** των βάσεων του DNA στο ανθρώπινο γονιδίωμα.
- Το πρόγραμμα, που φυσικά απαιτούσε τη συμβολή πολλών ερευνητών και γενναία χρηματοδότηση, ξεκίνησε το 1990 υπό την αιγίδα του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας και του Τμήματος Ατομικής Ενέργειας των ΗΠΑ.
 - Αρχικά υπήρχε η εκτίμηση ότι το πρόγραμμα θα ολοκληρωνόταν το 2005, όμως, χάρη στην αυτοματοποίηση των εργαστηριακών μεθόδων και την ανάπτυξη της πληροφορικής, ολοκληρώθηκε το 2001.

* Αναφέρεται στο απλοειδές γονιδίωμα ενός φυσιολογικού γαμέτη.

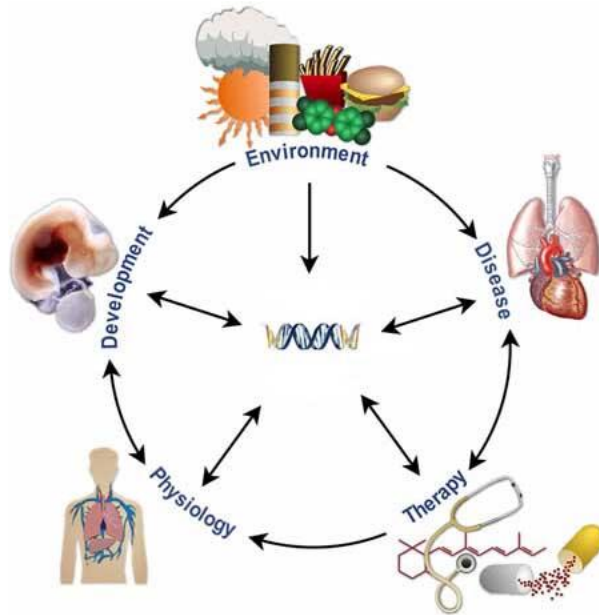
8.34 Σε ποιους τομείς θα συμβάλλει η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος;

- Στη **μελέτη της οργάνωσης και λειτουργίας** του ανθρώπινου γονιδιώματος. Μετά την ολοκλήρωση του προγράμματος προσδιορίστηκαν:
 - το σύνολο των **γονιδίων** που κωδικοποιούν πρωτεΐνες.
 - ✓ Ο αριθμός των γονιδίων είχε αρχικά εκτιμηθεί το 1990 σε 100.000, ενώ σήμερα εκτιμάται ότι τα **γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες** είναι **λιγότερα από 40.000**.
 - οι **ρυθμιστικές περιοχές** των γονιδίων αυτών.
 - οι **περιοχές του γονιδιώματος με άγνωστη λειτουργία**.
- Στην **ανάπτυξη μεθοδολογίας για τη διάγνωση και θεραπεία των ασθενειών**, μέσω του προσδιορισμού της θέσης και της αλληλουχίας των βάσεων των μεταλλαγμένων γονιδίων που σχετίζονται με διάφορες ασθένειες.
- Στη **μελέτη της εξέλιξης** του ανθρώπινου γονιδιώματος. ΠΕ '08
 - Για το σκοπό αυτό βρίσκονται παράλληλα σε εξέλιξη προγράμματα:

- ✓ προσδιορισμού της αλληλουχίας άλλων ειδών, τα οποία θα συμβάλουν στην αποκάλυψη των εξελικτικών σχέσεων που υπάρχουν μεταξύ των ειδών.
- ✓ χαρτογράφησης γονιδιωμάτων οργανισμών όπως είναι το πρόβατο, ο σκύλος, η αγελάδα, διάφορα έντομα, ο γαιοσκώληκας, καθώς και πολλοί μικροοργανισμοί.

- Στη **μαζική παραγωγή προϊόντων**, με βιοτεχνολογικές μεθόδους, μετά την **απομόνωση των γονιδίων**, τα οποία είναι χρήσιμα:

- στη βιομηχανία,
- στη φαρμακοβιομηχανία,
- στη γεωργία και
- την κτηνοτροφία.



ΔΙΕΥΚΡΙΝΙΣΕΙΣ – ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΕΙΣ & ΘΕΜΑΤΑ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ – ΣΥΓΚΡΙΣΗΣ

8.35 Διαφορές μεταξύ *in vivo* και *ex vivo* γονιδιακής θεραπείας.

Κριτήριο	<i>in vivo</i>	<i>ex vivo</i>
Γενετική τροποποίηση σωματικών κυττάρων	✓ Μέσα στον οργανισμό	✓ Έξω από τον οργανισμό
Εύρος εφαρμογής (σε ποιους ιστούς)	✓ Θεωρητικά οποιαδήποτε σωματικά κύτταρα με κατάλληλο «έξυπνο» φορέα (ιό)	✓ Κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος (π.χ. λεμφοκύτταρα), με αβλαβείς ιούς-φορείς
Τρόπος εφαρμογής	✓ Ποικίλοι τρόποι εφαρμογής (π.χ. με ψεκασμό)	✓ Ενδοφλέβια εισαγωγή των γενετικά τροποποιημένων κυττάρων στον ασθενή
Παρενέργειες	✓ Πιθανές	✓ Πιθανές
Παράδειγμα γονιδιακής θεραπείας	✓ Θεραπεία της κυστικής ίνωσης	✓ Θεραπεία της ADA ✓ Ασθένειες του αιμοποιητικού

8.36 * Βιολογικές διαδικασίες που πραγματοποιούνται:

- *in vivo*:
 - πείραμα Griffith, 1^ο κεφ
 - πείραμα Hershey & Chase, 1^ο κεφ
 - ημισυντηρητικός τρόπος αντιγραφής του DNA, 2^ο κεφ
 - γονιδιακή θεραπεία κυστικής ίνωσης, 8^ο κεφ
- *in vitro*:
 - πείραμα Avery, Mac-Leod, McCarthy, 1^ο κεφ
 - ανάλυση των ενζύμων της αντιγραφής του DNA, 2^ο κεφ
 - απόδειξη της καθολικότητας του γενετικού κώδικα, 2^ο κεφ
 - PCR, 4^ο κεφ
 - δοκιμασία δρεπάνωσης, 6^ο κεφ
 - βιοχημικές δοκιμασίες, 6^ο κεφ
 - ανάλυση DNA (μοριακή διάγνωση), 6^ο κεφ
- *ex vivo*:
 - γονιδιακή θεραπεία κληρονομικής ανοσολογικής ανεπάρκειας, 8^ο κεφ

