

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

**Τ.Ε.Ι. ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΝΟΣΗΛΕΥΤΙΚΗΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΜΕ ΘΕΜΑ:

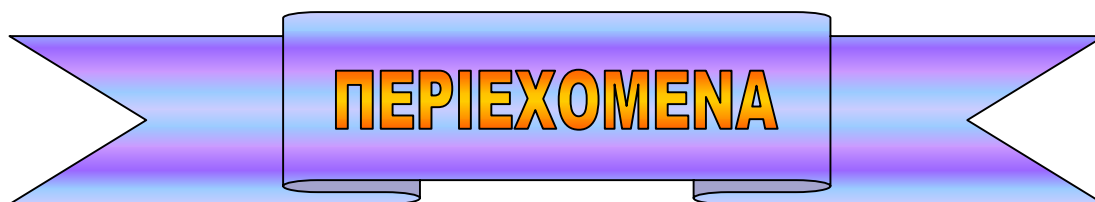
ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΚΟΤΖΑΜΠΑΣΑΚΗ ΘΕΟΝΥΜΦΗ

**ΣΠΟΥΔΑΣΤΕΣ: ΖΕΓΓΙΝΗ ΕΛΕΝΗ
ΕΥΛΟΥΡΗ ΧΡΥΣΟΥΛΑ
ΠΟΡΙΧΗΣ ΜΙΧΑΛΗΣ**

**ΗΡΑΚΛΕΙΟ
ΜΑΡΤΙΟΣ 2002**

Αφιερωμένη, στους
γονείς μας



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΜΕΡΟΣ Α'

ΕΙΣΑΓΩΓΗ - Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

1. Η βιοτεχνολογική πρόοδος	σελ. 10
2. Τι είναι γονίδιο	σελ. 10
2.1. Τι είναι γονιδίωμα	σελ. 11
3. Ξεκλειδώνοντας το γονιδίωμα	σελ. 11
3.1. DNA:Κωδικός άνθρωπος	σελ. 11
3.2. Το κλειδί της ζωής και του θανάτου	σελ. 11
3.3. Ένα μόνο γονίδιο σε 700 παραλλαγές	σελ. 12
3.4. Γονίδια ίσον αταξία	σελ. 13
3.5. Το <<άχρηστο>>DNA	σελ. 13
4. Μελέτη γονιδίων	σελ. 14
4.1. Από τα γονίδια στη γονιδιακή θεραπεία	σελ. 14
5. Εκρηκτική εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας	σελ. 15
5.1. Ανάγκη γονιδιακής θεραπείας	σελ. 17
5.2. Στόχοι γονιδιακής θεραπείας	σελ. 18
5.3. Κριτήρια γονιδιακής θεραπείας	σελ. 19

ΜΕΡΟΣ Β'

ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

1. Απομόνωση γονιδίων	σελ. 21
2. Γονιδιακή μεταφορά	σελ. 22
2.1. Εξωσωματική (ex-vivo) γονιδιακή μεταφορά	σελ. 23
2.2. Ενδοσωματική (in-vivo) γονιδιακή μεταφορά	σελ. 25
2.3. Μεταφερόμενα γονίδια	σελ. 25
2.4. Εισαγωγή εξωγενούς DNA σε κύτταρα	σελ. 26

3. Ιικοί φορείς μεταφοράς γονιδίων	σελ. 27
3.1. Φορείς ρετοϊών	σελ. 28
3.2. Φορείς αδενοϊών	σελ. 31
3.3. Ο ιός του AIDS ως φορέας	σελ. 32
4. Μη ιικοί φορείς μεταφοράς γονιδίων	σελ. 33
4.1. Απευθείας εμβολιασμός	σελ. 34
4.2. Λιποσώματα	σελ. 34
5. Στοχευόμενη καταστολή γονιδιακής έκφρασης	σελ. 35

ΜΕΡΟΣ Γ'

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΟΝΟΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

1. Παράγοντες που επηρεάζουν την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας	σελ. 38
2. Ανεπάρκεια της απαμινάσης της αδενοσίνης	σελ. 40
2.1. Ευνοϊκοί παράγοντες για γονιδιακή θεραπεία	σελ. 40
2.2. Εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας	σελ. 41
3. Οικογενής υπερχοληστερολαιμία	σελ. 42
3.1. Εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας	σελ. 42
4. Κυστική ίνωση	σελ. 43
4.1. Εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας	σελ. 43
5. Άλλες μονογονιδιακές ασθένειες	σελ. 45
5.1. Μυϊκή δυστροφία του Duchenne	σελ. 45
5.2. Ασθένεια του Gaucher	σελ. 45
5.3. Αιμορροφιλία	σελ. 45

ΜΕΡΟΣ Δ'

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

1. Στρατηγικές γονιδιακής θεραπείας καρκίνου	σελ. 49
2. Καταστολή γονιδίων	σελ. 49
2.1. Ογκογονίδια και πρωτο-ογκογονίδια	σελ. 50
2.2. Καταστολή του ογκογονιδίου ras	σελ. 51
2.3. Καταστολή άλλων ογκογόνων παραγόντων	σελ. 52
3. Αποκατάσταση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων	σελ. 53
3.1. Γονίδιο p53	σελ. 53
3.2. Καταστολή μεταλλαγμένου γονιδίου	σελ. 54
3.3. Ενίσχυση φυσιολογικού γονιδίου	σελ. 54
4. Γενετική ανοσοθεραπεία του καρκίνου	σελ. 55
5. Προ-φαρμακευτική (pro-drug) γον. θεραπεία καρκίνου	σελ. 56
6. Κλινικές μελέτες γονιδιακής θεραπείας του καρκίνου	σελ. 56
7. Νέα γονιδιακή θεραπεία για τον καρκίνο των ωοθηκών	σελ. 58

ΜΕΡΟΣ Ε'

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ

1. Θεραπευτικοί στόχοι	σελ. 61
2. Γονιδιακή θεραπεία της επαναστένωσης	σελ. 63
2.1. Ενίσχυση της δραστηριότητας της ΝΟ συνθετάσης	σελ. 64
2.2. Κυτταροτοξική θεραπεία	σελ. 64
2.3. Κυτταροστατική θεραπεία	σελ. 65
3. Γενετική θεραπεία αντικαθιστά το Μπαϊ-πας	σελ. 66
4. Γενετική μετατροπή των φλεβικών μοσχευμάτων	σελ. 68
5. Γονιδιακή θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας	σελ. 68
6. Προοπτικές της γονιδιακής θεραπείας των καρδιαγγειακών παθήσεων	σελ. 69

ΜΕΡΟΣ ΣΤ'

ΆΛΛΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

1. Αντιμετώπιση του AIDS	σελ. 71
2. Νόσος του Parkinson	σελ. 72
3. Δυσλειτουργία σιελογόνων αδένων	σελ. 73
4. Άλλες εφαρμογές	σελ. 74
5. Νέα γονιδιακή θεραπεία κάνει δυνατή τη μεταμόσχευση οργάνων χωρίς τη χρήση ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων	σελ. 75
6. Γονίδιο πιθανώς ευθύνεται για την εμφάνιση της σχιζοφρένειας	σελ. 76

ΜΕΡΟΣ Ζ'

ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

1. Περιορισμοί της γονιδιακής θεραπείας	σελ. 79
1.1. Έλλειψη ιδανικών φορέων	σελ. 79
1.2. Έλλειψη κατάλληλων ζωικών μοντέλων	σελ. 80
2. Ηθικά ζητήματα της γονιδιακής θεραπείας	σελ. 81
2.1. Αποκάλυψη των "αδυναμιών"	σελ. 83
2.2. Μέχρι που τίθενται τα "όρια"	σελ. 84
3. Η γενετική μετάλλαξη του αρχαίου πνεύματος	σελ. 88
4. Προοπτικές στην φαρμακευτική βιομηχανία	σελ. 92
4.1. Το ενδιαφέρον της φαρμακευτικής βιομηχανίας	σελ. 93

4.2. Τα "βιοκυκλώματα"	σελ. 94
ΛΕΞΙΛΟΓΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΟΡΩΝ	σελ. 95
ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	σελ. 102
ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ	σελ. 103
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟΥ	σελ. 108
ΕΠΙΛΟΓΟΣ	σελ. 128
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	σελ. 129

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο σκοπός αυτής της εργασίας είναι να συμβάλλει στην ενημέρωση των αναγνωστών για τις εξελίξεις των τελευταίων χρόνων όσον αφορά την ανάπτυξη της σύγχρονης Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας και των επιστημών Υγείας, παρουσιάζοντας μια κατατοπιστική μελέτη των σύγχρονων μοριακών τεχνικών και των εφαρμογών τους σε ένα ραγδαία εξελισσόμενο τομέα, τη γονιδιακή θεραπεία.

Οι αλματώδεις εξελίξεις της βιοτεχνολογίας και των μεθόδων του ανασυνδυασμένου DNA παρουσιάζονται με τρόπο πολύπλοκο και δυσνόητο στις βιβλιογραφίες. Το αποτέλεσμα είναι ότι οι επιστήμονες των κλάδων της Ιατρικής που κατεξοχήν ασχολούνται με τα επιτεύγματα της Βιοτεχνολογίας και της Μοριακής Βιολογίας όσον αφορά την διάγνωση, την πρόληψη και την θεραπεία των ανθρώπινων ασθενειών, να μην εξοικειώνονται πλήρως με τις νέες αυτές μεθόδους, οι οποίες πρόκειται να "χαράξουν" τα βήματα της ιατρικής του μέλλοντος.



Ένα ακόμα κίνητρο για την επιλογή του θέματος αυτού υπήρξε το γεγονός ότι στην βιβλιογραφία υπάρχουν πολλά αποσπασματικά άρθρα σχετικά με τις τεχνικές της Μοριακής Βιολογίας και των εφαρμογών τους στην γονιδιακή θεραπεία, αλλά δεν υπάρχει μια συνθετική μελέτη. Ο ενδιαφερόμενος είναι αναγκασμένος να ανατρέξει σε διαφορετικές πηγές

προκειμένου να ενημερωθεί, αλλά και πάλι αυτό δεν θα του επιτρέψει να έχει μια ολοκληρωμένη άποψη για το θέμα.

Μια επιπλέον δυσκολία για τους ενδιαφερομένους είναι το γεγονός ότι η πρόοδος στους τομείς της σύγχρονης Βιοτεχνολογίας, όπως είναι η γονιδιακή θεραπεία και γενικότερα ο εντοπισμός και η κλωνοποίηση "χρήσιμων" γονιδίων είναι τόσο γρήγορη που η χρήση βιβλιογραφίας παλαιότερης των 5-6 χρόνων κινδυνεύει να θεωρηθεί αναχρονιστική!

Η εργασία αυτή απευθύνεται σε όλους όσους ασχολούνται με τον κλάδο της υγείας, οι οποίοι θέλουν να διευρύνουν τις γνώσεις τους σχετικά με τις εξελίξεις στον ταχύτατα αναπτυσσόμενο τομέα της γονιδιακής θεραπείας.

Κλείνοντας τον πρόλογο θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε όλους αυτούς οι οποίοι προσφέρθηκαν να μοιραστούν μαζί μας τις γνώσεις τους και τις απόψεις τους(τους νοσηλευτές τριτοβάθμιας εκπαίδευσης που βοήθησαν στο ερευνητικό μέρος, με τη συμμετοχή τους στην συμπλήρωση των ερωτηματολογίων). Επίσης θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε την καθηγήτρια μας κυρία Θεονύμφη Κοτζαμπασάκη για την πολύτιμη βοήθεια της και καθοδήγηση της καθόλη τη διάρκεια της συγγραφής αυτής της εργασίας.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΜΕΡΟΣ Α'

ΕΙΣΑΓΩΓΗ-Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

1. Η ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΟΔΟΣ

Η ανάπτυξη της επαναστατικής μεθόδου της γονιδιακής θεραπείας είναι αποτέλεσμα μιας άλλης επανάστασης στην μοριακή Βιολογία που συνέβη στις αρχές της δεκαετίας του 1980 και συνεχίζεται από έκτοτε. Πρόκειται για την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδιασμένου DNA (recombinant DNA technology) που επηρέασε ριζοσπαστικά την ανάλυση των γονιδίων και πάνω στην οποία στηρίχτηκαν όλες οι νέες τεχνικές της βιοτεχνολογίας και κατ' επέκταση της γονιδιακής θεραπείας.

2. ΤΙ ΕΙΝΑΙ ΓΟΝΙΔΙΟ

A. Τα γονίδια είναι μικρά αόρατα πακέτα από βιοχημικές πληροφορίες DNA που ρυθμίζουν το πώς οι οργανισμοί μας αναπτύσσονται και λειτουργούν. Όλοι μας κληρονομούμε δεκάδες χιλιάδες γονίδια από τους γονείς μας ταξινομημένα σε 46 χρωμοσώματα. Τα γονίδια καθορίζουν το ύψος μας, την οργανική μας χημεία, ακόμα και το χρώμα των ματιών μας. Τα περισσότερα γονίδια λειτουργούν σωστά αλλά μερικά όχι. Μερικά από αυτά (αλλάζουν) αλλοιώνονται και αρχίζουν να υπολειτουργούν ή να μη λειτουργούν καθόλου. Οι αλλαγές αυτές μπορεί να προκληθούν από ραδιενέργεια ή από ορισμένα χημικά ή από ανεξήγητα ατυχήματα μέσα στα ίδια τα κύτταρα του οργανισμού μας.

B. Είναι το τμήμα του DNA που περιέχει μια οδηγία ή πληροφορία η οποία όταν εκφραστεί θα οδηγήσει στην σύνθεση συγκεκριμένης πρωτεΐνης που έχει ειδική λειτουργία (δομικό γονίδιο) ή στην ρύθμιση της λειτουργίας των δομικών γονιδίων (ρυθμιστικό γονίδιο). Στο ανθρώπινο γονιδίωμα υπολογίζεται ότι υπάρχουν περίπου

100.000 γονίδια αποτελούμενα από μερικές εκατοντάδες μέχρι και άνω του 1.000.000 ζεύγη βάσεων.

2.1 ΤΙ ΕΙΝΑΙ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ

Το σύνολο των γενετικών οδηγιών ή πληροφοριών που περιέχεται στο DNA των κυττάρων ενός οργανισμού. Το ανθρώπινο γονιδίωμα υπολογίζεται ότι αποτελείται από 3 δισεκατομμύρια ζεύγη βάσεων.

3. ΞΕΚΛΕΙΔΩΝΟΝΤΑΣ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ

3.1. DNA: ΚΩΔΙΚΟΣ ΑΝΘΡΩΠΟΣ

Η πλήρης αποκωδικοποίησή του ολοκληρώθηκε. Οι επιστήμονες κατάφεραν ν' αποκρυπτογραφήσουν τον κώδικα κάθε ανθρώπινης ζωής, ο οποίος βρίσκεται "χαραγμένος" στις μακριές αλυσίδες του DNA. Ένα τιτάνιο έργο, το οποίο διήρκεσε 14 χρόνια και στοίχισε, μέχρι στιγμής, 250 εκατομμύρια δολάρια.

Με το "Πρόγραμμα Ανθρώπινο Γονιδίωμα", οι επιστήμονες έθεσαν εξ αρχής έναν πολύ φιλόδοξο στόχο: να πάρουν τα δύο μέτρα του DNA, το οποίο υπάρχει σε κάθε κύτταρό μας πυκνά τυλιγμένο και περιπλεγμένο σε 46 κουβαράκια (τα χρωμοσώματα), να το ξετυλίξουν και να το "αποκωδικοποιήσουν" - να γνωρίσουν δηλαδή το σύνολο των γενετικών οδηγιών που μεταφέρουν τα γονίδια. Για να το επιτύχουν, έπρεπε να βάλουν το ένα πίσω από το άλλο τα περισσότερα από τα τρία δισεκατομμύρια χημικά "γράμματα" (νουκλεοτιδικές βάσεις) που συγκροτούν το ανθρώπινο DNA. Η απλή μεταγραφή αυτής της σειράς "γραμμάτων" θα γέμιζε 347.800 σελίδες του *Focus*, μ' ένα ατελείωτο κείμενο που προκύπτει από τη γραμμική διαδοχή των "γραμμάτων" (βάσεων): A T G G G C A C C A T T G C A... Όπου: A, C, G και T, είναι τα σύμβολα των τεσσάρων βάσεων, δηλαδή των νουκλεοτιδίων Αδερίνη (A), Κυτοσίνη (C), Γουανίνη (G) και Θυμίνη (T). Οι βάσεις, με διάφορους συνδυασμούς, σχηματίζουν το γενετικό μήνυμα πάνω στην αλυσίδα του DNA - καθεμιά είναι κι ένα γράμμα στη γλώσσα του DNA.

3.2. ΤΟ ΚΛΕΙΔΙ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΘΑΝΑΤΟΥ

Διάσπαρτα πάνω στην αλυσίδα του DNA βρίσκονται τα 30-40 χιλιάδες ανθρώπινα γονίδια, όλες δηλαδή οι οδηγίες για τη "δημιουργία" και τη διατήρηση στη ζωή κάθε ανθρώπινης ύπαρξης. Στο DNA μας, λοιπόν, είναι προκαθορισμένο από ποιες ασθένειες έχουμε την προδιάθεση να προσβληθούμε, πόσα χρόνια θα ζήσουμε, ακόμα κι ένα μεγάλο μέρος του χαρακτήρα μας. Επιπλέον, σ' αυτή τη μακριά αλληλουχία βάσεων είναι καταγραμμένη η ιστορία του είδους μας. Οι νέες αυτές γνώσεις ίσως να μην απαντούν τελεσίδικα στα ερωτήματα που ανέκαθεν βασανίζουν την ανθρωπότητα: "Ποιοι είμαστε;", "Από πού ερχόμαστε;", "Πού πηγαίνουμε;". Ωστόσο, βάζουν τις βάσεις για τις απαντήσεις.

Να γιατί οι επιστήμονες μελετούν τα ανθρώπινα γονίδια: για να τα διορθώνουν όταν είναι ελαττωματικά, για να εξουδετερώσουν τις κληρονομικές ασθένειες ή να βρουν τη θεραπεία για τον καρκίνο. Αυτοί είναι οι πρώτοι, αλλά, δυστυχώς, ακόμα αρκετά μακρινοί στόχοι. Η γνώση της δομής και της λειτουργίας του DNA μας ισοδυναμεί με τη λεπτομερή κατανόηση της λειτουργίας του ανθρώπινου οργανισμού, αλλά και κάθε ανθρώπου χωριστά. Αυτό θα μας επιτρέψει να επεμβαίνουμε ή και να ελέγχουμε κατά βούληση τους πιο μύχιους μηχανισμούς της ζωής και, γιατί όχι, του θανάτου.

3.3. ΕΝΑ ΜΟΝΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΣΕ 700 ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ

Τώρα που έχουμε "διαβάσει" όλο το DNA μας, απομένει να καταλάβουμε ποια είναι ακριβώς η λειτουργία των γονιδίων μας, πώς αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και ποια είναι η θέση του καθενός στην οργάνωση του κυττάρου. Σ' αυτό το πεδίο, κάθε βδομάδα προστίθεται και μια νέα σημαντική ανακάλυψη. Η έρευνα επικεντρώνει το ενδιαφέρον της σ' εκείνα τα γονίδια που, όταν δυσλειτουργούν, προκαλούν τις τουλάχιστον πέντε χιλιάδες κληρονομικές ασθένειες. Σήμερα η πλειοψηφία των παθολογικών γονιδίων έχει "ταυτοποιηθεί", δηλαδή γνωρίζουμε τη θέση και την ακριβή αλληλουχία των βάσεών τους.

Παρ' όλα αυτά, οι επιστήμονες κατάλαβαν ότι αυτό δεν αρκεί. Για παράδειγμα, αφού ανακάλυψαν ποιο γονίδιο ευθύνεται για την κυστική ίνωση -μια διαδεδομένη κληρονομική ασθένεια που πλήττει έναν στους 250 ανθρώπους, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι υπάρχουν 700 διαφορετικές παραλλαγές αυτού του γονιδίου, όλες ικανές να προκαλέσουν την ασθένεια. Ακόμα πιο περίπλοκη είναι η μελέτη των γονιδίων εκείνων τα οποία, αν υποστούν φθορές ή ενεργοποιηθούν σε λάθος στιγμή, μπορούν να προκαλέσουν καρκίνο. Η λειτουργία του DNA αλλάζει ανάλογα με το ποιο όργανο έχει πληγεί, με τον τύπο του καρκινώματος ή με το στάδιο της αρρώστιας.

Κατά συνέπεια, για να βρούμε μια πραγματικά αποτελεσματική θεραπεία για πολλές ασθένειες, πρέπει να γνωρίζουμε λεπτομερώς όχι μόνο τη δομή και τη λειτουργία του γονιδιώματος, αλλά και το πώς αυτό αντιδρά στα διάφορα στάδια της ασθένειας.

3.4. ΓΟΝΙΔΙΑ ΙΣΟΝ ΑΤΑΞΙΑ

Το ξετύλιγμα του διπλού έλικα του DNA μάς επιφύλαξε πολύτιμες αλλά και απροσδόκητες πληροφορίες: τα γονίδια δε βρίσκονται ποτέ διατεταγμένα με τάξη πάνω στο DNA. Μάλιστα, σε ορισμένα τμήματα βρίσκουμε εκατοντάδες γονίδια όλα στη σειρά, ενώ παρεμβάλλονται ατελείωτες σειρές βάσεων που δε φέρουν καμιά πληροφορία. Είναι πλέον βέβαιο ότι το 96-97% του DNA των κυττάρων μας είναι "πληροφοριακά άχρηστο": δεν κωδικοποιεί καμιά πληροφορία. Τότε όμως σε τι χρησιμεύει και γιατί διατηρείται από τη φυσική επιλογή; Έχουν διατυπωθεί διάφορες υποθέσεις, δεν έχει όμως δοθεί ακόμα μια οριστική απάντηση. Ορισμένοι ισχυρίζονται ότι το λεγόμενο "άχρηστο" DNA ήταν κάποτε πολύ χρήσιμο. Ίσως περιέχει, κατά κάποιο τρόπο, "απολιθωμένα γονίδια" που ήταν χρήσιμα στους μακρινούς προγόνους μας και σήμερα έχουν περιπέσει σε αχρηστία. Για να εξακριβώσουμε την αλήθεια αυτής της υπόθεσης απαιτούνται πολλές και εκτεταμένες μελέτες συγκριτικής γενετικής. Πρέπει δηλαδή να συγκρίνουμε τα γονιδιώματα από διαφορετικά είδη. Για την ώρα γνωρίζουμε καλά μόνο το γονιδίωμα της μύγας του ξιδιού (δροσοφίλης) και των ποντικών. Πρόσφατα, όμως, ανακάλυψαν ότι αυτό που θεωρείται "άχρηστο" DNA είναι στην πραγματικότητα χρησιμότερο. Οι μακριές αλληλουχίες "γραμμμάτων" χωρίς νόημα περικλείουν τα πιο ευαίσθητα σημεία των χρωμοσωμάτων, όταν τα κύτταρα διπλασιάζονται, ώστε να προφυλάσσουν τα πιο πολύτιμα γονίδια από τις μεταλλάξεις. Μια άλλη υπόθεση προτείνει ότι το "άχρηστο" DNA είναι απαραίτητο για τη σωστή τρισδιάστατη αρχιτεκτονική των γονιδίων, η οποία εξασφαλίζει τη λειτουργία τους.

3.5. ΤΟ "ΑΧΡΗΣΤΟ" DNA

Μια άλλη απροσδόκητη ανακάλυψη είναι ότι η πλειοψηφία των γονιδίων μας έχει τη μορφή μωσαϊκού. Αυτά τα "ασυνεχή" γονίδια έχουν μήκος εκατοντάδες χιλιάδες βάσεων, όμως το "λειτουργικό" τους τμήμα, δηλαδή αυτό που φέρει τις πληροφορίες, έχει κατά μέσο όρο μήκος μόλις δέκα χιλιάδες βάσεις.

Φανταστείτε το DNA σας σαν ένα τεράστιο τρένο με εκατομμύρια βαγόνια (γονίδια), από τα οποία μόνο 40 χιλιάδες μπορούν να μεταφέρουν επιβάτες (γενετική πληροφορία)

Ωστόσο, οι μεγαλύτερες εκπλήξεις αφορούν στη λειτουργία των γονιδίων. Συχνά το ίδιο γονίδιο μπορεί να συμμετέχει στη σύνθεση περισσότερων πρωτεϊνών, ενώ μέχρι πριν από λίγα χρόνια θεωρούνταν ως δόγμα ότι κάθε γονίδιο κωδικοποιεί μία μόνο πρωτεΐνη. Πρόσφατα μάλιστα ανακαλύφθηκε ότι πολλά γονίδια ενεργοποιούνται μόνο σε μια ορισμένη περίοδο της ζωής του ατόμου (έμβρυο, παιδί, ενήλικος) και μόνο σε ορισμένα τμήματα του σώματος. Η ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων, δηλαδή οι οδηγίες που καθορίζουν ποιο και πότε ένα τμήμα του DNA πρέπει να εκφραστεί, είναι ένα ανεξερεύνητο ακόμα κεφάλαιο.

4. ΜΕΛΕΤΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Η τεχνολογία του ανασυνδιασμένου DNA επέτρεψε να μελετηθούν τα γονιδιώματα ολόκληρων οργανισμών, να εντοπιστούν, να κλωνοποιηθούν και να χαρτογραφηθούν συγκεκριμένα γονίδια, να μελετηθεί η λειτουργία τους και να ταυτοποιηθεί η νουκλεοτιδική τους αλληλουχία. Με την διαδικασία αυτή ανιχνεύθηκαν και απομονώθηκαν τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για ορισμένες γενετικές ασθένειες και ξεκίνησε η ιδέα να χορηγηθούν τα ίδια γονίδια ως φάρμακα στους ασθενείς ώστε να καταπολεμηθεί η ασθένεια στην γενετική της βάση.

Η ίδια τεχνολογία έδωσε τη δυνατότητα να συνδεθούν τα θεραπευτικά γονίδια με τα κατάλληλα γενετικά στοιχεία που θα χρησιμεύσουν ως φορείς ή "οχήματα" μεταφοράς των γονιδίων στα κύτταρα στόχους.

Παράλληλα με την ανάπτυξη της τεχνολογίας αυτής η οποία περιλαμβάνει μια μεγάλη ποικιλία από τεχνικές, έχει ξεκινήσει και προχωράει ταχύτατα ένα γιγάντιο ερευνητικό πρόγραμμα που αφορά τη χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος. Το πρόγραμμα αυτό αναμένεται να διευρύνει εκπληκτικά τις γνώσεις μας σχετικά με την γενετική πολλών ασθενειών του ανθρώπινου σώματος γεγονός που θα προσφέρει απρόβλεπτες δυνατότητες για γονιδιακή θεραπεία. Ήδη έχει αποκαλυφτεί το 50% περίπου του ανθρώπινου γονιδιώματος ενώ το υπόλοιπο αναμένεται να καλυφθεί ως την αρχή της νέας χιλιετηρίδας.

4.1. ΑΠΟ ΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΣΤΗΝ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η βασική διαδικασία που ακολουθείται για να επιτευχθεί Γονιδιακή θεραπεία ξεκινάει πρώτα από τον εντοπισμό του κατάλληλου

γενετικού υλικού που θα φέρει θεραπευτικά αποτελέσματα. Σε γενικές γραμμές τα στάδια που ακολουθούνται είναι τα εξής:

Απομόνωση και κλωνοποίηση του ανθρώπινου γενετικού υλικού που θα χρησιμεύσει ως θεραπευτικό υλικό. Είναι ένα στάδιο εξαιρετικά δύσκολο και απαιτεί την εφαρμογή πολύπλοκων και χρονοβόρων τεχνικών για τον εντοπισμό και τη χαρτογράφηση ενός συγκεκριμένου γονιδίου μέσα στο απέραντο ανθρώπινο γονιδίωμα. Ένα μέσο γονίδιο έχει μήκος περίπου 40.000 βάσεις ενώ το συνολικό ανθρώπινο γονιδίωμα έχει μήκος 3 δισεκατομμύρια βάσεις. Πολλές φορές οι επιστήμονες ψάχνουν στα τυφλά καθώς δεν είναι καν γνωστό ούτε ποια κύτταρα εκφράζουν το συγκεκριμένο γονίδιο. Υπάρχει πάρα πολύ έντονη ερευνητική προσπάθεια στον τομέα αυτό σε εργαστήρια σε όλο τον κόσμο.

Ανάλυση του γονιδίου. Μόλις κλωνοποιηθεί ένα γονίδιο ξεκινάει μια μεγάλη φάση που σχετίζεται με την ανάλυση της δομής και λειτουργίας του γονιδίου, την ταυτοποίηση της νουκλεοτιδικής του αλληλουχίας, την ανεύρεση των ρυθμιστικών του αλληλουχιών και του τρόπου έκφρασης του. Επίσης πρέπει να αναλυθεί το ίδιο γονίδιο σε διαφορετικούς πληθυσμούς για να; εντοπιστούν οι μεταλλαγές του γονιδίου που είναι υπεύθυνες για την εμφάνιση μιας γενετικής ασθένειας. Συνήθως εντοπίζονται περισσότερες από μια διαφορετικές μεταλλαγές οι οποίες υπεύθυνες για την ασθένεια. Όλα τα δεδομένα καταχωρούνται σε ηλεκτρονικούς υπολογιστές και επεξεργάζονται.

Εφαρμογή σωματικής γονιδιακής θεραπείας. Αφού αναλυθεί πλήρως ένα γονίδιο και διευκολυνθούν οι μηχανισμοί της έκφρασης και λειτουργίας του, μπορεί θεωρητικά να χρησιμοποιηθεί για γονιδιακή θεραπεία εφόσον υπάρχουν και ισχύουν και άλλες προϋποθέσεις.. το γονίδιο συνδέεται με τους ειδικούς φορείς(συνήθως τροποποιημένοι ιοί που προσβάλλουν κύτταρα θηλαστικών)και εισάγεται στα κύτταρα στόχους ασθενή.

5. ΕΚΡΗΚΤΙΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Η γονιδιακή θεραπεία είναι ένα επαναστατικό επίτευγμα της Μοριακής Γενετικής και των μεθόδων της Βιοτεχνολογίας το οποίο έχει επηρεάσει ριζικά τον τρόπο πρόληψης και τη θεραπεία ασθενειών και αναμένεται να πρωταγωνιστήσει στην ιατρική του επόμενου αιώνα. Η επέμβαση στα γενετικά χαρακτηριστικά ενός οργανισμού δημιουργεί προσδοκίες που φτάνουν στα όρια της επιστημονικής φαντασίας αλλά

και συγχρόνως και ένα δέος για τις δυνατότητες και τις εφαρμογές αυτής της μεθόδου.

Στο μέλλον ο γενετικός χειρισμός ελαττωματικών γονιδίων, η αντικατάσταση τους με φυσιολογικά γονίδια ή η καταστολή ανεπιθύμητων γονιδίων θα αποτελούν κοινή πρακτική. Αναμφισβήτητη η πρόοδος αυτή δεν συντελείται πάντα με τον πιο ομαλό τρόπο. Υπάρχουν πολλές δυσκολίες που πρέπει ακόμα να ξεπεραστούν πιθανόν να γίνουν και αρκετά λάθη ή να υπερεκτιμηθούν ορισμένες επιτυχίες μέσα στο γενικότερο ρυθμό εξέλιξης που επικρατεί.

Πολλά ηθικοκοινωνικά θέματα έχουν ήδη δημιουργηθεί για τις συνέπειες και τα όρια της γονιδιακής θεραπείας και έχουν εκφραστεί ακραίες θέσεις που εξηγούνται από το δέος που προκαλούν οι δυνατότητες της γενετικής επέμβασης στον άνθρωπο. Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι το θέμα αυτό θα αποτελέσει αντικείμενο συζητήσεων στο μέλλον έως και όταν τα νέα επιτεύγματα ενταχθούν σε κάποια πλαίσια αποδεκτά από την πλειοψηφία του επιστημονικού κόσμου και του κοινού και χρησιμοποιηθούν για το καλό της ανθρωπότητας.

Ένα ακόμα γεγονός παραμένει αναμφισβήτητο ανεξάρτητα από τις προσδοκίες και επιφυλάξεις, ότι η γονιδιακή θεραπεία έχει καθιερωθεί και εξελίσσεται ραγδαία και ότι αναμένεται να αποτελέσει σημαντικό αν όχι τον σημαντικότερο τρόπο προληπτικής ή θεραπευτικής αντιμετώπισης των ασθενειών.

Η εκρηκτική εξέλιξη και πρόοδος που σημειώνεται στον τομέα της γονιδιακής θεραπείας αντικατοπτρίζεται στο γεγονός ότι έχουν εκδοθεί ήδη τρία επιστημονικά περιοδικά αφιερωμένα στη γονιδιακή θεραπεία. Οι τίτλοι τους είναι: Gene Therapy, Human Gene Therapy, Cancer Gene Therapy.

Χαρακτηριστικό του ζωηρού ενδιαφέροντος για τα αποτελέσματα της γονιδιακής θεραπείας και της προσμονής που φτάνει στα όρια αντιεπιστημονικής ανυπομονησίας είναι ότι τα περιοδικά έχουν αυτά έχουν όχι μόνο ειδικές στήλες για προκαταρκτικές ανακοινώσεις αλλά δημοσιεύουν ακόμη και πρωτόκολλα εργασιών.

Ενδεικτικό επίσης είναι ότι για ένα τομέα της ιατρικής που έχει κλινική εφαρμογή μόλις από το 1990, έγιναν ήδη 4 διεθνή συνέδρια μέχρι το 1996.

Χαρακτηριστικό είναι επίσης ότι εξειδικευμένα ιατρικά περιοδικά όλων σχεδόν των τομέων της ιατρικής (Exp. Neurology, Neurosurgery, Ann. Vasc. Surgery, Circulation, Curr. Opin. Hematol., Pediatr. Clin. North. Amer. Sem. Urol. Oncol. Urol. Clin. North. Am. Kidney Int. Obstet. Gynecol. Dermatol. Clin. J. Amer. Dental Assoc. J. Of Ocular Pharmacology.) αναγνωρίζοντας την σημασία που έχει για τους αναγνώστες τους η ενημέρωσή τους για την νέα θεραπευτική μέθοδο

δημοσιεύουν συχνά ανασκοπήσεις των εφαρμογών της γονιδιακής θεραπείας.

Επίσης ήδη στο Internet κυκλοφορούν χιλιάδες πληροφορίες σχετικά με τη γονιδιακή θεραπεία. Μία αναζήτηση με το λήμμα "gene therapy", τον Ιούλιο 1997 έβγαλε γύρω στις 6000 αναφορές στο θέμα αυτό.

Η αντίληψη εξάλλου ότι η γονιδιακή θεραπεία μπορεί να εφαρμοστεί μόνο σε σπάνιες κληρονομικές ασθένειες (ασθένειες που οφείλονται σε μεταλλάξεις ενός γονιδίου) έχει πλέον ξεπεραστεί. Η γονιδιακή θεραπεία δοκιμάζεται σε όλο και περισσότερες ασθένειες και στο μέλλον υπολογίζεται ότι ελάχιστοι τομείς της ιατρικής θα έχουν μείνει ανεπηρέαστοι από την ταχύτητα εξελισσόμενη αυτή μέθοδο.

5.1. ΑΝΑΓΚΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Μέχρι σήμερα οι προοπτικές ενός ατόμου που γεννιέται με μια γενετική ανωμαλία δεν είναι καθόλου ευοίωνες, καθώς στις περισσότερες περιπτώσεις εμποδίζεται δραματικά η φυσιολογική του ανάπτυξη. Έχει υπολογιστεί ότι μόνο ένα ποσοστό 6% των ατόμων που πάσχουν από μονογονιδιακές ασθένειες μπορούν με τις υπάρχουσες θεραπείες, να έχουν φυσιολογική ζωή.

Η γονιδιακή θεραπεία προσπαθεί να δώσει μια λύση στην αντιμετώπιση των ασθενειών για τις οποίες δεν υπάρχει σήμερα αποτελεσματική θεραπεία.

Περισσότερες από 4000 ασθένειες προκαλούνται από μια εκ γενετής αλλοίωση σε ένα γονίδιο, όπως κυστική ίνωση (cystic fibrosis), η βαριά συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια (Severe Combined Immunodeficiency ή σύνδρομο SCID), η οικογενής υπερχοληστερηλαιμία, και άλλες. Ήδη αρκετά από αυτά τα γονίδια έχουν απομονωθεί, ταυτοποιηθεί και έχουν γίνει στόχοι για την εφαρμογή γονιδιακής θεραπείας.

Άλλες ασθένειες, όπως ο καρκίνος, οι καρδιακές ασθένειες, το AIDS, η αρθρίτιδα επηρεάζονται σε ένα μεγάλο βαθμό από τις ανωμαλίες ενός ή περισσότερων γονιδίων που έχουν σχέση με την άμυνα του οργανισμού και επομένως είναι επίσης κατάλληλες ασθένειες για να αντιμετωπιστούν με γονιδιακή θεραπεία.

Κυριότερες ασθένειες όπου εφαρμόζεται η γονιδιακή θεραπεία σε κλινικές δοκιμές.

- Καρκίνος(νεφρών, ωοθήκης, εγκεφάλου, πνεύμονα, ήπατος, μαστού, εντέρου, προστάτη, νευροβλάστωμα, μελάνωμα μεσοθηλίωμα, λευχαιμία, πολλαπλό μυέλωμα.)
- Σύνδρομο SCID(βαριά συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια) λόγω ανεπάρκειας της απαμινάσης της αδενοσίνης.
- Κυστική ίνωση.
- Ασθένεια του Gaycher.
- Οικογενής υπερχοληστερολαιμία.
- Αιμορροφιλία.
- Ανεπάρκεια της φωσφορυλάσης της νουκλεοσιδικής πουρίνης.
- Ανεπάρκεια της άλφα-1 αντιθρυψίνης.
- Αναιμία του Fanconi
- Σύνδρομο του Hunter
- Χρόνια κοκκιωμάτωση
- Ρευματοειδής αρθρίτιδα
- Καρδιαγγειακές παθήσεις
- AIDS

Η γονιδιακή θεραπεία πέρασε από την σφαίρα της επιστημονικής φαντασίας στην πραγματικότητα για πρώτη φορά τον Σεπτέμβριο του 1990 όταν εφαρμόστηκε με επιτυχία σε μια τετράχρονη ασθενή που έπασχε από βαριά συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια. Μέχρι τα μέσα του 1995 περισσότεροι από 600 ασθενείς στις ΗΠΑ είχαν συμμετάσχει σε κάποια μορφή δοκιμής γονιδιακής θεραπείας και άλλοι 300 περίμεναν τη σειρά τους.

5.2. ΣΤΟΧΟΙ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Η παθογένεια πολλών ασθενειών έχει την βάση της σε κάποιο ή κάποια γονίδια που δεν παρουσιάζουν ομαλή λειτουργία, δηλαδή δεν οδηγούν στην παραγωγή αρκετής ποσότητας από μια πρωτεΐνη ή παράγουν μια ελαττωματική πρωτεΐνη. Επίσης η κανονική λειτουργία των οργάνων και του συνόλου του οργανισμού, η αντοχή και η άμυνα του ή η ευπάθεια του στα διάφορα βλαβερά ερεθίσματα είναι σε μεγάλο βαθμό γενετικά εξαρτημένες αν όχι προκαθορισμένες.

Η γονιδιακή θεραπεία ξεκίνησε αρχικά σαν μια μέθοδος επιδιόρθωσης μιας γενετικής ανωμαλίας με την εισαγωγή ενός θεραπευτικού γονιδίου σε έναν οργανισμό με σκοπό να αντικαταστήσει ένα ελαττωματικό γονίδιο. Αυτή η αρχική όμως ιδέα της γονιδιακής θεραπείας έχει πλέον επεκταθεί και περιλαμβάνει και άλλες μεθόδους οι οποίες έχουν όλες το κοινό χαρακτηριστικό ότι σκοπεύουν στην αλλαγή της γενετικής σύστασης ενός κυττάρου για να πετύχουν θεραπευτικά αποτελέσματα για τον ασθενή.

Η γονιδιακή θεραπεία περιλαμβάνει μια σειρά από στρατηγικές με τις οποίες τροποποιούνται γενετικά τα σωματικά κύτταρα ενός ασθενούς. Κατά τη γονιδιακή θεραπεία, επιλεγμένο γενετικό υλικό εισάγεται μέσω ειδικών φορέων μέσα σε κύτταρα-στόχους ενός ασθενούς, ενδοσωματικά ή εξωσωματικά με σκοπό να επιφέρει τις κατάλληλες μοριακές γενετικές μεταβολές στα κύτταρα ώστε να καταπολεμηθεί η ασθένεια και να αποκατασταθεί ο φυσιολογικός φαινότυπος. Το γενετικό υλικό που εισάγεται μέσα στα κύτταρα μπορεί να είναι :

1. Συγκεκριμένα κλωνοποιημένα ανθρώπινα γονίδια που περιλαμβάνουν και τις ρυθμιστικές αλληλουχίες που ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων αυτών.
2. Τμήματα ανθρώπινων γονιδίων.
3. Γονίδια από άλλους οργανισμούς
4. Συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια

Στις περισσότερες περιπτώσεις η γονιδιακή θεραπεία στοχεύει στη γενετική τροποποίηση των ελαττωματικών κυττάρων τα οποία είναι υπεύθυνα για μια ασθένεια. Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις κατά τις οποίες στόχος της γονιδιακής θεραπείας είναι μη ελαττωματικά κύτταρα όπως π.χ. υγιά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος.

Πρέπει να τονιστεί ότι η γονιδιακή θεραπεία όπως εφαρμόζεται σήμερα επεμβαίνει στα σωματικά μόνο κύτταρα των ασθενών, δηλαδή σε οποιοδήποτε άλλο τύπο κυττάρων εκτός από τα σπερματικά κύτταρα, τα ωκύτταρα και τους πρόδρομους τους (γενετικά κύτταρα). Η επέμβαση στα γενετικά κύτταρα παραμένει ένα θέμα για το οποίο υφίστανται σοβαροί ηθικοί περιορισμοί.

5.3. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Από τις χιλιάδες υποψήφιες ασθένειες για γονιδιακή θεραπεία, δίνεται προτεραιότητα σε εκείνες τις ασθένειες που πληρούν ορισμένα κριτήρια. Βασική βέβαια προϋπόθεση είναι να έχει αναγνωριστεί και κλωνοποιηθεί το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για μια συγκεκριμένη ασθένεια. Τα βασικά κριτήρια που χρησιμοποιούνται σήμερα για να επιλεγθεί μια ασθένεια ως κατάλληλη για αντιμετώπιση με γονιδιακή θεραπεία είναι:

1. Να υπάρχει επαρκής γνώση του γονιδίου που είναι υπεύθυνο για την ασθένεια. Είναι απαραίτητο, να είναι γνωστές η δομή και η λειτουργία του γονιδίου και ο τρόπος έκφρασης του (δηλαδή ο ρυθμός της μεταγραφής και της μετάφρασης και οι παράγοντες που τις επηρεάζουν).
2. Να υπάρχει αποτελεσματικός τρόπος μεταφοράς του γονιδίου μέσα στα κύτταρα-στόχους. Χρησιμοποιούνται ειδικοί φορείς που

μεταφέρουν το θεραπευτικό γονίδιο, οι οποίοι όμως δεν είναι πάντα αποτελεσματικοί. Η ανεύρεση ιδανικών φορέων είναι ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα που αντιμετωπίζει σήμερα η γονιδιακή θεραπεία.

3. Το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για την ασθένεια να έχει ελάχιστες απαιτήσεις για ρύθμιση και να υπάρχει ένας ικανοποιητικός τρόπος ελέγχου της έκφρασης του γονιδίου όταν βρίσκεται στα κύτταρα-στόχους. Ιδανικά θα πρέπει μια χαμηλή έκφραση του γονιδίου να επιφέρει θεραπευτικό αποτέλεσμα, ενώ παράλληλα να μην παρατηρούνται βλαβερές συνέπειες αν υπάρξει υπερέκφραση του γονιδίου.
4. Να έχει γίνει μια ανάλυση του κόστους της θεραπείας και των οφελών που θα προκύψουν. Ορισμένες ασθένειες, όπως η ανεπάρκεια της αδενοσινικής απαμινάσης (ADA), μπορεί να αντιμετωπίζονται με πιο οικονομικό τρόπο με γονιδιακή θεραπεία σε σύγκριση με τις παρατεταμένες και δαπανηρές παραμονές στα νοσοκομεία των ασθενών που υποβάλλονται στις κλασικές θεραπείες. Για ορισμένες άλλες ασθένειες όμως (όπως για την επιδιόρθωση γενετικών ανωμαλιών του ήπατος) έχουν δαπανηθεί τεράστια ποσά που ίσως να μην έχουν αντίκρισμα στο άμεσο μέλλον.

ΜΕΡΟΣ Β'

ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Η ανταλλαγή γενετικού υλικού μεταξύ μονοκύτταρων οργανισμών που ανήκουν σε διαφορετικά είδη είναι ένα διαδεδομένο φαινόμενο στη φύση. Οι φυσικές αυτές διαδικασίες έχουν σαν σκοπό τη μεταφορά γενετικής πληροφορίας μεταξύ των μικροοργανισμών για τη δημιουργία γενετικής ποικιλομορφίας.

Στους μικροοργανισμούς παρατηρούνται τρεις φυσικοί μηχανισμοί μεταφοράς γονιδίων

- Η σύζευξη (conjugation)
- Ο μετασχηματισμός (transformation)
- Η μεταγωγή (transduction).

Σε κύτταρα ανώτερων οργανισμών, όπως φυτών, ζώων αλλά και στον άνθρωπο υπάρχουν επίσης φυσικοί μηχανισμοί μεταφοράς ξένων γονιδίων (π.χ. ιοί που εισάγουν τα γονίδια τους στο γονιδίωμα των κυττάρων που προσβάλλουν).

Όλες αυτές οι φυσικές μέθοδοι παρέχουν τη δυνατότητα στους μοριακούς γενετιστές να τις εκμεταλλευτούν για να εφαρμόσουν πολλούς γενετικούς συνδυασμούς με τη μέθοδο του γενετικού χειρισμού *in vivo* (*in vivo genetic manipulation*) που καταλήγουν σε μια ποικιλομορφία μικροβιακών πληθυσμών με βελτιωμένες ή νέες ιδιότητες.

Η αναφορά στους βασικότερους αυτούς φυσικούς μηχανισμούς ανταλλαγής γενετικού υλικού μεταξύ μικροοργανισμών, έχει ιδιαίτερη σημασία καθώς οι σύγχρονες τεχνικές μεταφοράς εξωγενών γονιδίων σε οργανισμούς χρησιμοποιούν τους φυσικούς αυτούς μηχανισμούς μεταφοράς γονιδίων ώστε να πετύχουν μια αποτελεσματική μεταφορά χρήσιμων γονιδίων είτε σε βακτήρια για την παραγωγή χρήσιμων πρωτεϊνών, είτε σε φυτά ή σε ζώα, ή στον άνθρωπο για την επίτευξη της γονιδιακής θεραπείας.

Η κατανόηση συνεπώς των φυσικών αυτών μηχανισμών είναι σημαντική, καθώς οι μηχανισμοί αποτελούν την βάση για την ανάπτυξη γενετικών χειρισμών για τη μεταφορά και την εισαγωγή γονιδίων που προσδίδουν επιθυμητές ιδιότητες σε διάφορους οργανισμούς.

1. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Το πρώτο στάδιο για τον γενετικό χειρισμό γονιδίων και την μεταφορά τους ως θεραπευτικούς παράγοντες σε οργανισμούς είναι ο εντοπισμός και η απομόνωση των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την εκδήλωση γενετικών ασθενειών και η κλωνοποίηση τους σε φορείς κλωνοποίησης με σκοπό την παραγωγή τους σε μεγάλες ποσότητες.

Το στάδιο αυτό είναι δύσκολο και χρονοβόρο, ιδιαίτερα όταν πρόκειται για τον εντοπισμό συγκεκριμένων γονιδίων μέσα στο αχανές ανθρώπινο γονιδίωμα των 3 δισεκατομμυρίων βάσεων. Πολλά εργαστήρια σε όλο τον κόσμο έχουν ξεκινήσει ένα πραγματικό αγώνα δρόμου για το ποιος θα απομονώσει πρώτος ορισμένα από τα χιλιάδες γονίδια που σχετίζονται με γνωστές γενετικές νόσους.

Το όφελος που προκύπτει από την απομόνωση τέτοιων γονιδίων είναι προφανές διότι δίνεται η δυνατότητα να μελετηθεί η δομή και η λειτουργία τους και να τεθούν οι βάσεις για αποτελεσματικότερη διάγνωση, πρόληψη και θεραπεία των ασθενειών που προκαλούν.

Έχουν αναπτυχθεί διάφορες τεχνικές απομόνωσης και κλωνοποίησης γονιδίων οι οποίες διαφέρουν ανάλογα με το είδος του γονιδίου υπο αναζήτηση. Υπάρχουν γονίδια που απομονώνονται ευκολότερα από άλλα διότι το προϊόν τους, δηλαδή η πρωτεΐνη που παράγουν, ανιχνεύεται σε συγκεκριμένα κύτταρα ενός οργανισμού, γεγονός που διευκολύνει τον εντοπισμό τους.

Ειδικά στη γονιδιακή θεραπεία, έχει πρωταρχική σημασία η απομόνωση ανθρώπινων γονιδίων που η ελαττωματική τους έκφραση σχετίζεται με την εμφάνιση μιας γενετικής ασθένειας όπως το γονίδιο της μυϊκής δυστροφίνης, το γονίδιο του διαμεμβρανικού ρυθμιστή της κυστικής ίνωσης, ή το γονίδιο p53 που έχει ογκοκατασταλτική δράση

Η διαδικασία της απομόνωσης συγκεκριμένων γονιδίων εξαρτάται κατά ένα μεγάλο βαθμό από το εάν είναι γνωστή ή όχι η πρωτεΐνη που παράγουν τα γονίδια αυτά. Η απομόνωση των γονιδίων αυτών διευκολύνεται εφόσον είναι γνωστή η πρωτεΐνη και οι ιστοί που την παράγουν (ιστοί όπου υπάρχει γονιδιακή έκφραση.).

2. ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ

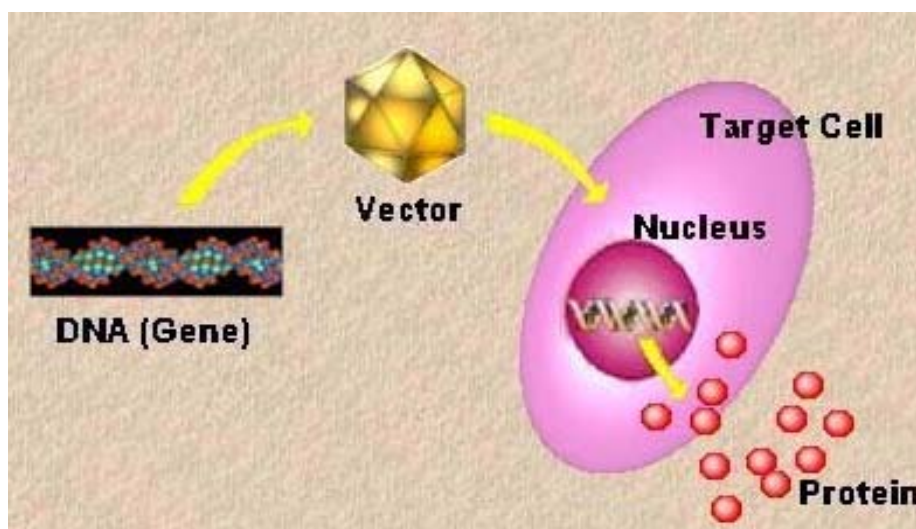
Το πιο εκπληκτικό συμπέρασμα που βγήκε από τις δοκιμές για αποτελεσματική μεταφορά γονιδίων σε ανθρώπους ήταν ότι η μεταφορά αυτή εξωγενών γονιδίων και η έκφραση τους σε ανθρώπινους οργανισμούς είναι πραγματικά εφικτή. Οι περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι η εισαγωγή γονιδίων σε κύτταρα ιστών ασθενών που πάσχουν από

συγκεκριμένες γενετικές ανωμαλίες μπορεί κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες να είναι πετυχημένη δηλαδή τα γονίδια μπορούν να μεταφερθούν και με τη δράση τους να επαναφέρουν τη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων και να καταστείλουν την ασθένεια.

Οι ερευνητές έχουν αναπτύξει ορισμένες τεχνικές μεταφοράς του γενετικού υλικού μέσα σε ανθρώπινα σωματικά κύτταρα για να επιτευχθεί γονιδιακή θεραπεία. Το γενετικό υλικό μπορεί να μεταφερθεί μέσα στα κύτταρα ενός ασθενούς είτε με έξω-σωματικές τεχνικές (ex-vivo) δηλαδή έξω από το ανθρώπινο σώμα, είτε με ενδοσωματικές τεχνικές (in-vivo) δηλαδή ενδοσωματικά.

Η διαδικασία μεταφοράς και στις δύο περιπτώσεις υποβοηθείται από έναν φορέα ή γενετικό <όχημα>, το οποίο μεταφέρει και παραδίδει το γενετικό υλικό ενδοκυτταρικά.

Η χρήση των διαφόρων φορέων που μεταφέρουν γονίδια εξαρτάται από το ποιος είναι ο κλινικός στόχος. Οι φορείς που δεν χρησιμοποιούνται είναι είτε ιοί που προσβάλλουν κύτταρα θηλαστικών όπως αδένοί ή ρετροϊοί είτε μη ιικοί φορείς όπως λιπιδώματα. Κάθε τύπος φορέα παρουσιάζει ορισμένα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα που θα αναφερθούν λεπτομερώς.



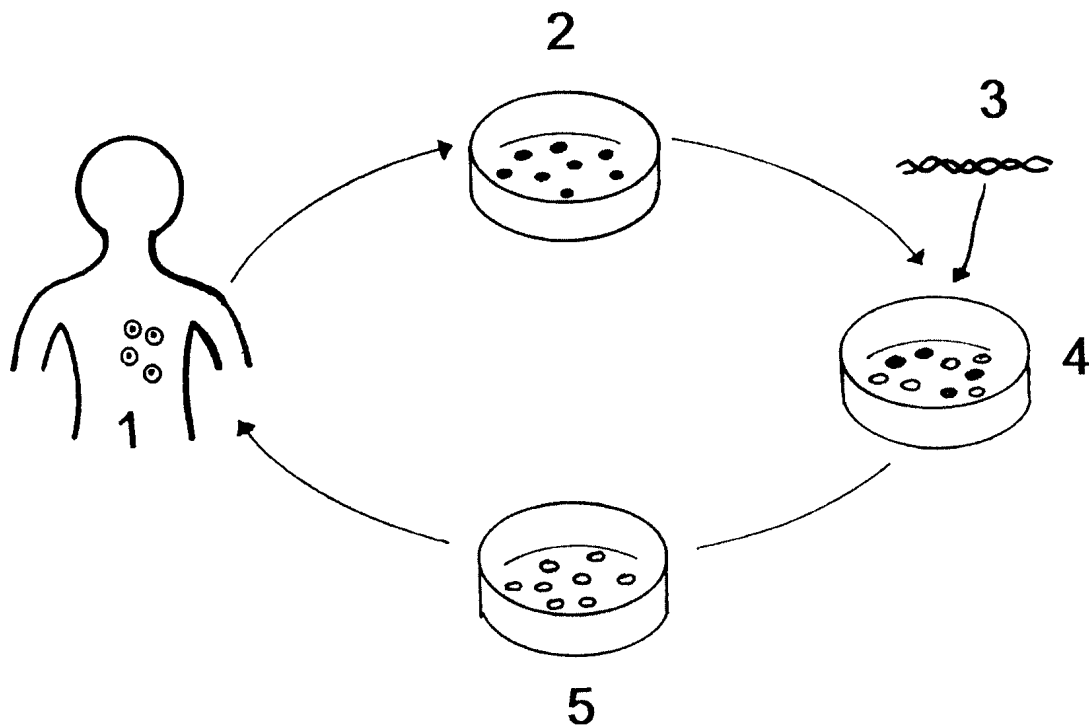
Η μεταφορά θεραπευτικού γενετικού υλικού σε κύτταρα ανθρώπων επιτυγχάνεται είτε εξωσωματικά, είτε ενδοσωματικά ανάλογα με τη δυνατότητα καλλιέργειας και επανεμφύτευσης του ιστού που εμφανίζει τα συμπτώματα της γενετικής ασθένειας.

Το εξωγενές γενετικό υλικό αφού μεταφερθεί στον πυρήνα των κυττάρων-στόχων μπορεί είτε να ενσωματωθεί στο γονιδίωμα του κυττάρου, είτε να παραμείνει εξωχρωμοσωμικά. Η ενσωμάτωση ή μη του γενετικού υλικού εξαρτάται από τον τύπο του φορέα που θα χρησιμοποιηθεί.

2.1. ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗ (EX-VIVO) ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ

Η εξωσωματική (ex-vivo) μεταφορά γονιδίων είναι η πιο συνηθισμένη μέθοδος που χρησιμοποιείται σήμερα. Σε γενικές γραμμές, η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει καταρχήν την αφαίρεση κυττάρων που φέρουν ελαττωματικά γονίδια από τον ασθενή και την ανάπτυξη τους σε καλλιέργεια. Στην συνέχεια κλωνοποιημένο DNA που περιέχει το φυσιολογικό γονίδιο μεταφέρεται στα κύτταρα μέσω φορέων.

Επιλέγονται τα κύτταρα της καλλιέργειας τα οποία έχουν δεχτεί το εξωγενές DNA (δηλαδή έχουν μετασχηματιστεί) και πολλαπλασιάζονται in-vitro. Τα μετασχηματισμένα κύτταρα ξαναεισάγονται στον ασθενή (εικόνα 1).



Εξωσωματική γονιδιακή μεταφορά (ex vivo). Κύτταρα του ιστού που εκδηλώνουν την ασθένεια (πχ Τ λεμφοκύτταρα) αφαιρούνται (1) και τοποθετούνται σε καλλιέργεια (2). Το θεραπευτικό γονίδιο (3) εισάγεται μέσω φορέων στα κύτταρα της καλλιέργειας (4) και μετασχηματίζει ορισμένα από αυτά (άσπρες κουκκίδες). Τα μετασχηματισμένα κύτταρα επανεμφυτεύονται στον ασθενή (5).

Εικόνα 1.

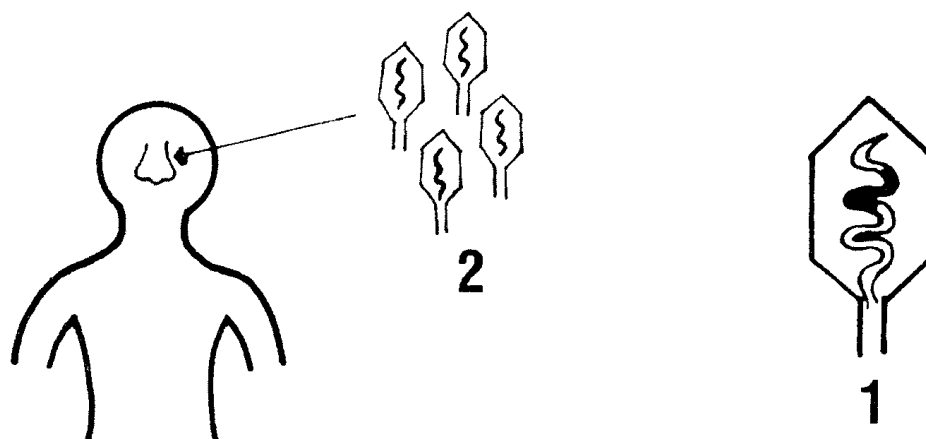
Συνήθως χρησιμοποιούνται κύτταρα που προέρχονται από τον ασθενή που θα υποστεί τη γονιδιακή θεραπεία ώστε κατά την επανεμφύτευση τους να μην κινδυνεύουν να απορριφθούν από το ανοσολογικό του σύστημα.

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται κυρίως σε κύτταρα ιστών που παρέχουν τη δυνατότητα να αφαιρεθεί ένα μέρος τους από το ανθρώπινο σώμα, να τροποποιηθεί γενετικά και να επανεμφυτευθεί.

Τέτοια κύτταρα είναι τα κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος που αποτελούν και συχνά αιτίες γενετικών ανωμαλιών, όπως η Βαριά Συνδυασμένη Ανοσοανεπάρκεια (Severe Combined Immunodeficiency ή σύνδρομο SCID).

2.2. ΕΝΔΟΣΩΜΑΤΙΚΗ (IN-VIVO) ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ

Στην ενδοσωματική (in-vivo) γονιδιακή μεταφορά, τα κλωνοποιημένα γονίδια μεταφέρονται κατευθείαν στους ιστούς του ασθενή (εικόνα 2). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται όταν δεν υπάρχει τρόπος αποτελεσματικής εξωσωματικής καλλιέργειας των κυττάρων-στόχων in-vitro ή όταν τα καλλιεργημένα κύτταρα δεν μπορούν να ξαναεμφυτευτούν αποτελεσματικά στους ασθενείς.



Ενδοσωματική (in vivo) γονιδιακή μεταφορά. Ο γενετικά τροποποιημένος ιός που περιέχει το θεραπευτικό γονίδιο (1) χρησιμοποιείται ως φορέας για την εισαγωγή του γονιδίου απευθείας στα κύτταρα του ασθενή (2) που εκδηλώνουν την ασθένεια (πχ στο ρινικό επιθήλιο στην περίπτωση της κυστικής ίνωσης).

Εικόνα 2.

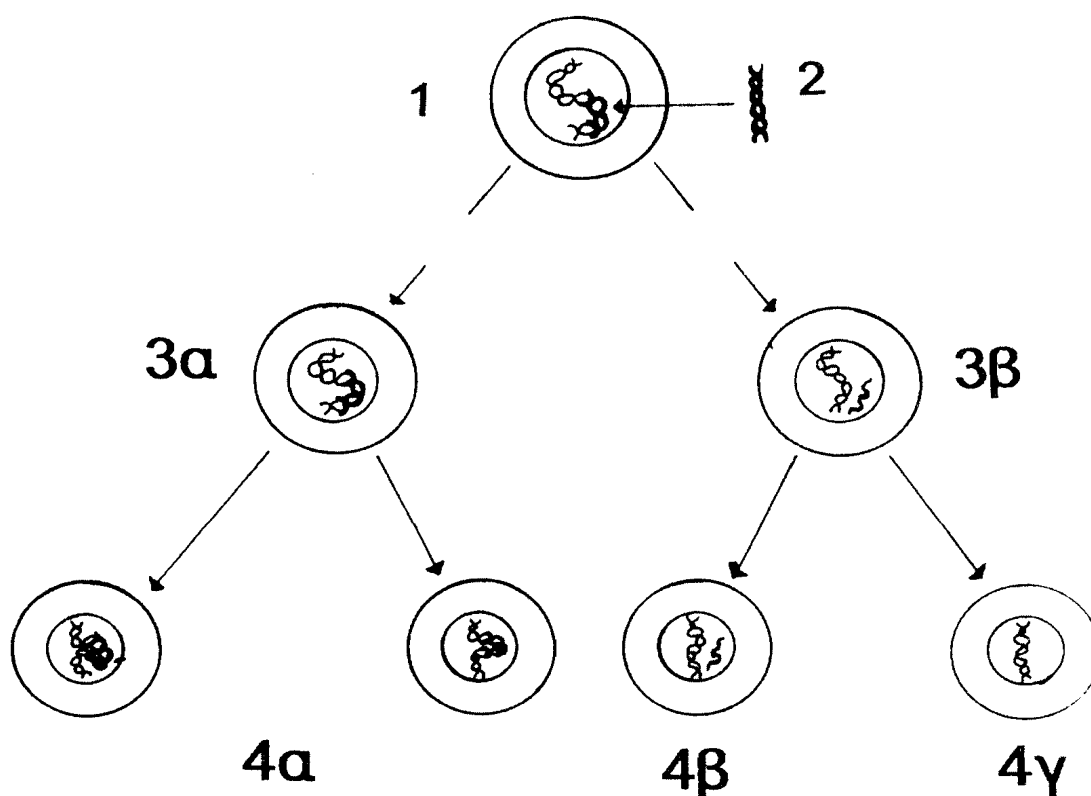
Παράδειγμα ενδοσωματικής γονιδιακής μεταφοράς είναι η περίπτωση της κυστικής ίνωσης (cystic fibrosis) στην οποία φορείς που μεταφέρουν το υγιές γονίδιο της κυστικής ίνωσης (το CFTR) εισάγονται στο ρινικό επιθήλιο.

Για την αντιμετώπιση της μυϊκής δυστροφίας (muscular dystrophy) οι ερευνητές μελετούν την περίπτωση του απευθείας εμβολιασμού με γενετικό υλικό στο μυϊκό ιστό ζώων με σκοπό να αναδιοργανώσουν το σώμα ώστε να παράγει φυσιολογικές μυϊκές πρωτεΐνες.

2.3. ΜΕΤΕΦΕΡΟΜΕΝΑ ΓΟΝΙΔΙΑ.

Υπάρχουν πολλές διαφορετικές φυσικοχημικές και βιολογικές μέθοδοι μεταφοράς γονιδιακού υλικού σε ανθρώπινα κύτταρα. Υπάρχει όμως συνήθως ένας περιορισμός που αφορά το μέγεθος του DNA που μπορεί να μεταφερθεί. Τα μεγαλομοριακά γονίδια είναι δύσκολο να μεταφερθούν και για αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται τροποποιημένα γονίδια πιο μικρού μεγέθους προκειμένου να γίνει πιο αποτελεσματική η μεταφορά. Τα γονίδια αυτά ονομάζονται "μίνι γονίδια".

2.4. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΕΞΩΓΕΝΟΥΣ DNA ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ.



Εισαγωγή εξωγενούς DNA σε κύτταρα. Στο κύτταρο-στόχος (1), εισάγεται το εξωγενές γονίδιο (2) κλωνοποιημένο σε φορέα. Στη συνέχεια, ανάλογα με τον τύπο του φορέα που χρησιμοποιήθηκε, το εξωγενές DNA μπορεί είτε να ενσωματωθεί μέσα στο γονιδίωμα του κυτάρου (3α), είτε να παραμείνει σαν εξωχρωμοσωμικό DNA (3β). Κατά την κυτταρική διαίρεση, το εξωγενές ενσωματωμένο DNA κληρονομείται σταθερά στα θυγατρικά κύτταρα (4α). Το μη ενσωματωμένο εξωγενές DNA μπορεί είτε να κληρονομηθεί στα θυγατρικά κύτταρα (4β), είτε να χαθεί (4γ).

Εικόνα 3.

Μετά την εισαγωγή του στο κύτταρο το εξωγενές θεραπευτικό DNA μεταφέρεται στον πυρήνα των κυττάρων στόχων και μπορεί α) είτε

να ενσωματωθεί στα χρωμοσώματα του κυττάρου β)είτε να παραμείνει ως εξωχρωμοσωμικό γενετικό στοιχείο (εικόνα 3) :

A) Όταν το εξωγενές DNA ενσωματωθεί στα χρωμοσώματα του κυττάρου

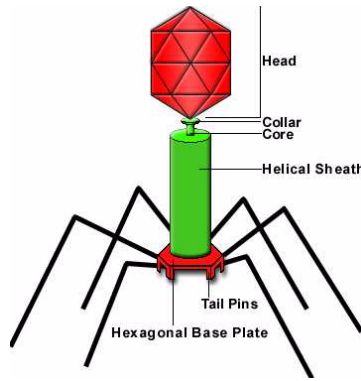
- Το πλεονέκτημα είναι ότι το εξωγενές DNA κληρονομείται στους απογόνους του κυττάρου και εξασφαλίζεται μακροχρόνια σταθερή έκφραση του γονιδίου.
- Το μειονέκτημα είναι ότι η ενσωμάτωση του DNA γίνεται συνήθως σε τυχαίες θέσεις στο χρωμόσωμα του κυττάρου με αποτέλεσμα να υπάρχει κίνδυνος απενεργοποίησης ή διαταραχής της έκφρασης των γονιδίων που βρίσκονται στην περιοχή της ενσωμάτωσης. Το φαινόμενο αυτό είναι ιδιαίτερα επικίνδυνο αν ενεργοποιηθεί ένα ογκογονίδιο υπεύθυνο για τη δημιουργία καρκινικών κυττάρων.

B) Όταν το εξωγενές DNA δεν ενσωματωθεί στα χρωμοσώματα του κυττάρου.

Στις περιπτώσεις που το εξωγενές DNA δεν ενσωματώνεται στα χρωμοσώματα του κυττάρου παραμένει σαν εξωχρωμοσωμικό γενετικό στοιχείο μέσα στον πυρήνα του κυττάρου και εκφράζεται σε πρωτεΐνη.

- Το μειονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι ότι το γονίδιο που μεταφέρεται με το εξωγενές DNA δεν κληρονομείται σταθερά στα θυγατρικά κύτταρα και επομένως δεν διατηρείται η μακροχρόνια έκφραση του γονιδίου (δηλαδή δεν παράγεται η συγκεκριμένη πρωτεΐνη για μεγάλο χρονικό διάστημα).
- Το πλεονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί στις περιπτώσεις εκείνες που δεν είναι απαραίτητη η μακροχρόνια έκφραση των γονιδίων (π.χ. σε γονιδιακές θεραπείες καρκινικών κυττάρων).

3. ΠΚΟΙ ΦΟΡΕΙΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ.



Προκειμένου να επιτευχθεί η αποτελεσματική μεταφορά των θεραπευτικών γονιδίων χρησιμοποιούνται ειδικά μόρια που λειτουργούν σαν φορείς ή οχήματα τα οποία παραδίδουν το ξένο γενετικό υλικό στα κύτταρα στόχους.

Μια μεγάλη κατηγορία φορέων που χρησιμοποιείται ευρέως βασίζεται σε ιούς που προσβάλλουν κύτταρα θηλαστικών και παρουσιάζουν σημαντικά πλεονεκτήματα σαν φορείς για τη μεταφορά γονιδίων σε ζωντανά κύτταρα ζώων ή ανθρώπων.

Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα των ιών αυτών είναι ότι διαθέτουν εξαιρετικά αποτελεσματικούς φυσικούς μηχανισμούς για να μεταφέρουν το γενετικό τους υλικό μέσα στα κύτταρα θηλαστικών όπου χρησιμοποιούν το μηχανισμό του ξενιστή για να πολλαπλασιαστούν.

Επομένως η γονιδιακή θεραπεία εκμεταλλεύεται τους φυσικούς αυτούς μηχανισμούς χρησιμοποιώντας συγκεκριμένους τύπους ιών σαν "οχήματα" μεταφοράς γενετικού υλικού σε ζωντανά κύτταρα θηλαστικών.

Οι ιοί αυτοί τροποποιούνται γενετικά δηλαδή αφαιρούνται τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την αναπαραγωγή του ιού ώστε να μην μπορεί ο ιός να πολλαπλασιάζεται ανεξέλεγκτα αφού εισέλθει στα κύτταρα. Συγχρόνως προστίθεται στο γενετικό υλικό των ιών το θεραπευτικό γονίδιο δηλαδή εκείνο που όταν εκφραστεί θα επιφέρει την αποκατάσταση του φυσιολογικού φαινότυπου. Με τον τρόπο αυτό κατασκευάζεται ένας ιικός φορέας.

Οι πιο συνηθισμένοι τύποι ιικών φορέων που χρησιμοποιούνται είναι οι φορείς των Ρετροϊών και των Αδενοϊών. Το θεραπευτικό γονίδιο κλωνοποιείται στο γενετικό υλικό των ιικών φορέων μαζί με ένα ισχυρό υποκινητή και οι φορείς προσβάλλουν ζωντανά κύτταρα ζώων ή ανθρώπων είτε ενδοσωματικά είτε εξωσωματικά και τους μεταφέρουν το γενετικό τους υλικό.

Εκτός από τους ρετρο'ιούς και τους αδενοϊούς, χρησιμοποιούνται και άλλοι ιικοί φορείς όπως οι adeno-associated ιοί και ο φορέας του απλού έρπητα ιού που έχει τη δυνατότητα να προσβάλλει ιστούς του νευρικού συστήματος. Οι ιικοί φορείς παρουσιάζουν πολλά

πλεονεκτήματα όμως έχουν και αρκετούς περιορισμούς που δεν τους καθιστούν ακόμα σαν τους ιδανικούς φορείς.

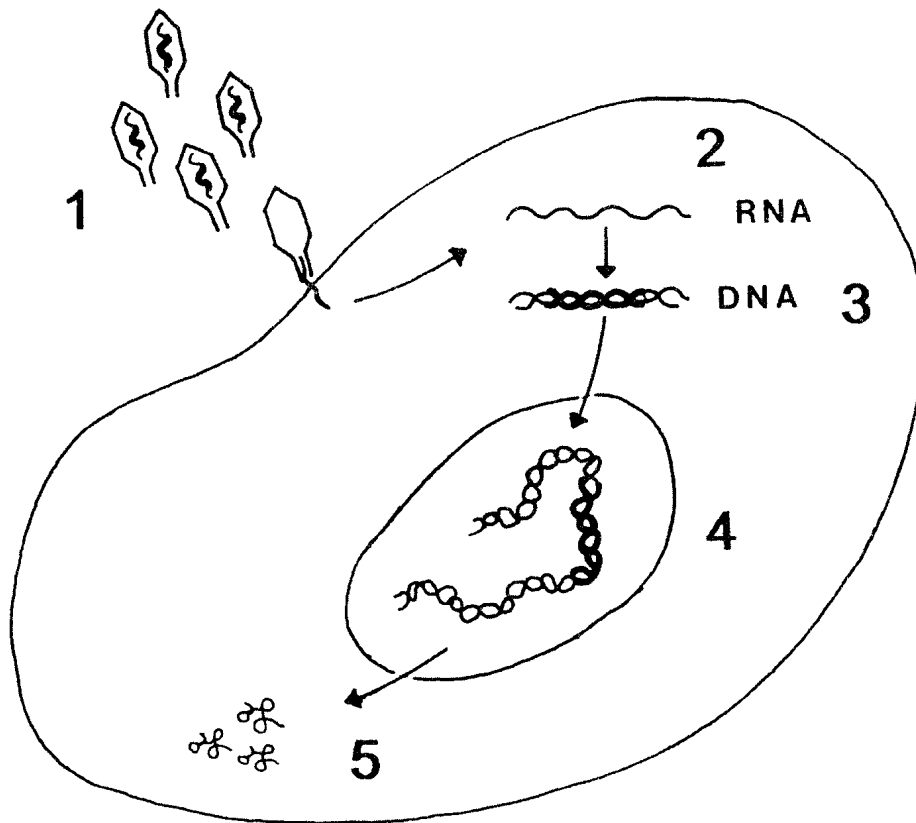
3.1. ΦΟΡΕΙΣ ΡΕΤΡΟΪΩΝ

Οι ρετροϊοί ανήκουν στην κατηγορία των RNA ιών οι οποίοι έχουν σαν γενετικό υλικό RNA(και όχι DNA). Είναι μοναδικοί μεταξύ των γνωστών ιών που σε κάποιο στάδιο της ζωής τους συνθέτουν DNA απο RNA. Διαθέτουν ένα ειδικό ένζυμο το οποίο είναι υπεύθυνο για τη σύνθεση του δίκλωνου DNA από το μονόκλωνο RNA και επειδή το ένζυμο αυτό αντιστρέφει τη ροή της γενετικής πληροφορίας έχει ονομαστεί "αντίστροφη μεταγραφάση".

Το δίκλωνο DNA συντίθεται στο κυτταρόπλασμα του ξενιστή αμέσως μετά την προσβολή του κυττάρου από τον ιό. Στη συνέχεια μετακινείται στον πυρήνα του κυττάρου και ενσωματώνεται σε ένα από τα χρωμοσώματα του ξενιστή.

Όταν οι ρετροϊοί χρησιμοποιούνται σαν φορείς, συνδέονται με ένα επιλεγμένο γονίδιο και δημιουργούνται ανασυνδυασμένοι φορείς ρετροϊών. Οι φορείς αφού συσκευαστούν σε ιικά σωματίδια, εισάγονται στα κύτταρα στόχους μέσω ειδικών υποδοχέων στην μεμβράνη των κυττάρων.

Στο κυτταρόπλασμα, το ανασυνδυασμένο ιικό RNA που φέρει το γονίδιο μετατρέπεται σε DNA και το RNA μεταφέρεται στον πυρήνα και ενσωματώνεται στο γονιδίωμα του κυττάρου. Το επόμενο στάδιο περιλαμβάνει την έκφραση σε πρωτεΐνη του γονιδίου που μεταφέρθηκε μέσω του φορέα και ενσωματώθηκε στα χρωμοσώματα (εικόνα 4).



Γονιδιακή μεταφορά με ρετροϊούς Οι ρετροϊοί έχουν γενετικά τροποποιηθεί ώστε να φέρουν το εξωγενές θεραπευτικό γονίδιο και να έχουν αφαιρεθεί τα "λοιμογόνα" γονίδια τους (1). Το RNA των ρετροϊών εισέρχεται μέσα στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου-στόχος (2) και μετατρέπεται σε DNA με την βοήθεια του ενζύμου αντίστροφη μεταγραφή (3). Το DNA του ρετροϊού εισέρχεται στον πυρήνα του κυττάρου και ενσωματώνεται στο γονιδίωμα του (4). Το ρετροϊικό DNA που περιέχει και το θεραπευτικό γονίδιο εκφράζεται και παράγεται η πρωτεΐνη (5).

Εικόνα 4.

Από τους φορείς έχουν αφαιρεθεί όλα τα γονίδια του ιού που μπορούν να εκφραστούν σε ικά αντιγόνα και επομένως αποφεύγεται η πρόκληση ανοσολογικών αντιδράσεων.

Ένας ρετροϊικός φορέας μπορεί να δεχτεί ως 8Kb ξένο DNA το οποίο είναι αρκετό για τις περισσότερες εφαρμογές γονιδιακής θεραπείας. Οι ρετροϊικοί φορείς μπορούν επίσης να κατασκευαστούν σε μεγάλες με πολύ αυστηρές προδιαγραφές ασφαλείας. Οι φορείς αυτοί χρησιμοποιούνται σταθερά στις επόμενες γενεές κυττάρων και έτσι εξασφαλίζεται η μακροχρόνια έκφραση των γονιδίων αυτών.

Η σταθερή κληρονόμηση και έκφραση των εξωγενών γονιδίων είναι πλεονέκτημα στις περιπτώσεις χρόνιων και κληρονομικών ανωμαλιών όπου είναι απαραίτητη η μακροχρόνια έκφραση των γονιδίων που δρουν ως θεραπευτικοί παράγοντες. Το χαρακτηριστικό αυτό όμως μπορεί να έχει και αρνητικές επιπτώσεις όπως την συσώρευση μεγάλων ποσοτήτων πρωτεΐνης που μπορεί να είναι τοξική για το

κύτταρο ή την ενσωμάτωση του γονιδίου σε κάποια θέση στο γονιδίωμα που θα διαταράξει τη λειτουργία των άλλων γονιδίων.

Ένα από τα μειονεκτήματα των ρετροϊών είναι ότι μπορούν να προκαλέσουν μεταλλάξεις στις θέσεις όπου ενσωματώνονται στο χρωμόσωμα των κυττάρων. Η ενσωμάτωση του γονιδιώματος του ιού γίνεται σε τυχαίες θέσεις και μπορεί να παρεμβληθεί στην αλληλουχία ενός γονιδίου και να παρεμποδίσει τη φυσιολογική του λειτουργία.

Επίσης ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των ρετροϊών είναι ότι προσβάλλουν μόνο ορισμένους τύπους κυττάρων, συγκεκριμένα μόνο τα κύτταρα που υφίστανται ενεργές κυτταρικές διαιρέσεις. Συνεπώς η χρήση των ρετροϊικών φορέων για γονιδιακή θεραπεία περιορίζεται σε αναπαραγόμενα κύτταρα και δεν μπορεί να επεκταθεί σε μη αναπαραγόμενα κύτταρα όπως είναι τα ηπατοκύτταρα, οι μυϊκές ίνες, τα αιματοποιητικά βλαστοκύτταρα και οι νευρώνες (πίνακας 1.).

Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των ρετροϊικών φορέων

Πλεονεκτήματα

- Σταθερή ενσωμάτωση του φορέα στο DNA του κυττάρου-στόχου με αποτέλεσμα μακροχρόνια έκφραση μεταφερόμενων γονιδίων
- Υψηλή αποτελεσματικότητα μεταφοράς γονιδίων

Μειονεκτήματα

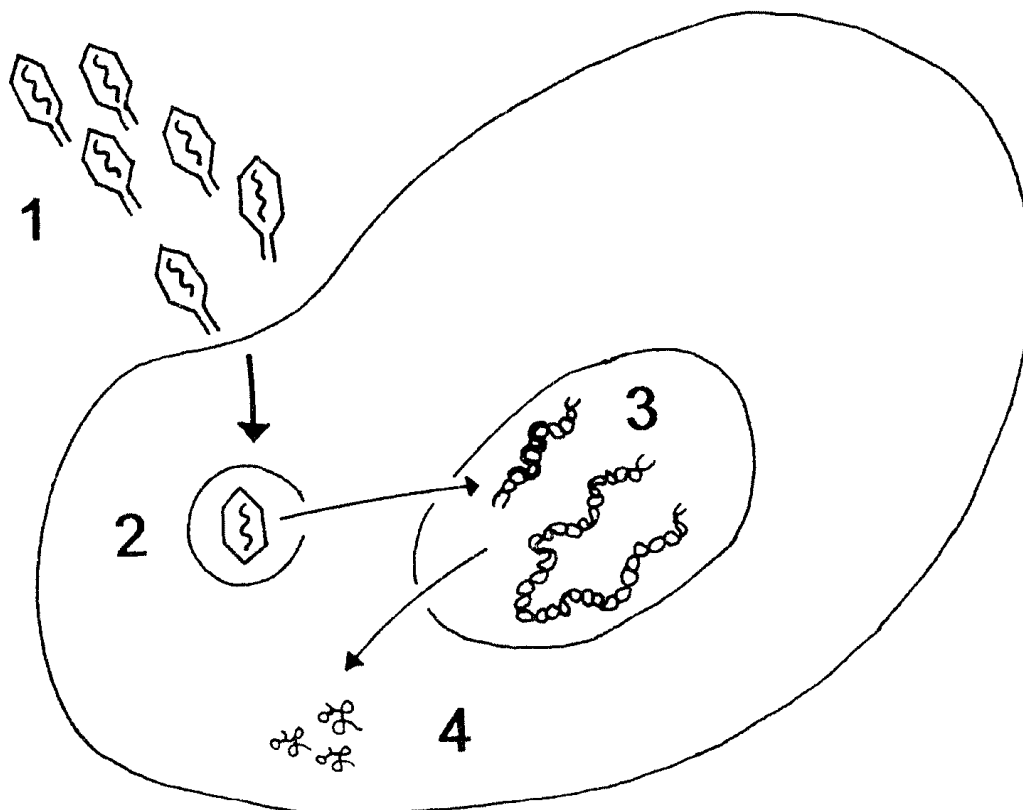
- Πιθανή πρόκληση μεταλλαγών στις θέσεις ενσωμάτωσης
- Προσβολή μόνο αναπαραγόμενων κυττάρων

Πίνακας 1.

Οι φορείς Ρετροϊών χρησιμοποιούνται συνήθως μόνο για εξωσωματική γονιδιακή θεραπεία. Ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος ρετροϊός είναι ο ιός MLV(murine leukemia). Οι πιο συχνά ρετροϊικοί φορείς έχουν χρησιμοποιηθεί στην αντιμετώπιση της ανεπάρκειας της αδενοσινικής απαμινάσης(adenosine deaminase deficiency ADA),της οικογενούς υπερχοληστερλαιμίας(familial hypercholesterolemia) και σε ασθενείς με όγκους.

3.2. ΦΟΡΕΙΣ ΑΔΕΝΟΙΩΝ

Οι αδενοϊοί είναι η δεύτερη μεγάλη κατηγορία ιών που χρησιμοποιούνται σαν φορείς για την μεταφορά γονιδίων στα ανθρώπινα κύτταρα. Σε αντίθεση με τους ρετροϊούς που προσβάλλουν μόνο ενεργά αναπαραγόμενα κύτταρα, οι αδενοϊοί έχουν το πλεονέκτημα ότι προσβάλλουν περισσότερους τύπους κυττάρων (δηλαδή ενεργά και μη ενεργά αναπαραγόμενα κύτταρα.).



Μεταφορά γονιδίων με αδενοϊούς. Οι αδενοϊοί έχουν γενετικά τροποποιηθεί ώστε να φέρουν το εξωγενές θεραπευτικό γονίδιο και να έχουν αφαιρεθεί τα “λοιμογόνα” γονίδια τους (1). Οι αδενοϊοί εισέρχονται μέσα στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου-στόχος και εσωκλείονται σε ενδοσωμάτια (2). Το DNA του αδενοϊού εισέρχεται στον πυρήνα του κυττάρου και παραμένει έξω από το γονιδίωμα του (3). Το αδενοϊικό DNA που περιέχει και το θεραπευτικό γονίδιο εκφράζεται και παράγεται η πρωτεΐνη (4).

Εικόνα 5.

Οι ανασυνδυασμένοι φορείς που μεταφέρουν το επιλεγμένο γονίδιο εισέρχονται στα κύτταρα στόχους μέσω υποδοχέων της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Οι φορείς αρχικά περικλείονται σε ένα κυτταροπλασματικό ενδοσωμάτιο, το οποίο λύεται και ελευθερώνει το δίκλωνο DNA του ιού στον πυρήνα. Το ιικό DNA που περιέχει και το επιλεγμένο γονίδιο παραμένει όμως έξω από χρωμοσώματα δηλαδή δεν ενσωματώνεται σε αυτά(σε αντίθεση με τους ρετροϊούς οι οποίοι ενσωματώνουν το DNA τους στο χρωμόσωμα του ξενιστή). (εικόνα 5)

Κατά την διαίρεση του κυττάρου, το εξωχρωμοσωμικό DNA δεν μεταφέρεται σε όλα τα θυγατρικά κύτταρα. Επομένως το γονίδιο που έχει μεταφερθεί δεν εκφράζεται σε πρωτεΐνη για μεγάλο χρονικό διάστημα. Η διάρκεια της γονιδιακής έκφρασης του μεταφερόμενου γονιδίου κυμαίνεται από μερικές εβδομάδες σε μερικούς μήνες.

Για το λόγο αυτό οι αδενοϊκοί φορείς πρέπει να ξαναχορηγούνται σε τακτά χρονικά διαστήματα για να διατηρείται η έκφραση των γονιδίων που μεταφέρουν.

Η μη ενσωμάτωση του μεταφερόμενου γονιδίου στα χρωμοσώματα του κυττάρου μπορεί να είναι επιθυμητή σε ορισμένες περιπτώσεις όπου δεν απαιτείται μόνιμη αλλαγή του γονότυπου των κυττάρων. Οι αδενοϊκοί όμως έχουν το μειονέκτημα ότι προκαλούν αρκετές φλεγμονώδεις αντιδράσεις λόγω επαναλαμβανόμενων δόσεων που πρέπει να χορηγούνται στους ασθενείς.

Οι αδενοϊκοί φορείς έχουν εφαρμοστεί μόνο σε in-vivo κλινικές δοκιμές γονιδιακής θεραπείας σε ανθρώπους. Ένα παράδειγμα εφαρμογής των αδενοϊκών φορέων είναι στην αντιμετώπιση της κυστικής ίνωσης. Επίσης έχουν γίνει μεταφορές γονιδίων in-vivo με αδενοϊκούς φορείς σε κύτταρα του ήπατος, των αγγείων, του εγκεφάλου, των μυών, της καρδιάς, του περιτόναιου και των σιελογόνων αδένων (πίνακας 2.).

Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των αδενοϊκών φορέων

Πλεονεκτήματα

- Προσβάλλουν πολλούς τύπους κυττάρων
- Υψηλή αποτελεσματικότητα μεταφοράς γονιδίων
- Παραγωγή σε μεγάλες ποσότητες

Μειονεκτήματα

- Προκαλούν αρκετές φλεγμονώδεις αντιδράσεις
- Βραχυχρόνια έκφραση γονιδίων (ανάλογα με την περίπτωση μπορεί να θεωρηθεί και πλεονέκτημα)

Πίνακας 2.

3.3. Ο ΙΟΣ ΤΟΥ AIDS ΩΣ ΦΟΡΕΑΣ

Μια από τις κυριότερες αδυναμίες των ρετροϊκών φορέων είναι ότι μπορούν να προσβάλουν μόνο κύτταρα που υφίστανται ενεργή κυτταρική διαίρεση. Αυτό το χαρακτηριστικό περιορίζει της χρήση τους στη γονιδιακή θεραπεία καθώς τα περισσότερα κύτταρα στόχοι δεν είναι ενεργά διαιρούμενα (όπως οι νευρώνες και τα βλαστοκύτταρα που αποτελούν τη βάση του ανοσοποιητικού συστήματος.)

Πολύ πρόσφατα μια ομάδα ερευνητών γονιδιακής θεραπείας επιχείρησαν ένα εξαιρετικά ενδιαφέρον πείραμα, να κατασκευάσουν ένα

νέο φορέα βασισμένο στον ιό του AIDS. Ο νέος αυτός φορέας του ιού HIV (είναι ρετροϊός που ανήκει στην οικογένεια των Λεντιών-*Lentiviruses*) έχει τις ιδιότητες των ρετροϊών αλλά και το επιπρόσθετο πλεονέκτημα ότι μπορεί να μεταφέρει γονίδια και να ενσωματωθεί στο γονιδίωμα ενός ευρέος φάσματος τύπων κυττάρων μεταξύ των οποίων και μη αναπαραγόμενα κύτταρα. Για λόγους ασφαλείας αφαίρεσαν από τον ιό όλα τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την αναπαραγωγή του.

Τα πρόσφατα πειράματα της ομάδας των ερευνητών σε ζώα, έδειξαν ότι οι φορείς HIV μπορούν να χρησιμοποιηθούν για αποτελεσματική ενδοσωματική (in-vivo) μεταφορά γονιδίων. Επιπλέον οι φορείς αυτοί ενσωματώνονται στο γονιδίωμα των κυττάρων και διατηρούνται εκεί σταθερά, επομένως δεν είναι απαραίτητη η συνεχής χορήγηση φορέων. Συγκεκριμένα μεταφέρθηκε το γονίδιο της β-γαλακτοζιδάσης σε φορείς HIV οι οποίοι εμβολιάστηκαν στον εγκέφαλο αρουραίων. Βρέθηκε ότι οι φορείς εισήγαγαν το γονίδιο στους νευρώνες (που είναι μη διαιρούμενα κύτταρα) όπου και εκφράστηκε με την παραγωγή της πρωτεΐνης β-γαλακτοζιδάσης.

Πολλοί ερευνητές παραμένουν ακόμα επιφυλακτικοί για τη χρήση του ιού HIV σε εφαρμογές γονιδιακής θεραπείας. Η βασικότερη επιφύλαξη είναι ότι παρόλα τα μέτρα ασφαλείας υπάρχει κίνδυνος ο φορέας του ιού HIV να μετατραπεί σε μορφή ικανή να προσβάλλει άλλα κύτταρα πέρα από τα κύτταρα στόχους. Για την επέκταση των πειραμάτων σε ανθρώπους, οι ερευνητές διατυπώνουν την γνώμη ότι ίσως θα έπρεπε να κατασκευαστούν φορείς από λεντιούς που προσβάλλουν άλλα είδη θηλαστικών και όχι τον άνθρωπο.

4. ΜΗ ΙΚΟΙ ΦΟΡΕΙΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Η χρήση ικών φορέων για τη μεταφορά γονιδίων στα ανθρώπινα κύτταρα εκτός από πλεονεκτήματα παρουσιάζει και αρκετά

Τα μειονεκτήματα της χρήσης των ικών φορέων στις εφαρμογές γονιδιακής θεραπείας.

- Πρόκληση φλεγμονωδών αντιδράσεων στους οργανισμούς όπου εισέρχονται αδενοϊικοί φορείς
 - Κίνδυνος οι ρετροϊοί που έχουν ενσωματωθεί σταθερά στο χρωμόσωμα των κυττάρων να αποκοπούν, να σχηματίσουν νέα ιικά σωματίδια και να προσβάλλουν και άλλα κύτταρα εκτός από τα κύτταρα-στόχους
 - Κίνδυνος για πρόκληση μεταλλαγών (μεταλλαξογένεση) από την ενσωμάτωση των ρετροϊών σε τυχαίες θέσεις στο χρωμόσωμα των κυττάρων
 - Αδυναμία ορισμένων ικών φορέων να προσβάλλουν ευρύ φάσμα από τύπους κυττάρων
- μειονεκτήματα (πίνακας 3).

Πίνακας 3.

Για την αντιμετώπιση αυτών των μειονεκτημάτων οι ερευνητές προσπαθούν να αναπτύξουν εναλλακτικές στρατηγικές για την μεταφορά γονιδιακού υλικού μέσα στα κύτταρα. Ορισμένες από αυτές τις στρατηγικές περιλαμβάνουν την χρήση μυϊκών φορέων όπως ο απευθείας μεταβολισμός του DNA μέσα στα κύτταρα και η χρήση λιποσωμάτων για τη μεταφορά γονιδίων.

Προς το παρόν όμως δεν έχει ανακαλυφθεί κάποιος μη ικός φορέας ο οποίος να θεωρείται ότι καλύπτει πλήρως όλες τις απαιτήσεις για αποτελεσματική γονιδιακή μεταφορά και θα πρέπει η τεχνολογία να εξελιχθεί ακόμη περισσότερο προκειμένου να χρησιμοποιηθούν ευρέως αυτού του είδους οι φορείς.

4.1. ΑΠΕΥΘΕΙΑΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ

Το DNA εμβολιάζεται μέσω σύριγγας στους ιστούς όπου υπάρχουν τα κύτταρα στόχοι όπως π.χ. στους μύες στη μυϊκή δυστροφία. Μία άλλη προσέγγιση χρησιμοποιεί μεταλλικές κάψουλες που περιέχουν το μεταφερόμενο DNA οι οποίες εκτοξεύονται με ειδικό πιστόλι στα κύτταρα.

Οι μέθοδοι αυτές είναι απλές και σχετικά ασφαλείς αλλά παρουσιάζουν χαμηλή αποτελεσματικότητα μεταφοράς και ενσωμάτωσης του DNA.

4.2. ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΑ

Τα λιποσώματα είναι σφαιρικά σωματίδια που αποτελούνται από συνθετικά στρώματα λιπιδίων που μιμούνται τη δομή των βιολογικών μεμβρανών.

Τα λιποσώματα παρουσιάζουν αρκετά πλεονεκτήματα ως φορείς γονιδίων για τη μεταφορά τους σε κύτταρα ανθρώπου:

- ◆ Προκαλούν λιγότερες φλεγμονώδεις αντιδράσεις από ότι οι ιικοί φορείς
- ◆ Δεν υπάρχει κίνδυνος να μετατραπούν σε μολυσματικούς παράγοντες
- ◆ Μπορούν να μεταφέρουν γονίδια μεγάλου μεγέθους

Το μειονέκτημα τους είναι το πολύ χαμηλό ποσοστό αποτελεσματικότητας: χρειάζονται χιλιάδες πλασμίδια μέσα σε ένα κύτταρο-στόχος για να επιτευχθεί η γονιδιακή μεταφορά στον πυρήνα του κυττάρου (πίνακας 4.).

Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των λιποσωμάτων ως φορέων

Πλεονεκτήματα

- Λιγότερες φλεγμονώδεις αντιδράσεις
- Δεν μετατρέπονται σε μολυσματικούς παράγοντες
- Μεταφέρουν γονίδια μεγάλου μεγέθους

Μειονεκτήματα

- Χαμηλή αποτελεσματικότητα μεταφοράς γονιδίων

Πίνακας 4.

5. ΣΤΟΧΕΥΟΜΕΝΗ ΚΑΤΑΣΤΟΛΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ

Σε πολλές περιπτώσεις μια ασθένεια προκύπτει από την ανεξέλεγκτη έκφραση ενός γονιδίου του οποίου το προϊόν (δηλαδή η πρωτεΐνη) διαταράσσει κάποια ή κάποιες από τις φυσιολογικές λειτουργίες του κυττάρου. Τέτοιες περιπτώσεις παρουσιάζονται σε μεταδοτικές ασθένειες από ιούς καθώς και σε περιπτώσεις καρκίνων οι οποίοι οφείλονται στην έκφραση βλαβερών γονιδίων ή στην ελαττωματική έκφραση ενός υπάρχοντος γονιδίου (όπως η ενεργοποίηση ορισμένων ογκογονιδίων που προκαλούν καρκίνους)

Ένας τρόπος που μπορούν να αντιμετωπιστούν αυτές οι ασθένειες είναι με τη στοχευόμενη *in-vivo* καταστολή ή την παρεμπόδιση της λειτουργίας του γονιδίου που είναι υπεύθυνο για την εκδήλωση της ασθένειας. Ο τρόπος αυτός αποτελεί μια σημαντική εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας που ονομάζεται στοχευόμενη καταστολή της γονιδιακής έκφρασης (*targetted inhibition of gene expression*).

Η στοχευόμενη καταστολή της γονιδιακής έκφρασης διαφέρει από την κλασσική γονιδιακή θεραπεία κατά την οποία πλήρη φυσιολογικά γονίδια μεταφέρονται στα κύτταρα του ασθενή για να αντικαταστήσουν τα γονίδια που λείπουν ή είναι ελαττωματικά.

Η στοχευόμενη καταστολή της γονιδιακής έκφρασης μπορεί να εφαρμοστεί σε ένα από τα τρία στάδια της έκφρασης των γονιδίων, δηλαδή κατά τη διάρκεια της μεταγραφής ή της μετάφρασης ή στην ίδια πρωτεΐνη όταν αυτή έχει σχηματιστεί.

Έχουν αναπτυχθεί τρεις νέες μέθοδοι για την καταστολή της γονιδιακής θεραπείας όπου η κάθε μέθοδος εφαρμόζεται σε ένα από τα τρία στάδια έκφρασης των γονιδίων. Οι μέθοδοι αυτές βασίζονται στην κατασκευή μορίων που δρουν σαν μοριακοί καταστολείς.

Οι μοριακοί καταστολείς δεσμεύονται σε ορισμένες θέσεις στο DNA, ή στο mRNA ή στην πρωτεΐνη εμποδίζοντας με αυτόν τον τρόπο την έκφραση ενός συγκεκριμένου γονιδίου. Οι μέθοδοι αυτές είναι:

1. Η μέθοδος της τριπλής έλικας(triple helix)που εφαρμόζεται στο δίκλωνο DNA και το εμποδίζει να μεταγραφεί σε RNA
2. Η μέθοδος του αντί-νοηματικού RNA(anti-sense RNA)που εφαρμόζεται στο mRNA και το εμποδίζει να μεταφραστεί σε πρωτεΐνη
3. Η μέθοδος των ενδοκυτταρικών αντισωμάτων (intracellular antibodies)που δεσμεύονται σε πρωτεΐνες μέσα στα κύτταρα, καταστέλλοντας την δράση τους.

ΜΕΡΟΣ Γ'

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΟΝΟΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόστηκε για πρώτη φορά σε μια μονογονιδιακή ασθένεια (single-gene disorder) η οποία οφείλεται στην έλλειψη ή στην ανωμαλία της λειτουργίας ενός συγκεκριμένου γονιδιακού προϊόντος. Οι μονογονιδιακές ασθένειες θεωρητικά αντιμετωπίζονται πιο εύκολα με γονιδιακή θεραπεία διότι ένα μόνο μεταλλαγμένο γονίδιο προκαλεί ανεπάρκεια στην παραγωγή μιας πρωτεΐνης και έχει ως αποτέλεσμα να εκδηλώνεται ασθένεια. Αν είναι γνωστό ποιο γονίδιο είναι υπεύθυνο για την ασθένεια τότε μπορεί να χορηγηθούν φυσιολογικά αντίγραφα του γονιδίου για να επιτευχθεί γονιδιακή θεραπεία.

Η μεταφορά μέσω φορέων και η έκφραση του εξωγενούς φυσιολογικού αντιγράφου του γονιδίου στα κύτταρα ενός ασθενούς οργανισμού μπορεί να αντισταθμίσει την έλλειψη φυσιολογικής πρωτεΐνης που έχει δημιουργηθεί. Η φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων τότε αποκαθίσταται γιατί παράγεται αρκετή ποσότητα της πρωτεΐνης που έλειπε.

Ορισμένες κληρονομικές ασθένειες που οφείλονται στην μεταλλαγή ενός γονιδίου (μονογονιδιακές ασθένειες)

Ασθένεια

Ανοσοανεπάρκεια
Υπερχοληστερολαιμία
Αιμορροφιλία
Ασθένεια Gaucher
Εμφύσημα
Κυστική Ίνωση
Φαινυλκετονουρία
Μυϊκή δυστροφία
Θαλασσαιμία
Δρεπανοκυτταρική αναιμία
Υπεραμμωναιμία

Υπεύθυνο γονίδιο

Αδενοσινικής απαμινάσης
Υποδοχέα LDL
Παράγοντα ΙΧ, παράγοντα VIII
Γλυκοσερεβροζιδάσης
α1-αντιθρυψίνης
Διαμεμβρανικού ρυθμιστή κυστικής ίνωσης
Υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης
Δυστροφίνης
β-σφαιρίνης
β-σφαιρίνης
Τρανσκαρβαμυλάσης της ορνιθίνης

Πίνακας 5

Ο τρόπος αυτός της γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται γονιδιακή ενίσχυση (gene augmentation). Η γονιδιακή ενίσχυση έχει εφαρμοστεί περισσότερο σε κληρονομικές ασθένειες που οφείλονται σε μεταλλαγή ενός γονιδίου, οι οποίες διακρίνονται σε υποτελείς(ή αλλιώς

υπολειπόμενες) και σε επικρατείς. Πολλές από τις ασθένειες αυτές είναι σοβαρές ως και θανατηφόρες, δεν υπάρχει άλλη αποτελεσματική θεραπεία και δοκιμάζεται για αυτές η γονιδιακή θεραπεία με την ελπίδα ότι θα προσδώσει καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα. Έχουν χαρακτηριστεί αρκετές τέτοιες ασθένειες μέχρι στιγμής και το σημαντικότερο είναι ότι έχουν κλωνοποιηθεί και ταυτοποιηθεί τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για αυτές (πίνακας 5).

1. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τον βαθμό ευκολίας ή δυσκολίας αντιμετώπισης με γονιδιακή θεραπεία μίας ασθένειας που οφείλεται σε ένα μεταλλαγμένο γονίδιο.

Ευκολότερη αντιμετώπιση με γονιδιακή θεραπεία:

Δυσκολότερη αντιμετώπιση με γονιδιακή θεραπεία:

Τρόπος κληρονομικότητας

Ομοζυγώτες σε μεταλλαγμένα γονίδια παρουσιάζουν βελτίωση όταν εισάγεται το θεραπευτικό γονίδιο, έστω και αν αυτό έχει χαμηλή έκφραση

Ετεροζυγώτες σε ένα μεταλλαγμένο γονίδιο χρειάζονται πολύ υψηλή έκφραση του εισαγόμενου θεραπευτικού γονιδίου

Φύση μεταλλαγής

Η ανεπάρκεια γονιδιακής έκφρασης μπορεί να αντιμετωπιστεί με "γονιδιακή ενίσχυση" δηλαδή εισαγωγή επιπρόσθετων φυσιολογικών γονιδίων

Όταν η μεταλλαγή ενός γονιδίου δημιουργεί πρωτεΐνες με νέες ιδιότητες (π.χ. τοξικές) τότε πρέπει να κατασταλεί επιλεκτικά η έκφραση του γονιδίου, (μεγάλος βαθμός δυσκολίας)

Πρόσβαση σε κύτταρα-στόχους

Ιστοί που μπορούν να απομονωθούν, να καλλιεργηθούν και να ξαναεμφυτευθούν στο ανθρώπινο σώμα (κύτταρα του αίματος, δέρμα κτλ)

Ιστοί στους οποίους η πρόσβαση είναι δύσκολη (π.χ. εγκέφαλος) ή που δεν μπορούν να καλλιεργηθούν (π.χ. κύτταρα του πνεύμονα)

Μέγεθος κωδικοποιούσας αλληλουχίας DNA

Τα μικρά σε μέγεθος γονίδια εισάγονται πιο εύκολα σε φορείς και μεταφέρονται πιο εύκολα

Τα μεγαλύτερα γονίδια εισάγονται δυσκολότερα σε φορείς και μεταφέρονται δυσκολότερα

Έλεγχος γονιδιακής έκφρασης

"Χαλαρός" έλεγχος γονιδιακής έκφρασης (πχ. στην ADA) δηλαδή η ποσότητα παραγόμενης πρωτεΐνης που χρειάζεται για να λειτουργήσει το κύτταρο δεν είναι αυστηρά προκαθορισμένη

Ισχυρός έλεγχος γονιδιακής έκφρασης (π.χ. η β-σφαιρίνη) δηλαδή χρειάζεται πολύ συγκεκριμένη ποσότητα της πρωτεΐνης για να αποκατασταθεί η φυσιολογική λειτουργία του κυττάρου

Πίνακας 6.

Υπάρχουν διάφοροι παράγοντες που καθορίζουν τον βαθμό ευκολίας ή δυσκολίας αντιμετώπισης μιας μονογονιδιακής ασθένειας με γονιδιακή θεραπεία. Ένας από τους βασικότερους παράγοντες είναι ο τρόπος κληρονομικότητας της ασθένειας αυτής. Άλλοι παράγοντες είναι η φύση της μεταλλαγής, η πρόσβαση σε κύτταρα-στόχους, το μέγεθος της κωδικοποιούσας αλληλουχίας DNA που μεταφέρεται και ο έλεγχος της γονιδιακής έκφρασης του μεταφερόμενου γονιδίου (πίνακας 6.).

Σχετικά με τον τρόπο κληρονομικότητας οι μονογονιδιακές ασθένειες διακρίνονται στις υποτελείς και στις επικρατείς, ανάλογα με το αν το μεταλλαγμένο γονίδιο κληρονομείται ως υπολειπόμενο ή ως επικρατές. Οι υποτελείς ασθένειες είναι πιο ευνοϊκές για την εφαρμογή γονιδιακής θεραπείας για τους λόγους που εξηγούνται παρακάτω.

Οι υποτελείς (recessive) μονογονιδιακές ασθένειες οφείλονται σε μεταλλαγμένα γονίδια τα οποία κληρονομούνται ως υπολειπόμενα. Οι ετεροζυγότες που φέρουν ένα φυσιολογικό και ένα μεταλλαγμένο γονίδιο δεν παρουσιάζουν συμπτώματα μιας ασθένειας γιατί το ένα γονίδιο εκφράζεται φυσιολογικά και η ποσότητα της πρωτεΐνης που παράγει αρκεί για να λειτουργεί φυσιολογικά το κύτταρο. Οι ομοζυγώτες συνήθως εκδηλώνουν τις ασθένειες γιατί είναι ομοζυγώτες ως προς το μεταλλαγμένο γονίδιο, δηλαδή έχουν και τα δύο αλληλόμορφα γονίδια τους μεταλλαγμένα και επομένως υπάρχει πλήρης ή σχεδόν πλήρης έλλειψη της γονιδιακής έκφρασης δηλαδή της πρωτεΐνης που παράγει το γονίδιο.

Επομένως οι περιπτώσεις των ομοζυγωτών οι οποίοι πάσχουν από μια υποτελή νόσο είναι ευνοϊκές για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι στα κύτταρα των ασθενών αυτών δεν εκφράζεται σχεδόν καθόλου το φυσιολογικό γονίδιο. Συνεπώς ένα εισαγόμενο φυσιολογικό γονίδιο στα κύτταρα που φέρουν την ασθένεια μπορεί να επιφέρει μεγάλη βελτίωση, έστω και αν το γονίδιο αυτό εκφράζεται σε μικρές ποσότητες πρωτεΐνης (περίπτωση της ανεπάρκειας της απαμινάσης της αδενοσίνης). Αντίθετα οι επικρατείς κληρονομικές ασθένειες αντιμετωπίζονται πιο δύσκολα με γονιδιακή θεραπεία. Στις ασθένειες αυτές οι ασθενείς είναι συνήθως ετεροζυγώτες δηλαδή έχουν ένα φυσιολογικό γονίδιο και ένα μεταλλαγμένο αλληλόμορφο γονίδιο το οποίο είναι επικρατές και εκδηλώνει την ασθένεια. Στις περιπτώσεις αυτές το φυσιολογικό προϊόν παράγεται μόνο από το ένα αλληλόμορφο γονίδιο ενώ το άλλο αλληλόμορφο γονίδιο παράγει ελαττωματικό προϊόν ή δεν παράγει καθόλου.

Επομένως η πρωτεΐνη παράγεται μόνο στο 50% της φυσιολογικής ποσότητας. Η ασθένεια όμως εκδηλώνεται παρόλο που υπάρχει η μισή ποσότητα της πρωτεΐνης γιατί προφανώς είναι απαραίτητη όλη η ποσότητα για να λειτουργήσει σωστά το κύτταρο. Αυτό σημαίνει ότι για να αποκατασταθεί ο φυσιολογικός φαινότυπος στις επικρατείς ασθένειες

πρέπει το εισαγόμενο γονίδιο να εκφραστεί σε πολύ υψηλά επίπεδα, γεγονός που είναι δύσκολο να επιτευχθεί στην παρούσα φάση με την γονιδιακή θεραπεία.

Το Σεπτέμβριο του 1990 η Ashanti DeSilva, ηλικίας 4 ετών έγινε η πρώτη ασθενής η οποία υποβλήθηκε σε γονιδιακή θεραπεία. Η μικρή ασθενής έπασχε από σοβαρή συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια έχουσα κληρονομήσει ένα ελαττωματικό γονίδιο από τους γονείς της. Το γονίδιο αυτό φυσιολογικά παράγει ένα ένζυμο, την adenosine deaminase που απαιτείται για την κατάλληλη λειτουργία του ανοσιακού συστήματος. Χωρίς αυτό το σημαντικό γονίδιο το ανοσιακό σύστημα της Ashanti κατέρρευσε, αφήνοντας την εκτεθειμένη στις λοιμώξεις. Η θεραπεία της πραγματοποιήθηκε στα National Institutes of Health από την ομάδα των Blease, Cylver, και Anderson. Αφαιρέθηκαν τα λευκά αιμοσφαίρια, εισήχθησαν φυσιολογικά αντίγραφα του ελαττωματικού γονιδίου στην κυτταρική συλλογή και επανεισήχθησαν τα επεξεργασμένα κύτταρα στην αιματική κυκλοφορία της ασθενούς. Η χορήγηση έγινε με 4 εγχύσεις εντός 4 μηνών και η κατάσταση της βελτιώθηκε θεαματικά. Σήμερα είναι σε ηλικία 9 ετών και είναι εντελώς καλά στην υγεία της!

2.ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΑΠΑΜΙΝΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΔΕΝΟΣΙΝΗΣ

Το SCID οφείλεται σε μια πολύ σπάνια αυτοσωματική υποτελή κληρονομική ασθένεια η οποία προκαλείται από μεταλλαγές στο γονίδιο που κωδικοποιεί το ένζυμο της απαμινάσης της αδενοσίνης(adenosine deaminase ή ADA).

Το ένζυμο αυτό δρά στην αποικοδόμηση των πουρινών. Το ανοσοποιητικό σύστημα των ασθενών με ανεπάρκεια της ADA δεν λειτουργεί φυσιολογικά και πάσχουν από το σύνδρομο SCID το οποίο συνήθως είναι θανατηφόρο.

Η κλασική θεραπεία που ακολουθείται είναι συνήθως η μεταμόσχευση του μυελού των οστών από δότη με ίδιο ανθρώπινο λευκοκυτταρικό αντιγόνο (HLA=human leucocyte antigen). Η θεραπεία αυτή μπορεί να εφαρμοστεί σε περιορισμένο αριθμό ασθενών.

2.1. ΕΥΝΟΪΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΓΙΑ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η ασθένεια αυτή ήταν η πρώτη που αντιμετωπίστηκε με γονιδιακή θεραπεία. Διάφοροι παράγοντες συνέλαβαν θετικά στην εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας όπως:

- ◆ Η ασθένεια είναι υποτελής και ένα μικρό ποσοστό των φυσιολογικών επιπέδων της ADA αν αποκατασταθεί (ως και 5%) αυτό θα έχει θεραπευτικά αποτελέσματα.
- ◆ Το γονίδιο της ADA είναι μικρό και πολύ καλά μελετημένο.
- ◆ Τα κύτταρα-στόχοι είναι τα T λεμφοκύτταρα που μπορούν να απομονωθούν και να καλλιεργηθούν εύκολα.

2.2. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Κατά τη διάρκεια της εξωσωματικής γονιδιακής θεραπείας το συμπληρωματικό DNA του φυσιολογικού γονιδίου της αδενοσινικής απαμινάσης εισάγεται σε ένα ρετροϊικό φορέα. Οι φορείς που περιέχουν το γονίδιο ADA μεταφέρονται σε καλλιέργειες T λεμφοκυττάρων που έχουν απομονωθεί από τον ασθενή και φέρουν το ελλατωματικό ADA γονίδιο (είναι δηλαδή ADA⁻). Επιλέγονται τα T κύτταρα που μετατρέπονται σε ADA⁺(δηλαδή ενσωματώνουν το φυσιολογικό γονίδιο της ADA) καλλιεργούνται και ξαναεμφυτεύονται στον ασθενή.

Η ανοσολογική αντίδραση των ασθενών που υποβάλλονται σε αυτήν την θεραπεία παρουσιάζει βελτίωση. Σε κλινικές δοκιμές που ξεκίνησαν το 1990 σε δύο παιδιά με το σύνδρομο SCID, παρατηρήθηκε ομαλοποίηση του αριθμού των T λεμφοκυττάρων. Επίσης η λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος με διάφορα τέστ αντιγόνων. Στην μία ασθενή διαπιστώθηκε ανοσολογική αντίδραση σε 5 από τα 7 αντιγόνα, 455 ημέρες μετά την έναρξη της γονιδιακής θεραπείας. Ενώ πριν την θεραπεία δεν παρουσίαζε καμιά αντίδραση. Η βελτιωμένη αυτή ανοσολογική λειτουργία παρέμεινε μέχρι την 1252^η ημέρα. Παρόμοια αποτελέσματα παρουσιάστηκαν και στην άλλη ασθενή.

Σε όλες όμως τις γονιδιακές θεραπείες που γίνονται μέχρι σήμερα για την αποκατάσταση της ανεπάρκειας της ADA χρησιμοποιείται παράλληλα και η κλασσική μέθοδος της ενζυματικής αντικατάστασης. Ο λόγος που γίνεται αυτό είναι γιατί προτιμάται να εδραιωθεί πρώτα η αποτελεσματικότητα και η διάρκεια της γονιδιακής μεταφοράς προτού χρησιμοποιηθεί ως μοναδικός τρόπος θεραπείας.

Μέχρι τώρα είναι γεγονός ότι κανένας ασθενής δεν έχει πλήρως αποθεραπευτεί, διότι η ασθένεια παρουσιάζει βελτίωση προσωρινή και οι επεμβάσεις πρέπει να επαναλαμβάνονται σε τακτά χρονικά διαστήματα. Σίγουρα όμως υπάρχουν ελπίδες για την περαιτέρω ανάπτυξη της θεραπείας αυτής στο εγγύς μέλλον.

3. ΟΙΚΟΓΕΝΗΣ ΥΠΕΡΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΑ

Η οικογενής υπερχοληστερολαιμία (familial hypercholesterolemia) είναι μια αυτοσωματική επικρατής κληρονομική αρρώστια που προκαλείται από την έλλειψη στο ήπαρ υποδοχέων της χοληστερόλης λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL)

Το αποτέλεσμα είναι ότι η LDL δεν μεταβολίζεται φυσιολογικά και η νόσος χαρακτηρίζεται από υψηλή στάθμη χοληστερόλης του ορού (300-660mg/dl), από LDL μεγαλύτερη από 200mg/dl, από πρόωμη αθηροσκλήρωση και από αυξημένο κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου.

Η ασθένεια είναι από τις πιο συχνές μονογονιδιακές ασθένειες, εμφανίζεται με μια συχνότητα 1:500 και το 50% περίπου των αρρένων ετεροζυγωτών πεθαίνουν πριν από τα 60 χρόνια τους αν δεν υποβληθούν σε θεραπεία. Οι ομοζυγώτες συνήθως πεθαίνουν από έμφραγμα του μυοκαρδίου προς το τέλος της παιδικής ή της εφηβικής ηλικίας. Η ασθένεια αυτή οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο που είναι υπεύθυνο για την παραγωγή των υποδοχέων της LDL.

3.1. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Η αντιμετώπιση της ασθένειας με γονιδιακή θεραπεία έγινε με τον εξωσωματικό τρόπο. Χρησιμοποιήθηκε ένα ρετροϊκός φορέας που συνδέθηκε με το συμπληρωματικό DNA (cDNA) του φυσιολογικού γονιδίου του υποδοχέα της LDL και το μετέφερε σε ηπατικά κύτταρα του ασθενή. Τα ηπατικά κύτταρα είχαν αφαιρεθεί χειρουργικά από το συκώτι του ασθενή και είχαν τοποθετηθεί σε καλλιέργεια. Τα ηπατικά κύτταρα που τροποποιήθηκαν γενετικά, δηλαδή είχαν ενσωματώσει το φυσιολογικό γονίδιο του υποδοχέα της LDL, ξαναεμφυτεύθηκαν πίσω στον ασθενή μέσω ενός καθετήρα που τοποθετήθηκε στην πυλαία φλέβα. Μετά την επανεμφύτευση των γενετικά τροποποιημένων ηπατικών κυττάρων παρουσιάστηκε πτώση του επιπέδου της χοληστερόλης LDL για μια περίοδο 18 μηνών. Αυτό σημαίνει ότι ηπατικά κύτταρα λειτούργησαν *in-vivo* και μεταβόλισαν κανονικά την χοληστερόλη LDL. Αρκετούς μήνες μετά την επανεμφύτευση, η βιοψία του συκωτιού έδειξε ότι τουλάχιστον 5% των ηπατοκυττάρων είχαν ενσωματώσει το γονίδιο του υποδοχέα της LDL και το γονίδιο αυτό εκφραζόταν κανονικά *in-vivo*. Όπως και στην περίπτωση της ανεπάρκειας της ADA στην οικογενή υπερχοληστερολαιμία χρησιμοποιήθηκαν παράλληλα με την γονιδιακή θεραπεία και άλλες μέθοδοι θεραπείας. Επομένως είναι δύσκολο να εκτιμηθεί με ακρίβεια η συμβολή της γονιδιακής θεραπείας στην βελτίωση των συμπτωμάτων. Δοκιμές πάντως σε ασθενείς με σοβαρές μεταλλάξεις στο γονίδιο του υποδοχέα της LDL έδειξαν μερική διόρθωση

σε μια σειρά από παραμέτρους που έχουν σχέση με το μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών. Μπορεί συνεπώς να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η συγκεκριμένη γονιδιακή θεραπεία όντως προκαλεί μια βιολογική αντίδραση που σχετίζεται με τη νόσο.

Τα βασικότερα προβλήματα που αντιμετωπίζει η θεραπεία αυτή είναι:

Η χαμηλή αποτελεσματικότητα των φορέων που χρησιμοποιούνται για την μεταφορά των γονιδίων

Η ανοσολογική αντίδραση που προκαλείται από τον ασθενή.

4. ΚΥΣΤΙΚΗ ΙΝΩΣΗ

Η κυστική ίνωση (cystic fibrosis) είναι η πιο κοινή θανατηφόρα κληρονομική ασθένεια στην βόρεια Αμερική. Είναι μια αυτοσωμική υποτελής ασθένεια που οφείλεται σε μεταλλαγές ενός γονιδίου το οποίο κωδικοποιεί τον διαμεμβρανικό ρυθμιστή της κυστικής ίνωσης (cystic fibrosis transmembrane regulator ή CFTR). Η συχνότητα των ετεροζυγωτών φορέων που έχουν ένα φυσιολογικό γονίδιο και ένα μεταλλαγμένο είναι περίπου 1 στους 25.

Οι φορείς δεν παρουσιάζουν συμπτώματα αλλά τα παιδιά δύο φορέων έχουν μια στις τέσσερις πιθανότητες να κληρονομήσουν και τα δύο μεταλλαγμένα γονίδια από τους γονείς και να νοσήσουν από την κυστική ίνωση. Περίπου 1 στα 2500 νεογέννητα Βορειοευρωπαϊκής καταγωγής φέρει την ασθένεια.

Ο CFTR είναι μια πρωτεΐνη που δρά σαν διάυλος ιόντων χλωρίου. Τα κανάλια αυτά βρίσκονται στην πλασματική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων των πνευμόνων, των ιδρωτοποιών αδένων του παγκρέατος, και άλλων ιστών. Οι ασθενείς με κυστική ίνωση έχουν ελαττωματικούς διαύλους ιόντων χλωρίου στα κύτταρα του αναπνευστικού συστήματος και υποφέρουν από χρόνιες αναπνευστικές μολύνσεις. Η ασθένεια χαρακτηρίζεται κλινικά από παχύρρευστες εκκρίσεις του παγκρέατος και των πνευμόνων και η διάγνωση γίνεται με την ανεύρεση αυξημένων ιόντων χλωρίου στον ιδρώτα. Ο μέσος όρος επιβίωσης των ασθενών είναι 25 έτη.

4.1. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Η γονιδιακή θεραπεία της κυστικής ίνωσης βασίζεται στην λογική ότι αν αποκατασταθεί η λειτουργία του CFTR γονιδίου τότε το αναπνευστικό σύστημα θα επανέλθει στην φυσιολογική του λειτουργία.

Σε αντίθεση με τις δύο προηγούμενες ασθένειες, στην περίπτωση της κυστικής ίνωσης δεν μπορεί να εφαρμοστεί εξωσωματική γονιδιακή θεραπεία γιατί τα πνευμονικά κύτταρα δεν μπορούν να καλλιεργηθούν εργαστηριακά. Επίσης δεν χρησιμοποιούνται ρετροϊκοί φορείς γιατί τα πνευμονικά κύτταρα που είναι κύτταρα-στόχοι είναι διαφοροποιημένα δηλαδή δεν βρίσκονται στο στάδιο της ενεργούς κυτταρικής διαίρεσης και έτσι δεν προσβάλλονται από ρετροϊούς.

Επομένως χρησιμοποιούνται αδενοϊκοί φορείς ή λιποσώματα για την μεταφορά του cDNA του φυσιολογικού γονιδίου του CFTR ενδοσωματικά σε κύτταρα του ρινικού επιθηλίου. Οι μελέτες έδειξαν ότι προκαλείται μερική διόρθωση της ανεπάρκειας του CFTR για 1 ή 2 εβδομάδες (Zabner et al, 1996). Η γονιδιακή θεραπεία με αδενοϊκούς φορείς χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή διότι κατά την θεραπεία παρατηρούνται συχνά φλεγμονές. Για το λόγο αυτό προτιμάται η χρήση λιποσωμάτων αν και τότε η αποτελεσματικότητα της μεταφοράς γονιδίων είναι πολύ χαμηλή (Crystal, 1995).

Η γονιδιακή θεραπεία για την κυστική ίνωση μπορεί να γίνει πραγματικότητα πολύ νωρίτερα από ότι υπολογιζόταν. Μια προγεννητική θεραπεία για την κυστική ίνωση θα ελεγχθεί σε πιθήκους Rhesus. Η τεχνική θα είναι έτοιμη για μελέτες σε ανθρώπους σύντομα στις Ηνωμένες Πολιτείες.

Η προοπτική για την προγεννητική θεραπεία έγινε αντικείμενο συζήτησης τον τελευταίο χρόνο από τον French Anderson πανεπιστημίου της Νότιας Καλιφόρνιας στο Λος Άντζελες. Αλλά ο ίδιος δεν σκοπεύει να την εφαρμόσει σε ανθρώπινες μελέτες για αρκετά ακόμα χρόνια.

Η θεραπεία για την κυστική ίνωση αναπτύχθηκε από την Janet Larson στο Alton Ochsner Medical Foundation στην Νέα Ορλεάνη. Η ομάδα του Larson έχει θεραπεύσει τη νόσο σε έμβρυα ποντικών με την ένεση ενός ψυχρού ιού που κατασκευάστηκε για να μεταφέρει το γονίδιο CFTR στο αμνιοτικό υγρό του εμβρύου.

Η Larson τώρα σχεδιάζει να δοκιμάσει τη θεραπεία σε 12 εγκύους πιθήκους Rhesus. Τα έμβρυα δεν θα μεταφέρουν την νόσο αλλά θα ελεγχθούν για ασυνήθιστα υψηλή δραστηριότητα του γονιδίου CFTR όταν γεννηθούν οι πίθηκοι. Αν τα αποτελέσματα είναι θετικά η θεραπεία θα δοκιμαστεί σε έγκυες γυναίκες που μεταφέρουν έμβρυα με τη νόσο.

Η προγεννητική γονιδιακή θεραπεία παραμένει αντικείμενο συζήτησης. Εκφράζονται φόβοι ότι τα γονίδια αυτά που εισέρχονται στο οργανισμό μπορούν να εισβάλουν στους αναπαραγωγικούς ιστούς προκαλώντας αλλαγές που μπορεί να κληρονομούνται. Έτσι δεν είναι σαφές εάν το σχέδιο θα εγκριθεί από την αρμόδια επιτροπή για θέματα ανασυνδυασμένου DNA του Αμερικανικού Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας.

5. ΑΛΛΕΣ ΜΟΝΟΓΟΝΙΑΔΙΑΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Πολλές ακόμη μονογονιδιακές ασθένειες δοκιμάζονται να αντιμετωπιστούν με γονιδιακή θεραπεία. Μερικές από τις σημαντικότερες είναι η μυϊκή δυστροφία του Duchenne, η ασθένεια του Gaucher και η αιμοροφιλία.

5.1. ΜΥ'ΓΚΗ ΔΥΣΤΡΟΦΙΑ ΤΟΥ DUCHENNE

Η (Duchenne muscular dystrophy ή DMD) είναι μια σοβαρή φυλοσύνδετη στο χρωμόσωμα X υποτελής κληρονομική ασθένεια. Η συχνότητα εμφάνισης είναι 1:3500 αρένες ασθενείς οι οποίοι υποφέρουν από σταδιακή εξασθένηση του μυϊκού τους συστήματος και πεθαίνουν στην τρίτη δεκαετία της ζωής τους.

Η ασθένεια αυτή προκαλείται από ελλείψεις DNA στο γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη δυστροφίνη. Το γονίδιο της δυστροφίνης είναι από τα μεγαλύτερα ανθρώπινα γονίδια που έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα και αποτελείται από περισσότερες από 2 εκατομμύρια βάσεις.

Η αντιμετώπιση της ασθένειας αυτής με γονιδιακή θεραπεία συναντά αρκετές δυσκολίες κυρίως όσον αφορά το σύστημα της γονιδιακής μεταφοράς. Οι ρετροϊοί δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν γιατί δεν προσβάλλουν τα μυϊκά κύτταρα ενώ οι αδενοϊοί δεν προσφέρουν την απαραίτητη μακροχρόνια έκφραση των γονιδίων που μεταφέρουν. Ένα ακόμη πρόβλημα αποτελεί το πολύ μεγάλο μέγεθος του γονιδίου της δυστροφίνης, το οποίο είναι δύσκολο να μεταφερθεί.

5.2. ΑΣΘΕΝΕΙΑ ΤΟΥ GAUCHER

Η ασθένεια του Gaucher οφείλεται σε μεταλλαγές στο γονίδιο της γλυκοσερεβροζιδάσης που οδηγούν σε ανωμαλίες στην αποθήκευση γλυκολιπιδίων. Έχουν γίνει προσπάθειες για την εισαγωγή του φυσιολογικού γονιδίου στα ερυθροποιητικά πολυδύναμα αρχέγονα κύτταρα ανθρώπου και ποντικού και έχει επιτευχθεί μακροχρόνια έκφραση του γονιδίου. Πολλά προβλήματα όμως πρέπει ακόμη να αντιμετωπιστούν προκειμένου να είναι αποτελεσματική η γονιδιακή θεραπεία.

5.3. ΑΙΜΟΡΡΟΦΙΛΙΑ

Η αιμοροφιλία είναι μια γενετική ασθένεια που εμφανίζει ανωμαλίες στη διαδικασία της πήξης του αίματος. Η αιμοροφιλία οφείλεται σε μεταλλαγές γονιδίων που εδράζουν στο X χρωμόσωμα (είναι

υποτελής φυλοσύνδετη ασθένεια. Τα τρία τέταρτα περίπου των αιμορροφιλικών πάσχουν από την αιμορροφιλία τύπου A η οποία οφείλεται σε μεταλλαγές στο γονίδιο του παράγοντα VIII που έχουν ως αποτέλεσμα την ανεπάρκεια της παραγωγής του. Η αιμορροφιλία B είναι λιγότερο συχνή και οφείλεται σε μεταλλαγές στο γονίδιο του παράγοντα IX. Όσο μικρότερη είναι η στάθμη των παραγόντων στο πλάσμα των ασθενών τόσο πιο σοβαρά είναι τα συμπτώματα της αιμορροφιλίας.

Τα γονίδια των παραγόντων VIII και IX έχουν μελετηθεί σε πολλούς ασθενείς με αιμορροφιλία από όλο τον κόσμο και έχουν βρεθεί να παρουσιάζουν διαφορετικές μεταλλαγές και πολυμορφισμούς (οι μεταλλαγές οδηγούν συνήθως σε ελαττωματικά γονίδια ενώ οι πολυμορφισμοί είναι απλώς διαφορές στην αλληλουχία των βάσεων του DNA του γονιδίου).

Οι περισσότερες μεταλλαγές που προκαλούν την αιμορροφιλία A αφορούν αναστροφές στο χρωμόσωμα X (αποκολλήσεις ενός τμήματος DNA λόγω μεταλλαγής και επανακόληση στο ίδιο σημείο αλλά με αντίστροφη κατεύθυνση) που επηρεάζουν το γονίδιο του παράγοντα VIII. Επίσης σε ασθενείς με αιμορροφιλία B έχουν αναφερθεί πολλές διαφορετικές μεταλλαγές και πολυμορφισμοί στο γονίδιο του παράγοντα IX καθώς και στον υποκινητή του γονιδίου.

Όλες οι αλληλουχίες των μεταλλαγμένων γονιδίων των παραγόντων VIII και IX που έχουν μελετηθεί έχουν καταχωρηθεί σε μία βάση δεδομένων η οποία είναι διαθέσιμη σε όποιον ερευνητή τις αναζητήσει. Οι μεταλλαγές αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την γενετική διάγνωση της ασθένειας.

Μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του 1980 η μοναδική πηγή των παραγόντων πήξης αίματος ήταν το αίμα υγιών δοτών. Παρόλες τις διαδικασίες αποστείρωσης και μείωσης της πιθανότητας ύπαρξης παθογόνων οργανισμών στο τελικό παρασκεύασμα, το ποσοστό των μολύνσεων των ασθενών παρέμενε πολύ υψηλό. Υπολογίζεται ότι το 60% των αιμορροφιλικών ασθενών σε κάποιο στάδιο της ζωής τους, κατά την διάρκεια μεταγγίσεων είχαν μολυνθεί με κάποιο παθογόνο μικροοργανισμό προερχόμενο από το αίμα.

Η παραγωγή των παραγόντων VIII και IX με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA από κύτταρα ξενιστές σε άφθονες ποσότητες υψηλής καθαρότητας, έλυσε το πρόβλημα της μόλυνσης των ασθενών που υφίστανται μεταγγίσεις αίματος. Οι ανασυνδυασμένοι παράγοντες πήξης αίματος εκφράστηκαν σε θηλαστικά κύτταρα καλλιέργειών, έτσι ώστε να διευκολυνθεί η γλυκοζηλίωση των πρωτεϊνών.

Πρόσφατα πειράματα έχουν δείξει ότι ο ανασυνδυασμένος παράγοντας IX μπορεί να εκφραστεί και σε διαγονιδιακά ζώα και να εκκρίνεται από τον μαζικό αδένιο στο γάλα τους. Η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη που απομονώθηκε από το γάλα ποντικών και προβάτων έδειξε

πλήρη βιολογική δράση και επομένως υπάρχει δυνατότητα να αποτελέσουν στο μέλλον μια εναλλακτική πηγή των ανασυνδυασμένων παραγόντων πήξης αίματος. Επίσης η αιμορροφιλία είναι μια από τις κληρονομικές ασθένειες που έχουν δυνατότητα να αντιμετωπιστούν με γονιδιακή θεραπεία. Κατά την γονιδιακή θεραπεία, η μεταφορά του φυσιολογικού γονιδίου του παράγοντα VIII ή IX στα κύτταρα ενός ασθενή, θα αποτελέσει μια συνεχή in vivo πηγή των παραγόντων αυτών.

Ήδη πολλές έρευνες έχουν ξεκινήσει προς αυτή την κατεύθυνση με την μεταφορά του ανθρώπινου γονιδίου του παράγοντα IX σε ποντίκια.

Επίσης το γονίδιο του παράγοντα IX μεταφέρθηκε με επιτυχία σε καλλιέργεια ανθρώπινων κυττάρων μυελοειδούς λευχαιμίας.

ΜΕΡΟΣ Δ'

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Η γονιδιακή προσέγγιση για την αντιμετώπιση του καρκίνου εξελίσσεται παράλληλα με την διερεύνηση των γνώσεων μας σχετικά με την μοριακή βάση της παθογένεσης του καρκίνου. Η πρόοδος που έχει επιτευχθεί στον τομέα αυτόν τα τελευταία χρόνια είναι αρκετά σημαντική.

Ο καρκίνος είναι μια ασθένεια που μπορεί να δημιουργηθεί από μια σειρά γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων και οπωσδήποτε δεν αντιμετωπίζεται εύκολα με την εισαγωγή ενός μόνο θεραπευτικού γονιδίου, όπως στις περιπτώσεις των μονογονιδιακών ασθενειών που αναφέρθηκαν. Η αντιμετώπιση του καρκίνου με γονιδιακή θεραπεία απαιτεί την ανάπτυξη ποικίλων στρατηγικών με διαφορετικούς στόχους κάθε φορά ανάλογα με τον τύπο καρκίνου που παρατηρείται.

Είναι πλέον παραδεκτό ότι μονογονιδιακές μεταλλαγές μπορεί να οδηγήσουν στην ανάπτυξη διάφορων καρκίνων στον άνθρωπο, καθώς έχουν ανακαλυφθεί και ταυτοποιηθεί ειδικά γονίδια που ονομάζονται ογκογονίδια τα οποία όταν εκφραστούν οδηγούν στο σχηματισμό όγκων. Επίσης έχουν ανακαλυφθεί ειδικά αντί-ογκογονίδια (ή ογκοκατασταλτικά γονίδια) τα οποία στη φυσιολογική τους μορφή εμποδίζουν την ανάπτυξη όγκων. Πολλές από τις προσεγγίσεις της γονιδιακής θεραπείας του καρκίνου στοχεύουν στην εισαγωγή γενετικού υλικού στα καρκινικά κύτταρα που θα εξουδετερώσει την δράση των γονιδίων που επάγουν την δημιουργία όγκων.

Μια άλλη προσέγγιση της γονιδιακής θεραπείας του καρκίνου στοχεύει στην εισαγωγή ειδικών γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την ενίσχυση της ανοσολογικής αντίδρασης του ασθενή εναντίον των καρκινικών κυττάρων. Πολλά από τα γονίδια που ρυθμίζουν την ανοσολογική αντίδραση (όπως είναι τα γονίδια των κυτταροκινών) έχουν κλωνοποιηθεί και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε τέτοιου είδους εφαρμογές γονιδιακής θεραπείας.

Καθώς όλο και περισσότερο διευκάνεται η γονιδιακή βάση της δημιουργίας του καρκίνου, η μέθοδος της γονιδιακής θεραπείας αναπτύσσεται ως μια εναλλακτική θεραπεία η οποία αφήνει όσον είναι

δυνατόν ανέγγιχτο το φυσιολογικό ιστό σε σχέση με τις υπάρχουσες παραδοσιακές θεραπείες του καρκίνου όπως η χειρουργική επέμβαση, η ραδιοθεραπεία και η χημειοθεραπεία οι οποίες στοχεύουν στην εξουδετέρωση του όγκου.

1. ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Οι διάφορες στρατηγικές αντιμετώπισης του καρκίνου με γονιδιακή θεραπεία μπορούν να καταταγούν σε τέσσερις βασικές κατηγορίες ανάλογα με την προσέγγιση που ακολουθείται (πίνακας7).

Τρόποι αντιμετώπισης του καρκίνου με γονιδιακή θεραπεία

Γονιδιακή προσέγγιση	Περιγραφή
Καταστολή της λειτουργίας ογκογονιδίων	Επιλεκτική καταστολή της έκφρασης των ογκογονιδίων, που είναι υπεύθυνα για την δημιουργία όγκων, κυρίως με αντι-νοσηματικές αλληλουχίες
Ενίσχυση ή αποκατάσταση ογκοκατασταλτικών γονιδίων.	Έχουν βρεθεί περίπου 10 τέτοια γονίδια (tumor suppressors) τα οποία καταστέλλουν την κυτταρική ανάπτυξη ενώ αν μεταλλαχθούν, δηλαδή δεν λειτουργήσουν φυσιολογικά, τότε αναπτύσσονται όγκοι.
Γενετική ανοσοθεραπεία του καρκίνου	Εισαγωγή στα καρκινικά κύτταρα, γονιδίων που τα προϊόντα τους ενεργοποιούν το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενή εναντίον των δικών του καρκινικών κυττάρων (όπως πχ τα γονίδια των κυτταροκινών).
Προ-φαρμακευτική (pro-drug) αγωγή	Εισαγωγή ενός γονιδίου στα καρκινικά κύτταρα, του οποίου το προϊόν καθιστά τα καρκινικά κύτταρα ευαίσθητα στην δράση ενός φαρμάκου

Πίνακας 7

Ένα από τα βασικότερα προβλήματα που αντιμετωπίζει η γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου είναι η μεγάλη ποικιλομορφία γονιδιακών ανωμαλιών που παρουσιάζουν οι ασθενείς έτσι ώστε ο καθένας να αποτελεί μια διαφορετική μοναδική περίπτωση που χρειάζεται ίσως και διαφορετική αντιμετώπιση. Ένα ακόμα πρόβλημα είναι η μεταφορά των από τα ζώα στον άνθρωπο, η οποία αναγκαστικά καθυστερεί πολλά χρόνια προκειμένου να εξασφαλιστούν οι συνθήκες ασφαλείας.

Οι περισσότερες δοκιμές της γονιδιακής θεραπείας του καρκίνου μέχρι σήμερα εφαρμόζονται σε πειραματικά μοντέλα ζώων. Έχουν όμως εγκριθεί αρκετές κλινικές μελέτες στις ΗΠΑ.

2. ΚΑΤΑΣΤΟΛΗ ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΩΝ

Ορισμένοι καρκίνοι οφείλονται στην ενεργοποίηση γονιδίων που επάγουν τη δημιουργία καρκίνων. Τα γονίδια αυτά ονομάζονται ογκογονίδια και είναι συνήθως μεταλλαγμένες μορφές φυσιολογικών γονιδίων, των πρώτο-ογκογονιδίων που ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη και διαίρεση. Η γονιδιακή θεραπεία αυτών των περιπτώσεων καρκίνων στοχεύει στην καταστολή της έκφρασης των συγκεκριμένων ογκογονιδίων που είναι υπεύθυνα για την δημιουργία των όγκων. Η καταστολή της έκφρασης των ογκογονιδίων συνήθως επιτυγχάνεται με εισαγωγή στα κύτταρα αντί-νοηματικών αλληλουχιών (anti-sense oligonucleotides) που είναι συμπληρωματικές με τα ογκογονίδια. Οι αντί-νοηματικές αλληλουχίες δεσμεύονται στο γονίδιο και καταστέλλουν την έκφραση του είτε στο στάδιο της μεταγραφής είτε στο στάδιο της μετάφρασης.

Η τεχνική των αντί-νοηματικών αλληλουχιών εκτός από τα θεραπευτικά αποτελέσματα που μπορεί να φέρει, μπορεί επίσης να καταστεί πολύ χρήσιμη στην ανάλυση της λειτουργίας των ογκογονιδίων.

2.1. ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΟ-ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ

Τα ογκογονίδια αρχικά είχαν αναγνωριστεί σαν γονίδια που μεταφέρονται από ιούς οι οποίοι μετασχηματίζουν τα κύτταρα-στόχους στα οποία εισάγουν το γενετικό τους υλικό και προκαλούν όγκους. Οι ιοί ονομάζονται ογκογόνοι ιοί (oncogenic viruses) και από τους πιο γνωστούς είναι οι αδενοϊοί, οι Ρετροϊοί, οι ιοί πολυώματος, οι ιοί παπιλώματος. Παρατηρήθηκε όμως ότι υπάρχουν γονίδια στα κύτταρα των ανώτερων ευκαριωτικών οργανισμών και στον άνθρωπο που έχουν σχεδόν τις ίδιες αλληλουχίες με ορισμένες σημαντικές κατηγορίες ικών ογκογονιδίων. Τα κυτταρικά αυτά γονίδια σε φυσιολογικές συνθήκες είναι ανενεργά όσον αφορά την ογκογόνο τους δράση και συνήθως είναι υπεύθυνα για φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες. Σε αυτήν την φάση τα γονίδια αυτά ονομάζονται πρωτο-ογκογονίδια (proto-onco- genes). Τα κυτταρικά πρωτο-ογκογονίδια όμως μπορούν να μετατραπούν σε ογκογονίδια, δηλαδή γονίδια με ογκογόνο δράση, όταν ενεργοποιηθούν με μία μεταλλαγή. Οι μεταλλαγές αυτές είτε: α) αλλάζουν την κανονική ρύθμιση της λειτουργίας του γονιδίου, β) εκφράζουν το γονίδιο σε τύπους κυττάρων όπου δεν εκφράζεται φυσιολογικά, γ) υπερεκφράζουν το γονίδιο στα κύτταρα που ήδη εκφράζεται.

Αξίζει να σημειωθεί ότι ορισμένες μεταλλαγές είναι σημειακές δηλαδή αλλάζει μόνο μία βάση του DNA, με αποτέλεσμα στην τελική πρωτεΐνη ένα αμινοξύ να αντικαθίσταται με ένα άλλο. Όμως αυτή η

αλλαγή και μόνο είναι ικανή, για να ενεργοποιήσει ένα φυσιολογικό γονίδιο (πρωτο-ογκογονίδιο) ώστε να έχει ογκογόνο δράση (ογκογονίδιο), [Gelehrter & Collins, 1996]. Άλλες μεταλλάξεις μπορεί να είναι μετατοπίσεις χρωμοσωμικών τμημάτων, ελλείψεις, ενθέσεις, επαναλήψεις.

Περίπου 100 ογκογονίδια έχουν χαρακτηριστεί και κατατάσσονται σε διάφορες κατηγορίες ανάλογα με την δράση των ομολόγων τους πρωτοογκογονιδίων (πχ διαμεμβρανικές πρωτείνες, παράγοντες μεταγραφής και άλλα).

Τα ονόματα των ογκογονιδίων συνήθως αντιπροσωπεύουν το ιστορικό της αναγνώρισης τους και τον τύπο του καρκίνου που προκαλούν. Ορισμένα χαρακτηριστικά ογκογονίδια είναι της οικογένειας *ras* τα οποία προκαλούν σαρκώματα και ερυθρολευχαιμία σε θηλαστικά και στον άνθρωπο, πχ. τα ογκογονίδια *H-ras* και *K-ras* απομονώθηκαν από τους ιούς Harvey Murine Sarcoma (Ha-MuSV) και Kirsten Murine Sarcoma (K-MuSV) αντίστοιχα που προσβάλλουν αρουραίους (rats).

Άλλα γνωστά ογκογονίδια που συναντώνται και στον άνθρωπο είναι το *myc* που απομονώθηκε από τον ιό Avian Myelocytomatosis που προσβάλλει όρνιθες και προκαλεί καρκίνωμα, σάρκωμα και μυελοκύτωμα και το *myb* που απομονώθηκε από τον ιό Avian Myeloblastosis που προσβάλλει όρνιθες και προκαλεί μυελοβλαστική λευχαιμία.

2.2. ΚΑΤΑΣΤΟΛΗ ΤΟΥ ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΟΥ *ras*

Η πιο κοινή κατηγορία ογκογονιδίων ονομάζεται *ras* και προκαλεί σαρκώματα και ερυθρολευχαιμία. Μία απλή μεταλλαγή που οδηγεί στην αντικατάσταση ενός μόνο αμινοξέος με ένα άλλο (βαλίνη αντί για γλυκίνη στην θέση 12) μετατρέπει το αρχικό φυσιολογικό πρωτο-ογκογονίδιο σε ένα μεταλλαγμένο ογκογονίδιο που με την δράση του μετασχηματίζει τα κύτταρα από φυσιολογικά σε καρκινικά. Πολλοί τύποι ανθρώπινων καρκίνων έχουν ενεργοποιημένα *ras* ογκογονίδια, όπως καρκίνοι του πνεύμονα και του παχέος εντέρου. Περίπου το 20 με 30% των ανθρώπινων καρκίνων φέρουν ένα μεταλλαγμένο *ras* γονίδιο.

Μία θεραπευτική προσέγγιση για την αντιμετώπιση των καρκίνων αυτών στοχεύει στην απευθείας καταστολή της λειτουργίας των *ras* ογκογονιδίων. Κατασκευάστηκαν αντινοσηματικές αλληλουχίες συμπληρωματικές του ογκογονιδίου *Kras* και μεταφέρθηκαν *in-vitro* με ρετροϊκούς φορείς σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του πνεύμονα που εκφράζουν το ογκογονίδιο *Kras* (το ογκογονίδιο αυτό ανήκει στην οικογένεια ογκογονιδίων *ras* και ανακαλύφθηκε στον ιό Kirsten murine

sarcoma που προσβάλλει αρουραίους). Παρατηρήθηκε ότι τα καρκινικά κύτταρα που είχαν δεχτεί τις αντινοσηματικές αλληλουχίες παρουσίασαν μείωση του επιπέδου της πρωτεΐνης Kras και καταστολή της ανάπτυξης τους σε μαλακό άγαρ.

Όλες όμως οι παρόμοιες δοκιμές σε ζώα για την καταστολή ογκογονιδίων δείχνουν ότι δεν επιτυγχάνεται πλήρης καταστολή του σχηματισμού και της ανάπτυξης των όγκων. Επιπλέον η εφαρμογή της μεθόδου αυτής παρουσιάζει αρκετές δυσκολίες in-vivo. Μία βασική δυσκολία είναι η έλλειψη αποτελεσματικής μεταφοράς εξωγενών αλληλουχιών DNA που θα επιφέρουν την στοχευμένη καταστολή της γονιδιακής έκφρασης των ογκογονιδίων των καρκινικών κυττάρων.

Μία άλλη δυσκολία είναι η παρουσία πολλαπλών παραγόντων που συμβάλλουν στην δημιουργία όγκων εκτός από την ενεργοποίηση των ογκογονιδίων (πχ απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων, υπερέκφραση άλλων παραγόντων που επάγουν την δημιουργία όγκων).

2.3. ΚΑΤΑΣΤΟΛΗ ΑΛΛΩΝ ΟΓΚΟΓΟΝΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

Αξίζει να σημειωθεί ότι πρόσφατα, η μέθοδος των αντινοσηματικών αλληλουχιών δοκιμάζεται και για την καταστολή άλλων παραγόντων, όπως πχ αυξητικών παραγόντων, που συμβάλλουν στην ανάπτυξη των όγκων. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι ο βασικός αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών, (bFGF=basic Fibroblast Growth Factor) ο οποίος παράγεται από κακοήθεις νευρογλοιακούς όγκους (malignant glial tumors) και πιστεύεται ότι ρυθμίζει την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων.

Χορήγηση αντινοσηματικών αλληλουχιών συμπληρωματικών του mRNA του bFGF σε κύτταρα αστεροειδούς γλοιώματος αρουραίων μείωσε τα επίπεδα του bFGF και παρατηρήθηκε καταστολή της κυτταρικής ανάπτυξης in-vivo. Ελπίζεται ότι στο μέλλον θα ανακαλυφθούν περισσότερα σχετικά με τον μηχανισμό με τον οποίο ο bFGF επηρεάζει την ανάπτυξη όγκων και πιθανόν να αποτελέσει έναν από τους στόχους για την εφαρμογή γονιδιακής θεραπείας.

Σε μία άλλη πρόσφατη στρατηγική, χρησιμοποιείται σαν θεραπευτικός στόχος η περιοχή του DNA που έχει υποστεί μεταλλαγή σε ένα γονίδιο και έχει οδηγήσει σε διατάραξη της κυτταρικής ανάπτυξης. Κατασκευάζεται ένα ειδικό ολιγονουκλεοτίδιο το οποίο δεσμεύεται στην μεταλλαγμένη θέση-στόχο του DNA και ενεργοποιεί τον μηχανισμό επιδιόρθωσης του DNA, ο οποίος επιδιορθώνει την μεταλλαγή στην θέση αυτή αλλάζοντας την "λάθος" βάση με την "σωστή" βάση. Η τεχνική αυτή βρίσκεται ακόμη σε πειραματικό στάδιο.

3. ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Έχουν βρεθεί ορισμένα γονίδια (περίπου 10 μέχρι στιγμής) που παράγουν πρωτεΐνες οι οποίες δρουν ως καταστολείς των όγκων. Τα γονίδια αυτά ονομάζονται ογκοκατασταλτικά ή αντι-ογκογονίδια (tumor suppressor genes ή anti-onco- genes), και έχει βρεθεί ότι ρυθμίζουν την φυσιολογική κυτταρική ανάπτυξη των κυττάρων. Όταν τα γονίδια αυτά μεταλλαχτούν και τα πρωτεϊνικά τους προϊόντα απενεργοποιηθούν, τότε μπορεί να προκύψουν αρκετές περιπτώσεις καρκίνων.

Τα πιο γνωστά ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι το rb (ονομάζεται έτσι από το "retinoblastoma" γιατί αν μεταλλαχτεί προκαλεί ρετινοβλάστωμα), το p53 (το οποίο αν μεταλλαχτεί προκαλεί καρκίνο του στήθους, του κόλον και ίσως και άλλους τύπους) και το dcc (η μεταλλαγμένη του μορφή προκαλεί καρκίνο του κόλον).

3.1. ΓΟΝΙΔΙΟ p53

Το προϊόν του γονιδίου p53 είναι μία πυρηνική φωσφοπρωτεΐνη η οποία αρχικά είχε θεωρηθεί ότι δρα σαν επαγωγέας όγκων διότι διαπιστώθηκε η ύπαρξη μεγάλων ποσοτήτων της πρωτεΐνης σε διάφορους τύπους καρκινικών κυττάρων. Βρέθηκε όμως ότι όλες οι μορφές της p53 που είχαν συσχετιστεί με όγκους ήταν μεταλλαγμένες μορφές της φυσιολογικής πρωτεΐνης και ότι στην πραγματικότητα, η φυσιολογική πρωτεΐνη δρα σαν καταστολέας όγκων.

Η φυσιολογική p53 δρα ως ρυθμιστής της κυτταρικής ανάπτυξης και έχει την ιδιότητα να εμποδίζει την ανάπτυξη όγκων σε ορισμένες περιπτώσεις. Μία μεταλλαγή, όμως, στο γονίδιο p53 ενεργοποιεί την έναρξη καρκινογένεσης, η οποία μπορεί να εκδηλωθεί και έπειτα από αρκετές δεκαετίες αφού επιδράσουν και άλλοι γενετικοί παράγοντες. Οι έρευνες δείχνουν ότι στους περισσότερους ανθρώπινους καρκίνους (περίπου στο 50%), το γονίδιο p53 εμφανίζεται μεταλλαγμένο και ευνοεί την δημιουργία όγκων [Elledge & Lee 1995, Neubauer et al 1996, Velculescu & El-Deiry 1996, Bookstein et al 1996, Barnes et al, 1997].

Οι προσεγγίσεις γονιδιακής θεραπείας που χρησιμοποιούνται στοχεύουν είτε α) στην καταστολή του μεταλλαγμένου γονιδίου, είτε β) στην ενίσχυση του φυσιολογικού γονιδίου.

3.2. ΚΑΤΑΣΤΟΛΗ ΜΕΤΑΤΑΛΛΑΓΜΕΝΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ

Μία προσέγγιση γονιδιακής θεραπείας χρησιμοποιεί αντινοσηματικές αλληλουχίες συμπληρωματικές με το mRNA του μεταλλαγμένου ογκοκατασταλτικού γονιδίου που θεωρείται ότι προκαλεί τον όγκο. Ο στόχος της θεραπείας είναι να δεσμευτούν οι αντινοσηματικές αλληλουχίες στο mRNA του γονιδίου και να καταστείλουν την μεταγραφή ή μετάφραση του, επομένως να σταματήσει η ογκογόνος δράση του.

Στην οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (AML, Acute Lymphoblastic Leukemia), παρατηρείται αυξημένη παρουσία της πρωτεΐνης p53 (της μεταλλαγμένης της μορφής). Οι θεραπευτικές προσεγγίσεις που έχουν αναπτυχθεί βασίζονται στην χρήση αντινοσηματικών αλληλουχιών συμπληρωματικών της αλληλουχίας της p53 που βρίσκεται στα κύτταρα μυελού των οστών ασθενών με AML, με στόχο να καταστείλουν την δράση της p53. Οι πρώτες κλινικές δοκιμές της φάσεως I στις οποίες χορηγήθηκαν αντι-p53 ολιγονουκλεοτίδια, δεν έδωσαν ικανοποιητικά θεραπευτικά αποτελέσματα.

Η τεχνική αυτή έχει εφαρμοστεί και σε καρκίνο πνεύμονα σε ζωικά μοντέλα. Επίσης, κλινικές δοκιμές φάσεως I/II βρίσκονται σε εξέλιξη στις οποίες χορηγούνται αντι-P53 ολιγονουκλεοτίδια, συγχρόνως με μιτοξανθρόνη, μία χημειοθεραπευτική ουσία που χρησιμοποιείται στην AML.

3.3. ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ

Σε μία άλλη προσέγγιση, εφαρμόζεται γονιδιακή ενίσχυση του φυσιολογικού γονιδίου ενός καταστολέα όγκου. Το φυσιολογικό ογκοκατασταλτικό γονίδιο μπορεί να μεταφερθεί στα καρκινικά κύτταρα και να εκφραστεί συνθέτοντας την πρωτεΐνη που θα καταστείλει την δημιουργία του όγκου.

Η τεχνική αυτή έχει δοκιμαστεί με την μεταφορά του φυσιολογικού γονιδίου της p53 σε γλοιοματικά κύτταρα αρουραίου [Harris & Holstein 1993, Badie & Black 1994] και πρόσφατα έχει εγκριθεί ένα κλινικό πρωτόκολλο στις ΗΠΑ από το NIH (National Institute of Health), το RAC (Recombinant Advisory Committee) και το

FDA για την εφαρμογή γονιδιακής θεραπείας με το γονίδιο p53 σε ασθενείς με καρκίνο.

4. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Μία από τις σημαντικότερες στρατηγικές για την αντιμετώπιση του καρκίνου στηρίζεται στην εφαρμογή διαφόρων μορφών γενετικής ανοσοθεραπείας δηλαδή στην ενίσχυση της λειτουργίας του ίδιου του ανοσοποιητικού συστήματος του ασθενή για την καταπολέμηση των δικών του καρκινικών κυττάρων. Οι στρατηγικές αυτές στοχεύουν συνήθως να πετύχουν γενετική ανοσοδιαμόρφωση (genetic immunomodulation) που θα έχει θεραπευτικά αποτελέσματα. Τα περισσότερα πρωτόκολλα στις ΗΠΑ και στην Ευρώπη αναφέρονται στις στρατηγικές αυτού του είδους.

Οι ερευνητές πάντα πίστευαν ότι τα καρκινικά κύτταρα διαφοροποιούνται από τα φυσιολογικά κύτταρα και επομένως υπάρχει δυνατότητα να θεωρηθούν και να αναγνωριστούν ως ξένα και να εξουδετερωθούν από το ανοσοποιητικό σύστημα. Σε πολλές όμως περιπτώσεις, ιδιαίτερα στους ανθρώπους, το ανοσοποιητικό σύστημα αποτυγχάνει να αναγνωρίσει τα καρκινικά κύτταρα τα οποία πολλαπλασιάζονται δημιουργώντας επικίνδυνους για την υγεία όγκους.

Η βασική ιδέα της ανοσολογικής γονιδιακής θεραπείας του καρκίνου είναι η ενίσχυση της ανοσολογικής αντίδρασης των ασθενών απέναντι στα ίδια τους καρκινικά κύτταρα. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί αφού τροποποιηθούν γενετικά είτε τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, είτε τα ίδια τα καρκινικά κύτταρα με την εισαγωγή γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την ενίσχυση της ανοσολογικής αντίδρασης του ασθενή εναντίον ειδικών αντιγόνων που βρίσκονται στην επιφάνεια των καρκινικών του κυττάρων. Με τον τρόπο αυτό ο στόχος του ανοσοποιητικού συστήματος του ασθενή επικεντρώνεται στην εξουδετέρωση των καρκινικών του κυττάρων.

Η αντιμετώπιση του καρκίνου με γενετική ανοσοθεραπεία επιστρατεύει την χρήση παραγόντων που έχουν σχέση με την ενεργοποίηση των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως είναι: α) οι Κυτταροκίνες (cytokines), β) η πρωτεΐνη B7 και γ) παράγοντες με ανοσοκατασταλτική δράση. Οι τρεις αυτές περιπτώσεις αναλύονται λεπτομερώς. Αναφέρεται επίσης και μία άλλη στρατηγική αντιμετώπισης των βλαβερών επιπτώσεων της χημειοθεραπείας με

μεταφορά γονιδίων που προσδίδουν ανθεκτικότητα στην χημειοθεραπεία..

5. ΠΡΟ-ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ (pro-drug) ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Η προ-φαρμακευτική γονιδιακή θεραπεία είναι μία πολλά υποσχόμενη στρατηγική για την αντιμετώπιση του καρκίνου με γενετική επέμβαση. Κατά την θεραπεία αυτή μεταφέρεται σε καρκινικά κύτταρα ενδοσωματικά ένα γονίδιο μέσω ενός ρετροϊκού φορέα που κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που καθιστά τα καρκινικά κύτταρα ευαίσθητα στην επίδραση ενός προ-φαρμάκου που χορηγείται προκειμένου να εξουδετερώσει επιλεκτικά τα καρκινικά κύτταρα. Το προ-φάρμακο όταν χορηγείται σε κύτταρα που δεν εκφράζουν την συγκεκριμένη πρωτεΐνη δεν παρουσιάζει τοξικότητα.

6. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Όπως αναφέρθηκε, έχουν εγκριθεί αρκετά πρωτόκολλα για την αντιμετώπιση του καρκίνου με γονιδιακή θεραπεία στις ΗΠΑ. Η έγκριση των σχετικών με την γονιδιακή θεραπεία πρωτοκόλλων γίνεται από μία ειδική επιτροπή που ονομάζεται Συμβουλευτική Επιτροπή Ανασυνδυασμένου DNA ή RAC (Recombinant DNA Advisory Committee).

Ο [πίνακας 8](#) αναφέρει τις υπό εξέλιξη κλινικές δοκιμές για την γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου στις ΗΠΑ. Αναγράφονται ο τύπος της θεραπείας που προτείνεται, ο βασικός ερευνητής, το ίδρυμα όπου διεξάγεται η έρευνα και η ημερομηνία έγκρισης του πρωτοκόλλου από τη RAC.

Τα περισσότερα πρωτόκολλα αφορούν την αντιμετώπιση του καρκίνου του εγκεφάλου, του μελανώματος και του πνεύμονα. Η προσέγγιση που ακολουθείται είναι κυρίως η γενετική ανοσοθεραπεία.

Ο καρκίνος του πνεύμονα αντιμετωπίζεται είτε με γενετική ανοσοθεραπεία δηλαδή με την εισαγωγή στα καρκινικά κύτταρα γονιδίων που ενισχύουν την ανοσολογική αντίδραση εναντίον των καρκινικών αντιγόνων, είτε με την εισαγωγή ογκοκατασταλτικών γονιδίων, είτε με την εισαγωγή γονιδίων που κωδικοποιούν ειδικό ένζυμο

που μετατρέπει ένα προ-φάρμακο σε τοξική ουσία για τα καρκινικά κύτταρα. Η εξέλιξη της τεχνολογίας της γονιδιακής θεραπείας αναμένεται να έχει ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση του καρκίνου του πνεύμονα.

Κλινικές έρευνες γονιδιακής θεραπείας καρκίνου που βρίσκονται σε εξέλιξη

Πρωτόκολλο	Κύριος ερευνητής	Ινστιτούτο από RAC	Ημ/νια έγκρισης
1 Γονιδιακή Θεραπεία ασθενών με προχωρημένο καρκίνο με μεταφορά του TNF σε TIL.	S.A. Rosenberg	National Institute of Health, Bethesda MD.	Απρίλιος 1990
2 Ανοσοποίηση ασθενών με καρκίνο με χρήση αυτόλογων καρκινικών κυττάρων τροποποιημένων με την εισαγωγή του TNF	S.A. Rosenberg	National Institute of Health, Bethesda MD.	Ιούλιος 1991
3 Γονιδιακή θεραπεία για την αντιμετώπιση του καρκίνου	S.M. Freeman	University of Rochester Rochester NY	Ιούλιος 1991
4 Ανοσοθεραπεία κακοήθειας με in vivo γενετική μεταφορά σε όγκους	G.J. Nabel	University of Michigan, Ann Arbor MI	Ιούλιος 1991
5 Μελέτη φάσης I αυτόλογων κυττάρων νευρο-βλαστώματος τροποποιημένων με κυτταροκίνες	M.K. Brenner	St.Jude Children's Hospital, Memphis TN	Ιούνιος 1992
6 Γονιδιακή θεραπεία για την αντιμετώπιση των εγκεφαλικών όγκων	E.H. Oldfield	National Institute of Health, Bethesda MD	Ιούνιος 1992
7 Πειραματική μελέτη ανοσοποίησης με HLA-A2 matched allogeneic κύτταρα μελανώματος	B. Gansbacher	Memorial Sloan-Kettering, New York NY	Ιούνιος 1992
8 Τροποποίηση της έκφρασης ογκογονιδίου και ογκοκατασταλτικού γονιδίου σε καρκινικά κύτταρα του πνεύμονα	J.A. Roth	MD Anderson Cancer center, Houston TX	Σεπτέμβριος 1992
9 Γονιδιακή θεραπεία για την αντιμετώπιση των κακοήθων εγκεφαλικών όγκων	M.T. Lotze	University of Pittsburgh, Pittsburgh PA	Σεπτέμβριος 1992
10 Εμβολιασμός αυτόλογων καρκινικών κυττάρων με κύτταρα επεξεργασμένα με GM-CSF	K.W. Culver	Iowa Methodist Cancer Center, Des Moines IA	Μάρτιος 1993
11 Εισαγωγή ανθρώπινης IFN-γ σε αυτόλογα καρκινικά κύτταρα	J. Simons	John Hopkins University, Baltimore MD	Μάρτιος 1993
12 Εισαγωγή αλληλουχιών ανθεκτικών σε χημειοθεραπεία σε αιματοποιητικά βλαστοκύτταρα για χημειοπροστασία	H.F. Siegler	Duke University, Durham NC	Ιούνιος 1993
13 Ανοσοθεραπεία καρκίνου με απευθείας γονιδιακή μεταφορά σε όγκους	A.B. Deisseroth	MD Anderson Cancer Center, Houston TX	Ιούνιος 1993
14 Γονιδιακή θεραπεία για την αντιμετώπιση του υποτροπιάζοντος παιδιατρικού κακοήθους αστροκυτώματος	G.J. Nabel	University of Michigan, Ann Arbor MI	Ιούνιος 1993

Κλινικές έρευνες γονιδιακής θεραπείας καρκίνου που βρίσκονται σε εξέλιξη.

Πρωτόκολλο	Κύριος ερευνητής	Ινστιτούτο από RAC	Ημ/νια έγκρισης
15 Γονιδιακή μεταφορά του ανθρώπινου γονιδίου MDR σε ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο	C. Raffal	Children's Hospital, Los Angeles CA	Ιούνιος 1993
16 Γονιδιακή θεραπεία σε ανθρώπινους εγκεφαλικούς όγκους με ανάλογο προς την ινσουλίνη αυξητικό παράγοντα-1 (Insulin-like Growth factor-1)	C.S. Ilan	Columbia University, New York NY	Σεπτέμβριος 1993
17 Καρκινικά κύτταρα που εκφράζουν την IL-2 σε μικρά κύτταρα πνευμονικού καρκινώματος	P. Cassileth	Case Western Reserve, Cleveland OH	Σεπτέμβριος 1993
18 Μεταφορά του ανθρώπινου MDR-1 γονιδίου σε αιματοποιητικά βλαστοκύτταρα	J. O'Shaughnessy	National Institute of Health, Bethesda MD	Σεπτέμβριος 1993
19 Γονιδιακή θεραπεία για την αντιμετώπιση του υποτροποιάζοντος παιδιατρικού εγκεφαλικού όγκου	L.E. Kun	St.Jude Children's Hospital, Memphis TN	Σεπτέμβριος 1993
20 Ανοσοποίηση ασθενών με κύτταρα μελανώματος που εκκρίνουν IL-2	T.K. Das Gupta	University of Illinois, Chicago IL	Σεπτέμβριος 1993
21 Αυτόλογα καρκινικά εμβόλια που παράγουν IL-2 για την αντιμετώπιση του μελανώματος	J.S. Economou	University of California, Los Angeles CA	Σεπτέμβριος 1993

Πίνακας 8

7. ΝΕΑ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ

ORLANDO, 11 Φεβρουαρίου 1998. Οι επιστήμονες πιστεύουν ότι έχουν στα χέρια τους ένα νέο όπλο για την αντιμετώπιση του καρκίνου των ωοθηκών. Έτσι με την βοήθεια της γενετικής μηχανικής, οι όγκοι οι οποίοι δεν απαντούν στη χημειοθεραπεία, θα είναι δυνατόν να εκφράσουν στα κύτταρα τους ένα "γονίδιο φονιά". Το γονίδιο αυτό θα καθιστά τα καρκινικά κύτταρα ευαίσθητα σε ένα νέο φάρμακο, με αποτέλεσμα την καταστροφή του όγκου.

Το γονίδιο το οποίο εκφράζουν τα γενετικά τροποποιημένα κύτταρα του όγκου είναι το HSV-TK. Το γονίδιο είχε χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή εμβολίων έναντι διαφόρων μορφών καρκίνου, φαίνεται

όμως πως είναι εξίσου αποτελεσματικό και για τις περιπτώσεις καρκίνου των ωοθηκών.

Πειράματα που έγιναν σε ποντίκια and a Phase I clinical trial που αφορούσε 17 ασθενείς με υποτροπή ανθεκτικού στη χημειοθεραπεία καρκίνου των ωοθηκών, αποκάλυψε ότι η θεραπεία με το εμβόλιο ακολούθηθηκε από υποχώρηση του όγκου στα πειραματόζωα. Ίσως μελλοντικά αυτό να βρει εφαρμογή και στον άνθρωπο.

Το αποτέλεσμα της μελέτης παρουσιάστηκαν από τον William Robinson, ιατρό του Τμήματος Γυναικολογίας και Μαιευτικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου του Tulane στη Νέα Ορλεάνη στο 29^ο ετήσιο συνέδριο της Εταιρίας Ογκολόγων Γυναικολόγων(SGO).

Ο καρκίνος των ωοθηκών στις ΗΠΑ είναι το υπ'αριθμόν ένα αίτιο θανάτου από κακοήθεις νόσους στις γυναίκες σήμερα. Τον προηγούμενο χρόνο αναγέρθηκαν 26000 νέα περαστικά αυτής της μορφής καρκίνου και 14000 θάνατοι από αυτή την αιτία στις ΗΠΑ. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η ασθένεια διαγιγνώσκεται σε ένα προχωρημένο στάδιο και η πενταετής επιβίωση δεν ξεπερνά το 30%. Ο καρκίνος των ωοθηκών γενικά αντιμετωπίζεται με χειρουργική θεραπεία και χημειοθεραπεία. Στην τελευταία περίπτωση όγκος υποτροπιάζει μέσα σε λίγους μήνες από την αρχική υποχώρηση. Επίσης χρησιμοποιήθηκε και η ανοσοθεραπεία, μόνη της ή σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία, αλλά τα πρώτα αποτελέσματα υπήρξαν απογοητευτικά.

Το HSV-TK είναι υπεύθυνο για την παραγωγή της θυμιδινικής κινάσης στον ιό του απλού έρπητα. Οι επιστήμονες σκέφτηκαν πως αν κατόρθωναν να μεταφέρουν το γονίδιο αυτό στα καρκινικά κύτταρα, τότε τα τελευταία θα μεταμορφωνόταν σε κύτταρα "φονιάδες", μια και πλέον θα ήταν ευαίσθητα στη γανκυκλοβίρη. Η γανκυκλοβίρη είναι αντιϊκό φάρμακο. Πρόκειται για αναστολέα της θυμιδινικής κινάσης του ιού του απλού έρπητα.

Για να επιβεβαιώσουν τη θεωρία τους, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν ποντίκια με ενδοπεριτοναϊκούς όγκους και τους χορήγησαν τόσο γενετικά τροποποιημένα καρκινικά κύτταρα όσο και γανκυκλοβίρη. Τα πειραματόζωα εκτιμήθηκαν όσον αφορά την επιβίωση και την ανοσιακή τους απάντηση με δείγματα από κύτταρα του όγκου που πάρθηκαν μετά την θεραπεία. Στην μελέτη περιελήφθησαν 18 ασθενείς με υποτροπιάζοντα ανθεκτικό στη χημειοθεραπεία καρκίνο των ωοθηκών. Όλες οι γυναίκες ακολούθησαν τη χημειοθεραπεία μέχρι το τέλος, καμία τους δεν χρειάστηκε να τη σταματήσει εξ'αιτίας τοξικότητας.

ΜΕΡΟΣ Ε'

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ

Η αντιμετώπιση των καρδιαγγειακών παθήσεων είναι μια από τις ιδιαίτερα ενδιαφέρουσες εφαρμογές της γονιδιακής θεραπείας, καθώς οι παθήσεις αυτές αποτελούν τις κυριότερες αιτίες θανάτου στον βιομηχανοποιημένο κόσμο. Οι νέες τεχνικές μεταφορές γονιδίων στα κύτταρα των αγγείων και της καρδιάς εφαρμόζονται ακόμη σε πειραματικό επίπεδο σε ζωικά μοντέλα.

Εκτιμάται όμως ότι οι σημαντικές μελλοντικές πρόοδοι στην κατανόηση και γνώση του μοριακού μηχανισμού της φυσιολογίας και παθοφυσιολογίας των αγγείων θα συμβάλλουν αποφασιστικά στην αντιμετώπιση των δυσχερειών και στην θετική εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας των καρδιαγγειακών νόσων.

Το τοίχωμα των αγγείων αποτελείται από το ενδοθήλιο το οποίο επενδύει τον αυλό και διαχωρίζει τα αγγεία από το αίμα και από στοιβάδες λείων μυϊκών και ελαστικών ινών μεταξύ των οποίων υπάρχουν ίνες κολλαγόνου και άλλες εξωκυττάρια πρωτεΐνες. Στα περισσότερα αγγεία τα κυτταρικά αυτά στοιχεία διατάσσονται κατά τρόπο ώστε να διακρίνονται τρεις αλληπάλλληλες στοιβάδες : ο έσω χιτώνας (intima) που αποτελείται από το ενδοθήλιο και από μια βασική μεμβράνη (matrix) ο μέσος χιτώνας που αποτελείται από λείες μυϊκές και ελαστικές ίνες και ο έξω χιτώνας ο οποίος σχηματίζεται από συνδετικό ιστό, κυρίως από κολλαγόνο.

Κεντρικό ρόλο στη λειτουργία των αγγείων παίζει το ενδοθήλιο το οποίο βρίσκεται σε επαφή με το περιεχόμενο του αυλού από το οποίο δέχεται μηνύματα που επηρεάζουν τις διάφορες λειτουργίες των αγγείων. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα τα οποία μέχρι τώρα τα θεωρούσαν ως απλή επένδυση των αγγείων αποτελούν επίσης σημαντική πηγή παραγωγής ρυθμιστικών παραγόντων που ασκούν όχι μόνο παρακρινική αλλά και ενδοκρινική δράση. Με την δράση των παραγόντων αυτών το ενδοθήλιο αποτελεί σπουδαίο ρυθμιστικό παράγοντα από τον οποίο εξαρτώνται ο τόνος των αγγείων, η πήκτικότητα του αίματος (coagulation state), η κυτταρική αύξηση, η διακίνηση των λευκοκυττάρων και ακόμη και ο κυτταρικός θάνατος.

Οι σπουδαιότεροι από τους παράγοντες αυτούς είναι το μονοξειδίο του αζώτου (NO), ο αυξητικός παράγοντας του αγγειακού

ενδοθηλίου (VEGF=Vascular Endothelial Growth Factor), ο αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας (PDGF=Platelet Devired Growth Factor), ο αυξητικός παράγοντας ανάλογος προς την ινσουλίνη (IGF-1=Insulin-like Growth Factor -1).

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων παράγουν επίσης την ορμόνη ενδοθηλίνη (endothelin), η οποία δρά ως αγγειοσταλτική ουσία.

Τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων τα οποία διαθέτουν υποδοχείς για αγγειοκινητικές ουσίες παράγουν συγχρόνως και κυτταροκίνες και ρυθμιστικούς αυξητικούς παράγοντες. Τα κύτταρα αυτά μαζί με τους ινοβλάστες παράγουν επίσης πρωτεΐνες που σχηματίζουν τον εξωκυττάριο υπόστρωμα των αγγείων.

Με την λειτουργία των κυττάρων του αγγειακού τοιχώματος, τα οποία όπως αναφέρθηκε δεν είναι μόνο δέκτες αλλά και παραγωγοί ρυθμιστικών βιοχημικών μηνυμάτων, το αγγειακό σύστημα ανταποκρίνεται στην αποστολή του, δηλαδή στην κυκλοφορία του αίματος.

Η κανονική λειτουργία των κυττάρων του αγγειακού τοιχώματος προϋποθέτει ανατομική και λειτουργική ακεραιότητα και αδιατάρακτο συντονισμό του πολύπλοκου μηχανισμού δράσεως τους.

Κάθε βλάβη λόγω αιμοδυναμικών, μηχανικών, φλεγμονωδών ή άλλων παθολογικών αιτιών των κυττάρων ή της αρχιτεκτονικής των αγγείων έχει σοβαρές συνέπειες στη λειτουργία του αγγειακού συστήματος και της καρδιάς.

Η σοβαρότερη βλάβη του αγγειακού συστήματος είναι η αποφρακτική αγγειακή νόσος. Η νόσος αυτή χαρακτηρίζεται από την παθολογική συσσώρευση λείων μυϊκών ινών, κυττάρων φλεγμονής και πρωτεϊνών του εξωκυττάρου χώρου κάτω από την ενδοθηλιακή στοιβάδα που οδηγούν στον σχηματισμό ενός νέου χιτώνα (neointima formation).

Η πιο συχνή μορφή αποφρακτικής αγγειακής νόσου είναι η αθηροσκλήρωση. Η αθηροσκλήρωση χαρακτηρίζεται από δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, από διήθηση των κυττάρων φλεγμονής στον αγγειακό τοίχωμα και από μεταβολές στην δομή των αγγειακών κυττάρων.

1. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Ο στόχος της θεραπευτικής αγωγής για την καταπολέμηση της νόσου είναι η διατήρηση της φυσιολογικής δομής του αγγείου εμποδίζοντας, καταστρέφοντας ή αντιστρέφοντας την διαδικασία σχηματισμού του νέου έσω χιτώνα.

Οι σύγχρονες θεραπείες των αγγειακών παθήσεων μέχρι σήμερα στόχευαν είτε στην μείωση των παραγόντων που επάγουν την

αθηροσκλήρωση, είτε στην μείωση των παραγόντων που επάγουν την αθηροσκλήρωση, είτε στην παρέμβαση με αγγειοπλαστική ή χειρουργική αποκατάσταση της αγγειακής ροής.

Η βαθύτερη κατανόηση όμως της μοριακής βάσης των αγγειακών παθήσεων ανοίγει νέους ορίζοντες στην εφαρμογή νέων μοριακών θεραπειών, όπως η γονιδιακή θεραπεία. Άλλωστε τα περισσότερα γονίδια που είναι υπεύθυνα για τις καρδιακές παθήσεις αναμένεται μα χαρακτηριστούν τα επόμενα 10 χρόνια.

Η εφαρμογή των τεχνικών γονιδιακής μεταφοράς στις καρδιαγγειακές παθήσεις υπόσχεται να αντιμετωπίσει την αποφρακτική αγγειοπάθεια, να καθυστερήσει την εξέλιξη της περιφερειακής αγγειακής νόσου, να εξασφαλίσει συστήματα μεταφοράς φαρμάκων και να εμποδίσει το έμφραγμα του μυοκαρδίου σε ασθενείς με νόσο της στεφανιαίας αρτηρίας.

Η γονιδιακή θεραπεία φιλοδοξεί επίσης στην αντιμετώπιση της καρδιακής ανεπάρκειας καθώς και στην γενετική μετατροπή των φλεβικών μοσχευμάτων.

Οι παθολογικές καταστάσεις που παρατηρούνται στα αγγεία και οι αντίστοιχοι πιθανοί στόχοι που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για γονιδιακή θεραπεία

Παθολογική κατάσταση	Θεραπευτικός στόχος
1 Δυσλειτουργία ενδοθηλίου	Επαγωγέας NO, αντιοξειδωτικά
2 Τραυματισμός ενδοθηλίου	VEGF, FGF (Fibroblast Growth Factor)
3 Κυτταρική ενεργοποίηση	Ανταγωνιστές, καταστολείς κυτταρικού κύκλου (MEF-2, Gax modulators, NF-κB)
4 Απορύθμιση κυτταρικής ανάπτυξης	E2F decoys, RB μεταλλαγμένα γονίδια, καταστολείς κυτταρικού κύκλου
5 Απορύθμιση απόπτωσης	Επαγωγείς CPP32, καταστολείς Bcl-2, ανταγωνιστές ιντεγκρίνης
6 Θρόμβωση	Καταστολείς IIb/IIIa, καταστολείς ιστικού παράγοντα (tissue factor inhibitors), παράγοντες αντιθρομβινικοί (antithrombin agents)
7 Ρήξη αθηρωματικής πλάκας	Καταστολείς μεταλλοπρωτεϊνών, καταστολείς συγκόλλησης λευκοκυττάρων (leucocyte adhesion blockers)
8 Ακανόνιστη μετανάστευση κυττάρων	Ανταγωνιστές ιντεγκρίνης (integrin antagonists), καταστολείς PDGF, καταστολείς του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (plasminogen activator inhibitors)
9 Τροποποίηση βασικής μεμβράνης	Καταστολείς μεταλλοπρωτεϊνών, ανταγωνιστές πλάσματος (plasmin antagonists), τροποποιητές διασταυρούμενων πρωτεϊνών βασικής μεμβράνης (matrix protein cross-linking modifiers)

Πίνακας 9

Είναι όμως σημαντικό να τονιστεί ότι πολλά ερωτήματα σχετικά με την ασφάλεια, την επιλεκτικότητα και την αποτελεσματικότητα της γονιδιακής θεραπείας σε αυτούς τους τομείς πρέπει ακόμη να απαντηθούν προτού η πρωτοποριακή αυτή τεχνολογία εφαρμοστεί και στον άνθρωπο και οι τεχνικές αυτές θεσπιστούν ευρέως στην αντιμετώπιση των καρδιαγγειακών παθήσεων.

Στον **πίνακα 9** αναφέρονται συνοπτικά οι παθολογικές καταστάσεις των αγγείων και οι θεραπευτικοί στόχοι για την αντιμετώπιση τους.

2. ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΕΠΑΝΑΣΤΕΝΩΣΗΣ

Οι πιο συνηθισμένες μέθοδοι αντιμετώπισης της αποφρακτικής αγγειακής νόσου είναι η αγγειοπλαστική, η χειρουργική επέμβαση και η τοποθέτηση ενδαγγειακών προθέσεων(stents).

Έχει διαπιστωθεί όμως ότι στο 30-50% των ασθενών παρατηρείται επαναστένωση του αγγείου σε μια περίοδο από 3 έως 6 μηνών. Η αντιμετώπιση της επαναστένωσης απαιτεί πολύπλοκες και ακριβές επανεπεμβάσεις οι οποίες παραμένουν ένα βασικό μειονέκτημα των μεθόδων αυτών.

Η επαναστένωση χαρακτηρίζεται συχνά από υπερβολική συσσώρευση λείων μυϊκών κυττάρων και εναπόθεση πρωτεϊνών του εξωκυττάριου χώρου στον έσω χιτώνα λόγω της ανεξέλεγκτης διαδικασίας επούλωσης του αγγειακού τραύματος. Παρατηρείται επίσης δημιουργία του θρόμβου και αλλαγή της αγγειακής δομής.

Η διαδικασία της επαναστένωσης επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες σε μοριακό επίπεδο, οι οποίοι θεωρητικά μπορούν να αποτελέσουν «στόχους» για την αντιμετώπιση της πάθησης με μοριακή θεραπεία. Με βάση αυτή την αντίληψη, έχουν αναπτυχθεί στρατηγικές μεταφοράς γονιδίων με φορείς (ικούς ή μη ικούς φορείς) στα κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος για την αντιμετώπιση της επαναστένωσης.

Οι περισσότερες όμως προσεγγίσεις μέχρι σήμερα, εστιάζονται στην παρεμπόδιση του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών κυττάρων (smooth muscle cell proliferation), καθώς είναι και η πιο καλά μελετημένη διαδικασία που λαμβάνει μέρος στην επαναστένωση. Οι κυριότερες από αυτές τις θεραπευτικές στρατηγικές γονιδιακής θεραπείας αναφέρονται αναλυτικά.

2.1. ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ NO ΣΥΝΘΕΤΑΣΗΣ

Η συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου (NO) είναι ένα βασικό ένζυμο που παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και είναι υπεύθυνο για την παραγωγή και έκκριση του μονοξειδίου του αζώτου το οποίο δρα ως ισχυρός αγγειοδιαστολέας. Επιπλέον το ένζυμο δρα ως ενδογενής καταστολέας της κυτταρικής ανάπτυξης και μεταφοράς των λείων μυθικών κύτταρων

Η μειωμένη δράση της NO συνθετάσης θεωρείται συνυπεύθυνη μαζί με άλλους παράγοντες, για την εμφάνιση βασικών δυσλειτουργιών του ενδοθηλίου. Τέτοιες δυσλειτουργίες είναι η ελαττωματική αγγειοδιαστολή και η αυξημένη συγκολλητικότητα (adhesiveness) που συμβάλουν στον σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας στον αγγειακό ιστό. Η ανεπάρκεια συνεπώς του ενζύμου αυτού ευνοεί την εμφάνιση αθηρωματικής νόσου.

Η στρατηγική της γονιδιακής θεραπείας με βάση το γονίδιο του ένζυμου της NO συνθετάσης βασίζεται στην λογική ότι η ενίσχυση της δραστηριότητας της NO συνθετάσης λόγω των ανώτερων ιδιοτήτων της οδηγεί στην καταστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης των κύτταρων και επομένως εμποδίζει τον σχηματισμό του νέου έσω χιτώνα.

Σε ένα πειραματικό μοντέλο, το γονίδιο της NO συνθετάσης μεταφέρθηκε *in vivo* με φορείς σε καρωτίδες αρουραίου που είχαν υποστεί τραυματισμό από μπαλόνι. Το μεταφερόμενο γονίδιο εκφραστικέ και η παραγωγή NO, η οποία έχει μειωθεί λόγω του τραυματισμού του ενδοθηλίου, επανήλθε στα φυσιολογικά επίπεδα. Παρατηρήθηκε ότι 14 ημέρες μετά τον τραυματισμό, ο σχηματισμός του νέου έσω χιτώνα έχει παρεμποδιστεί κατά 70%. Οι ενδείξεις αυτές επιβεβαιώνουν ότι η NO συνθετάση δρα ως καταστολέας της υπερπλασίας του νέου έσω χιτώνα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν θεραπευτική στρατηγική στην αντιμετώπιση της επαναστάσεως.

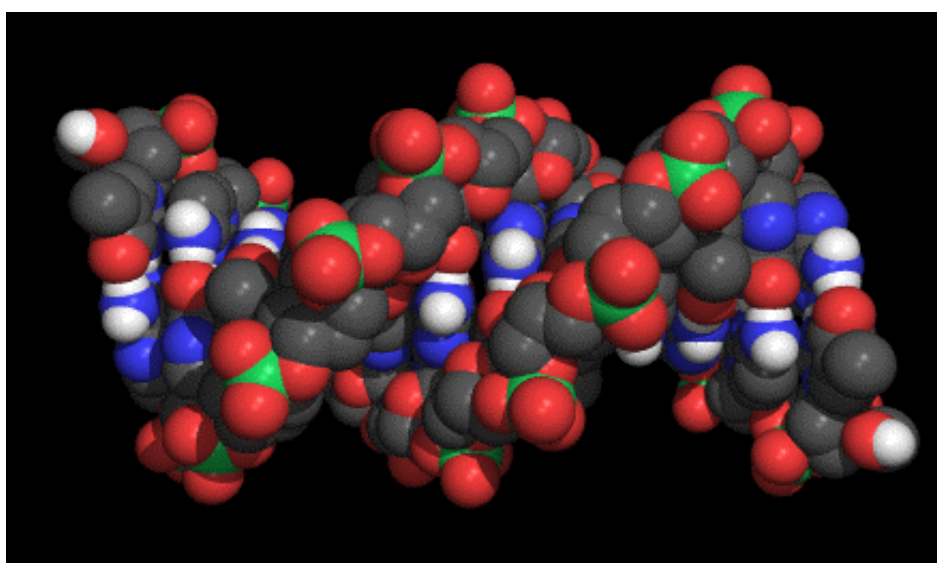
2.2 ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η κυτταροτοξική θεραπεία στοχεύει στην καταστολή του ακανόνιστου κυτταρικού πολλαπλασιασμού που χαρακτηρίζει την επαναστένωση. Αυτό το είδος της θεραπείας βασίζεται κυρίως στην εισαγωγή του γονιδίου της θυμιδικής κινάσης του απλού έρπητα ιού (herpes simplex virus thymidine gene, HSV-tk) μέσω φορέων αδενοϊκών στα αγγειακά κύτταρα. Παράλληλα χορηγείται και το προ-φάρμακο (pro-drug) ganciclovir. Το ένζυμο θυμιδικής κινάσης του απλού έρπητα

μετατρέπει ενδοκυτταρικά το προ-φάρμακο σε κυτταροτοξικό παράγοντα ο οποίος καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κύτταρων (διακόπτει την σύνθεση του DNA)

Η στρατηγική αυτή έχει εφαρμοστεί σε πειραματικά μοντέλα χοίρων [Ohno et al, 1994], και αρουραίων [Guzman et al 1994, Chang et al 1995] και παρατηρήθηκε η μείωση της δημιουργίας του νέου έσω χιτώνα κατά 50%.

Η κυτταροτοξική θεραπεία έχει όμως το μειονέκτημα ότι δεν έχει επιλεκτικούς στόχους δηλαδή δεν μπορεί να επιλέξει σαν «στόχο» μόνο τα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα. Επομένως, υπάρχει ο κίνδυνος η καταστολή της κυτταρικής ανάπτυξης να επεκταθεί και στο ενδοθήλιο ή και σε άλλους ιστούς με πιθανές ανεπιθύμητες παρενέργειες.



2.3. ΚΥΤΤΑΡΟΣΤΑΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η κυτταροστατική θεραπεία προσπαθεί να καταστείλει επιλεκτικά την έκφραση γονιδίων που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο με σκοπό να καταστείλει τελικά την κυτταρική αναπαραγωγή. Το πλεονέκτημα της κυτταροστατικής γονιδιακής θεραπείας είναι ότι έχει πιο επιλεκτικούς γενετικούς στόχους από την κυτταροτοξική θεραπεία.

Οι στόχοι της κυτταροστατικής θεραπείας είναι συνήθως τα ρυθμιστικά γονίδια του κυτταρικού κύκλου, όπως το πυρηνικό αντιγόνο των πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων (PCNA=proliferating cell nuclear antigen), το Cdc2 (Cell Division Cycle-2), το c-Myc (ογκογονίδιο που προκαλεί καρκίνωμα, σαρκώματα και μυελοκύτωμα) και το c-Myb (ογκογονίδιο που προκαλεί μυελοβλαστική λευχαιμία).

Μια προσέγγιση χρησιμοποιεί ειδικά αντί-νοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια που έχουν συμπληρωματικές αλληλουχίες με τα

mRNA συγκεκριμένων ρυθμιστικών γονιδίων. Τα αντί-νοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια μεταφέρονται με φορείς στα αγγειακά κύτταρα και δεσμεύονται στις συμπληρωματικές αλληλουχίες των ρυθμιστικών γονιδίων καταστρέφοντας με αυτό τον τρόπο την έκφραση τους και επομένως και την δράση τους. Σε διάφορα πειραματικά μοντέλα σε ζώα, έχει παρατηρηθεί η δράση των αντί-νοσηματικών ολιγονουκλεοτιδίων εμποδίζει τον σχηματισμό του νέου έσω χιτώνα.

Επίσης, κατασκευάστηκαν αντί-νοσηματικές αλληλουχίες για τον ρυθμιστικό παράγοντα της μεταγραφής E2F, ο οποίος συντονίζει την ενεργοποίηση των διαφόρων ρυθμιστικών γονιδίων του κυτταρικού κύκλου (όπως το PCNA, το Cdc2 και άλλων). Οι αντί-νοσηματικές αλληλουχίες του E2F χορηγήθηκαν μέσω φορέων in-vivo σε τραυματισμένες καρωτίδες αρουραίων. Παρατηρήθηκε καταστολή της ενεργοποίησης των ρυθμιστικών γονιδίων και σημαντική παρεμπόδιση του σχηματισμού του νέου έσω χιτώνα, που συνεχιστικέ μέχρι 8 εβδομάδες μετά από την χορήγηση μιας δόσης με αντινοσηματικές αλληλουχίες.

Η κατάσταση της έκφρασης των ρυθμιστικών γονιδίων του κυτταρικού κύκλου έχει παρατηρηθεί ότι έχει και άλλες επιδράσεις όπως η καταστολή της μετανάστευσης των κύτταρων και της παραγωγής της βασικής μεμβράνης και μπορεί ακόμα και να ενεργοποιήσει την απόπτωση (προγραμματισμένο θάνατο) των αγγειακών κύτταρων.

Στο μέλλον εκτιμάται ότι η αποτελεσματικότερη θεραπεία για την αποφρακτική αγγειακή νόσο θα αποτελείται από ένα συνδυασμό ενδοαγγειακής τοποθέτησης μεταλλικών ενδοπροθέσεων για την διεύρυνση του αγγειακού αυλού και μιας γονιδιακής θεραπείας καταστολής της κυτταρικής ανάπτυξης και πολλαπλασιασμού.

3. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΑΝΤΙΚΑΘΙΣΤΑ ΤΟ ΜΠΑΪ-ΠΑΣ

Για πρώτη φορά, οι γιατροί στο Dallas (Η.Π.Α.) απέδειξαν ότι με την εισαγωγή των νέων γονιδίων στην καρδιά μπορούν να βοηθήσουν τους ασθενείς να αναπτύξουν αυτόματα νέα μπάϊ-πας. Αυτή η προσέγγιση ίσως αλλάξει την αντιμετώπιση των ασθενών που χρειάζεται να χειρουργηθούν.

Οι ειδικοί λένε ότι αυτή η νέα διαδικασία εισαγωγής γονιδίων που δοκιμαστικέ αρχικά στα ποδιά και τώρα στην καρδιά, αντιπροσωπεύει το πρώτο παράδειγμα γονιδιακής θεραπείας που πραγματικά θεραπεύει μια αρρώστια.

Διάφορες ομάδες ερευνητών εισήγαγαν ένα γονίδιο που φτιάχνει μια πρωτεΐνη που καλείται Vascular Endothelial Growth Factor ή VEG-F

(αυξητικός παράγοντας αγγειακού ενδοθηλίου) στις καρδιές άρρωστων που δεν μπορούσαν να χειρουργηθούν για μπάϊ-πας ή δεν ήταν δυνατή η αγγειοπλαστική. Φυσιολογικά, το γονίδιο αυτό εργάζεται μόνο κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής μέσα στην μήτρα.

Οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι υπάρχει δραματική απάντηση στο γονίδιο αυτό. Η καρδιά φτιάχνει από μόνη της νέα αγγεία που αιματώνουν τις περιοχές που χρειάζεται και απαλλάσσουν έτσι τον ασθενή από την στηθάγχη.

Παρά ταύτα η διαδικασία αυτή είναι ακόμα σε πειραματικό στάδιο και είναι πιθανόν αρκετά χρόνια μακριά από την εισαγωγή της στην κλινική θεραπεία.

Ακόμα δεν έχει διευκρινιστεί το ερώτημα αν η γενετική θεραπεία θα δουλέψει καλύτερα από μια πιο ευθεία αντιμετώπιση, αυτή της ενδοφλέβιας έγχυσης της πρωτεΐνης που κωδικοποιεί το γονίδιο. Σε ένα συνέδριο, ιατροί από το πανεπιστήμιο της Minnesota έδειξαν ότι η πρωινή αυτή βελτιώνει τα συμπτώματα της στηθάγχης σε 13 από 15 άρρωστους που χρησιμοποιήθηκε.

Οι άρρωστοι που έλαβαν μέρος σε αυτή την έρευνα ήταν χρόνιοι καρδιοπαθείς με ιστορικό εμφράγματος και χρειάζονταν μέχρι και 60 ταμπλέτες νιτρογλυκερίνης την εβδομάδα για τον έλεγχο των συμπτωμάτων. Κατόπιν θεραπείας όμως ο αριθμός των ταμπλέτων έπεσε σε 2-3 την εβδομάδα. 11 μάλιστα από του 16 ασθενείς είναι εντελώς απαλλαγμένοι από τον πόνο τρεις μήνες μετά την επέμβαση.

Η επέμβαση είναι πολύ πιο μικρή από το μπάϊ-πας και συνήθως διαρκεί μια ώρα μόνο. Συνίσταται στην έγχυση των γονιδίων στην καρδιά διάμεσου μιας μικρής τρυπάζ στον θώρακα.

Αυτή η γονιδιακή θεραπεία ίσως βοηθήσει τους άρρωστους με σοβαρή στηθάγχη που δεν μπορεί να βελτιωθεί με μπάϊ-πας ή αγγειοπλαστική. Μπορεί μάλιστα να αποτελεί εναλλακτική λύση για τις πρώιμες μορφές νόσου.

Άλλοι ερευνητές χρησιμοποιούν έναν γενετικά κατασκευασμένο ιό ο οποίος εισέρχεται στα καρδιακά κύτταρα και ενσωματώνει το γονίδιο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία νέων αγγείων για περίπου τρεις εβδομάδες. Τα νεοσχηματιζόμενα αγγεία όμως παραμένουν για πολύ περισσότερο και είναι αρκετά για να δώσουν μια νέα και μόνιμη παροχή αίματος στο μυοκάρδιο.

Πόσο όμως θα διαρκέσει αυτή η βελτίωση; Είναι μόνιμες οι αλλαγές ή θα εκφυλισθούν μετά από κάποιο χρονικό διάστημα; Είναι τα νέα αγγεία περισσότερο ευπαθή στην αθηροσκλήρωση; Αυτά τα ερωτήματα χρειάζονται χρόνο για να απαντηθούν, αλλά είναι γεγονός ότι υπάρχει ένας νέος τρόπος σκέψης στην αντιμετώπιση της ισχαιμικής καρδιοπάθειας και αυτό το γεγονός αργά ή γρήγορα θα μεταφερθεί και στην κλινική πράξη.

4. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΦΛΕΒΙΚΩΝ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΩΝ

Εκτός από την αντιμετώπιση της επαναστένωσης, η γονιδιακή θεραπεία έχει εφαρμοστεί και στην προσπάθεια γενετικής μετατροπής των φλεβικών μοσχευμάτων.

Τα φλεβικά μοσχεύματα που χρησιμοποιούνται στις χειρουργικές επεμβάσεις αποκαθιστούν την φυσιολογική ροή του αίματος παρακάμπτοντας την αποφραγμένη αρτηριακή περιοχή. Έχει παρατηρηθεί ωμός ότι το 50% των μοσχευμάτων αποφράσσονται μετά από 5 με 10 χρόνια λόγω της υπερπλασίας του νέου έσω χιτώνα (neointima) και την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης μέσα στο μόσχευμα.

Οι στρατηγικές γενικής μετατροπής των φλεβικών μοσχευμάτων επιδιώκουν να δημιουργήσουν φλεβικά μοσχεύματα προσαρμοσμένα στην αρτηριακή κυκλοφορία τα οποία συγχρόνως να μην παρουσιάζουν τάση για δημιουργία του νέου έσω χιτώνα.

Τα πρώτα πειράματα δείχνουν ότι αυτή η στρατηγική μπορεί να έχει τα επιθυμητά αποτελέσματα. Αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια του γονιδίου PCNA και της cdc2 κινάσης μεταφέρθηκαν εξωσωματικά (ex vivo) μέσω λιποσωμάτων σε φλεβικά μόσχευμα σε μοντέλο κουνελιού. Τα μοσχεύματα παρουσίασαν ανθεκτικότητα στην δημιουργία του νέου έσω χιτώνα που οφείλεται σε αθηροσκλήρωση, όταν υποβλήθηκαν σε αθηρογόνο δίαιτα.

Το παράδειγμα αυτό δείχνει ότι υπάρχει προοπτική να χρησιμοποιούνται γενετικά επεξεργασμένα φλεβικά μοσχεύματα που θα έχουν προσχεδιασμένες επιθυμητές ιδιότητες (designer vessels) με σχηματικές κλινικές εφαρμογές.

4. ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ

Πρόσφατα πειράματα εφαρμογής γονιδιακής θεραπείας στην προσπάθεια βελτιώσεως της καρδιακής λειτουργίας έδωσαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Σε διαγονιδιακά μοντέλα ζώων, η γονιδιακή θεραπεία βρέθηκε ότι αυξάνει την καρδιακή συσταλτικότητα [Lefkowitz, 1996].

Η στρατηγική της γονιδιακής θεραπείας της καρδιακής ανεπάρκειας βασίζεται στην μεταφορά γονιδίων στα καρδιακά κύτταρα που παρεμποδίζουν τις μεταβολές που οδηγούν στην καρδιακή ανεπάρκεια. Οι μεταβολές αυτές έχει δείχτει ότι έχουν σχέση με τα εξής:

α) Μείωση των β-αδρενεργικών υποδοχέων (οι καρδιακοί υποδοχείς στους οποίους δεσμεύεται ο νευρομεταβιβαστής νοραδρεναλίνη και επάγεται η παραγωγή δευτερογενών μεταβιβαστών που οδηγούν στην αύξηση της καρδιακής συσταλτότητας)

β) Έλλειψη της φυσιολογικής λειτουργίας των β-αδρενεργικών υποδοχέων που παραμένουν.

γ) Αύξηση των καρδιακών επιπέδων της β-αδρενεργικής κινάσης, το ένζυμο το οποίο απενεργοποιεί τους υποδοχείς.

Με την γονιδιακή θεραπεία ακολουθήθηκαν δύο στρατηγικές: στην μία στρατηγική μεταφέρθηκε το γονίδιο του β-αδρενεργικού υποδοχέα και υπερεκφράστηκε στα καρδιακά κύτταρα και στην άλλη μεταφέρθηκε το γονίδιο του αναστολέα της β-αδρενεργικής κινάσης [Lefkowitz, 1996].

Το πλεονέκτημα της γονιδιακής θεραπείας είναι ότι τα θεραπευτικά γονίδια; μπορούν να εκφραστούν μόνο στον συγκεκριμένο ιστό, λόγω της χρήσης εξαιρετικά εξειδικευμένων για τον συγκεκριμένο ιστό διεγερτών. Με τον τρόπο αυτό, αποφεύγονται οι παρενέργειες από την υπερλειτουργία του υποδοχέα και σε άλλα κύτταρα του σώματος όπου βρίσκεται ο υποδοχέας. . .

Η γονιδιακή θεραπεία υπερτερεί σε αυτό το σημείο από την κλασική φαρμακολογική θεραπεία, η οποία χρησιμοποιώντας β-αδρενεργικούς αγωνιστές όπως η αδρεναλίνη ενεργοποιεί όλους τους β-αδρενεργικούς υποδοχείς στο σώμα και τελικά οδηγεί σε παρενέργειες. Η γονιδιακή θεραπεία χρησιμοποιεί σαν φάρμακο το γονίδιο του ίδιου του υποδοχέα, ο οποίος κατευθύνεται μόνο στον καρδιακό ιστό και αυξάνει την καρδιακή συσταλτικότητα.

Τα πρώτα αυτά βήματα της εφαρμογής της γονιδιακής θεραπείας στην αντιμετώπιση των καρδιακών παθήσεων δίνουν ελπίδες για το μέλλον, αλλά υπάρχουν ακόμη αρκετά προβλήματα που πρέπει να επιλυθούν μέχρι να εφαρμοστεί αυτή θεραπεία στον άνθρωπο.

6. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΤΩΝ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ

Η σημασία της γονιδιακής θεραπείας είναι πολύ μεγάλη για τις καρδιαγγειακές παθήσεις, όμως απομένουν ακόμη πολλά βήματα να γίνουν μέχρι η θεραπεία αυτή να εφαρμοστεί με επιτυχία στον άνθρωπο. Τα πρώτα πειραματικά αποτελέσματα είναι πάντως ενθαρρυντικά και υπάρχει ελπίδα ότι η ταχεία εξέλιξη των νέων συστημάτων γονιδιακής μεταφοράς και η συνεχής βελτίωση της κατανόησης των βασικών

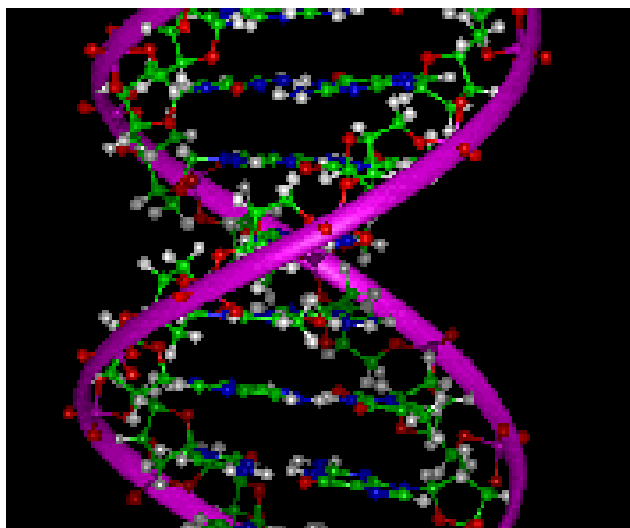
μοριακών μηχανισμών θα οδηγήσει τελικά σε νέες βελτιωμένες θεραπείες.

Η εξέλιξη και η επιτυχία των νέων μοριακών θεραπειών θα εξαρτηθεί από μία σειρά προβλημάτων τα οποία θα πρέπει να ξεπεραστούν στο μέλλον. Τα πιο βασικά ζητήματα που θα πρέπει να εστιάσουν την προσοχή τους οι επιστήμονες είναι τα εξής [Gibbons & Dzau, 1996]:

- ◆ Ανάπτυξη παραγόντων με περισσότερο επιλεκτικούς στόχους μέσα στα κύτταρα που θα προσφέρουν τη μέγιστη θεραπευτική ωφέλεια με την λιγότερη δυνατή τοξικότητα.
- ◆ Ανάπτυξη καλύτερων συστημάτων μεταφοράς θεραπευτικών παραγόντων μέσα στα κύτταρα.
- ◆ Επιλογή κατάλληλων ζωικών μοντέλων.
- ◆ Θέσπιση κατάλληλων κριτηρίων για την αξιολόγηση της κλινικής αποτελεσματικότητας των μοριακών θεραπειών που επηρεάζουν αργές παθολογικές διαδικασίες όπως είναι η αθηροσκλήρωση.

Οι περισσότερες στρατηγικές γονιδιακής θεραπείας σε καρδιαγγειακές παθήσεις που έχουν εφαρμοστεί μέχρι σήμερα αποτελούν βραχυχρόνιες επεμβάσεις. Η παθογένεση όμως της αθηροσκλήρωσης είναι μία αργή και μακροχρόνια διαδικασία.

Η ιδανική αντιμετώπιση των κυριότερων παθήσεων του καρδιαγγειακού συστήματος πρέπει να γίνεται στα πρώιμα στάδια της αθηροσκλήρωσης και να στοχεύει στους παράγοντες εκείνους που δρουν σαν απαγωγείς της παθογένεσης των αγγειακών παθήσεων.



ΜΕΡΟΣ ΣΤ'

ΑΛΛΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Χαρακτηριστικό της μεγάλης έκτασης που έχει λάβει η έρευνα και οι προσδοκίες από τη γονιδιακή θεραπεία είναι ότι έχουν αρχίσει προσπάθειες εφαρμογής της σε πολυάριθμους διαφορετικούς τομείς της ιατρικής.

Σε αυτό το κεφάλαιο αναφέρονται ορισμένοι τομείς που δεν αναπτύχθηκαν στα προηγούμενα κεφάλαια όπως στην αντιμετώπιση του AIDS και στην αντιμετώπιση του Parkinson. Επίσης αναφέρονται ενδεικτικά διάφοροι τομείς της Ιατρικής στους οποίους εφαρμόζεται πειραματικά η γονιδιακή θεραπεία.

1. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ AIDS

Η γονιδιακή θεραπεία των μεταδοτικών ασθενειών έχει επικεντρωθεί στην αντιμετώπιση του ιού του AIDS. Η ασθένεια του AIDS προσβάλλει τα βοηθητικά T λεμφοκύτταρα (helper T cells). Ο ρόλος των βοηθητικών κυττάρων είναι να αναγνωρίζουν τα ξένα πεπτίδια στις επιφάνειες των κυττάρων και να εκκρίνουν πρωτεϊνικούς παράγοντες που ενεργοποιούν τα διάφορα άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και καθιστά τους ασθενείς ευάλωτους σε άλλες μολύνσεις.

Ο HIV είναι ένας ιός που μεταλλάσσεται με πολύ υψηλή συχνότητα γεγονός που έχει ιδιαίτερα δυσκολέψει την ανεύρεση της αποτελεσματικής θεραπείας για τους ασθενείς που έχουν προσβληθεί από αυτόν.

Οι διάφορες στρατηγικές γονιδιακής θεραπείας βρίσκονται ακόμη σε πολύ πρώιμο στάδιο. Οι στρατηγικές που έχουν αναπτυχθεί στοχεύουν, όπως και στην περίπτωση του καρκίνου στην εξουδετέρωση των κυττάρων που έχουν προσβληθεί από τον ιό είτε απευθείας με την εισαγωγή κάποιου γονιδίου που κωδικοποιεί ειδική τοξίνη, είτε μέσω ανοσοθεραπείας δηλαδή ενεργοποίησης της ανοσολογικής αντίδρασης εναντίον των προσβλημένων κυττάρων.

Ένα άλλο παράδειγμα αποτελεί η εισαγωγή ενός γονιδίου που κωδικοποιεί ένα αντιγόνο του HIV, την γλυκοπρωτεΐνη του

περιβλήματος του ιού gp 120, στους ασθενείς με σκοπό την ενεργοποίηση της ανοσολογικής αντίδρασης εναντίον του HIV.

Μια άλλη στρατηγική στοχεύει στην καταστολή του κύκλου της ζωής του ιού που μπορεί να γίνει στα διάφορα στάδια του κύκλου:

♦ **Κατά την διάρκεια της προσβολής του ιού**

Ο ιός HIV-1 δεσμεύεται με την πρωτεΐνη του περιβλήματος gp120 στον υποδοχέα CD4 που βρίσκεται στην επιφάνεια των βοηθητικών T κυττάρων. Αν εισαχθεί στα Τλεμοφοκύτταρα το γονίδιο που παράγει τον υποδοχέα CD4 σε διαλυτή μορφή τότε θα προκύψουν πολλά μόρια CD4 που θα κυκλοφορούν διάχυτα. Αυτά τα μόρια θα δεσμευτούν στην gp120 του ιού και θα τον παρεμποδίσουν να προσβάλλει τα βοηθητικά T κύτταρα.

♦ **Κατά την διάρκεια της παραγωγής RNA ή της παραγωγής πρωτεϊνών του ιού**

Καταστολή της παραγωγής του RNA μπορεί να γίνει με την εισαγωγή αντί-νοηματικών αλληλουχιών που θα δεσμευτούν στο μόριο RNA και θα παρεμποδίσουν την λειτουργία του. Μια πρόσφατη στρατηγική στοχεύει στην καταστολή της παραγωγής των πρωτεϊνών του ιού: χρησιμοποιεί αντί-tRNA νουκλεοτίδια που δεσμεύονται σε μια περιοχή του DNA του ιού και εμποδίζουν την πρωτεϊνοσύνθεση.

♦ **Στο επίπεδο των πρωτεϊνών του ιού**

Στο στάδιο αυτό επιδιώκεται η καταστολή της λειτουργίας των πρωτεϊνών του ιού αφού αυτές έχουν παραχθεί. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί π.χ. ενδοκυτταρικά αντισώματα που δεσμεύονται επιλεκτικά στις πρωτεΐνες του ιού.

2. ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ PARKINSON

Το κεντρικό νευρικό σύστημα αποτελεί έναν από τους πολλά υποσχόμενους στόχους για εφαρμογή γονιδιακής θεραπείας με την εισαγωγή γονιδίων που παράγουν πρωτεΐνες με νευροπροστατευτική δράση ή αποκαθιστούν την λειτουργία ενός ελαττωματικού νευρομεταβιβαστή.

Πολλές δοκιμές γίνονται για την αντιμετώπιση της ασθένειας του Parkinson, η οποία οδηγεί στην σταδιακή εκφύλιση του νευρικού συστήματος. Οι προσπάθειες εστιάζονται στην επαγωγή της σύνθεσης της ντοπαμίνης, η οποία έχει παρατηρηθεί ότι βελτιώνει τα συμπτώματα των ασθενών με τη νόσο.

Η γονιδιακή θεραπεία ακολουθεί είτε ενδοσωματική είτε εξωσωματική μέθοδο για την μεταφορά του γονιδίου που κωδικοποιεί την τυροσινική υδροξυλάση, το ένζυμο που καταλύει την σύνθεση της ντοπαμίνης. Οι φορείς που χρησιμοποιούνται για την

γονιδιακή μεταφορά είναι αδenoϊοί adeno-associate ιοί και ο ιός του απλού έρπητα ιού.

3. ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΕΙΑ ΣΙΕΛΟΓΟΝΩΝ ΑΔΕΝΩΝ

Μια ομάδα ερευνητών προσπαθεί τα τελευταία χρόνια να εφαρμόσει τις τεχνικές της γονιδιακής θεραπείας στην αποκατάσταση δυσλειτουργιών των σιελογόνων αδένων. Τέτοιες δυσλειτουργίες παρουσιάζονται σε μια αυτοανοσοποιητική ασθένεια, το σύνδρομο Sjogren που καταστρέφει έναν πρωταρχικό τύπο κυττάρων των σιελογόνων αδένων, τα λοβώδη (acinar)κύτταρα που είναι υπεύθυνα για την έκκριση νερού και αλάτων δηλαδή σιέλου. Οι ασθενείς που πάσχουν από το σύνδρομο αυτό δεν μπορούν να παράγουν αρκετή σίελο. Επίσης τα λοβώδη κύτταρα πολλών ασθενών που έχουν υποστεί θεραπεία με ακτινοβολία για όγκους στο κεφάλι ή τον λαιμό, έχουν καταστραφεί.

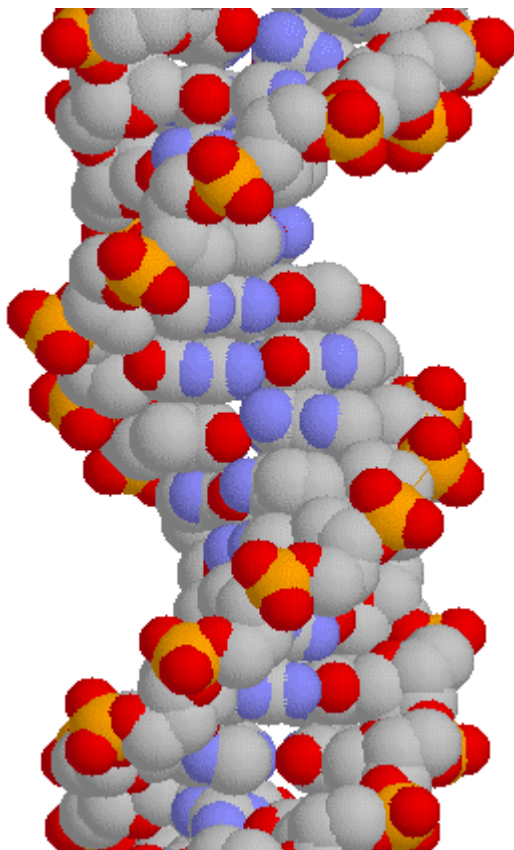
Οι ερευνητές έδειξαν σε in-vitro πειράματα ότι ορισμένοι τύποι ιών μεταφέρουν γονίδια στα λοβώδη κύτταρα καθώς και σε ένα άλλο τύπο κυττάρων των σιελογόνων αδένων, τα σωληνοειδή κύτταρα τα οποία απορροφούν άλατα.

Η στρατηγική που χρησιμοποιούν για την αποκατάσταση της λειτουργίας των σιελογόνων αδένων είναι η μεταφορά ενός γονιδίου στα σωληνοειδή κύτταρα που μπορεί να τα μετατρέψει σε κύτταρα που να μοιάζουν με τα λοβώδη όσον αφορά την λειτουργία τους δηλαδή την παραγωγή σιέλου. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που βρίσκεται στην εξωτερική μεμβράνη των κυττάρων και δρά σαν διάυλος νερού. Αν τα σωληνοειδή κύτταρα ενσωματώνουν αυτό το γονίδιο και το εκφράσουν στην πρωτεΐνη αυτή τότε θα εκκρίνουν επίσης νερό και άλατα όπως τα λοβώδη κύτταρα.

Τα πρώτα πειράματα in-vitro είναι ενθαρρυντικά και οι ερευνητές σχεδιάζουν να μεταφέρουν το γονίδιο σε σωληνοειδή κύτταρα ζωντανών ζώων, μετρώντας παράλληλα την παραγωγή σιέλου.

Η ίδια ομάδα ερευνητών σχεδιάζει επίσης να βελτιώσει την ποιότητα της παραγωγόμενης σιέλου όσον αφορά την περιεκτικότητα της σε ορισμένες χρήσιμες ουσίες. Μια τέτοια ουσία είναι η ιστατίνη (histatin), μια μικρή πρωτεΐνη που περιέχεται στην σίελο και προστατεύει από μυκητιακές μολύνσεις. Μεταφέροντας το γονίδιο της ιστατίνης στα κύτταρα των σιελογόνων αδένων, θα παράγεται περισσότερη πρωτεΐνη και έτσι υπολογίζεται ότι θα παρέχεται μεγαλύτερη προστασία από στοματικές μολύνσεις. Αυτό θα είναι ιδιαίτερα χρήσιμο σε ασθενείς με ανεπαρκή ανοσοποιητικό σύστημα, όπως ασθενείς που πάσχουν από

AIDS, οι οποίοι υποφέρουν από πολλές μολύνσεις της στοματικής περιοχής.



4. ΑΛΛΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Έχουν γίνει αναφορές για προσπάθειες εφαρμογής της γονιδιακής θεραπείας σε πολλούς άλλους τομείς της ιατρικής. Ορισμένες από τις σημαντικότερες εφαρμογές είναι οι εξής :

- ◆ Στην οδοντιατρική
- ◆ Στην αντιμετώπιση του γλαυκώματος
- ◆ Στην αντιμετώπιση του αλκοολισμού
- ◆ Σε ασθένειες του νεφρού
- ◆ Στην ανάπλαση οστών με μεταφορά γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την αναπαραγωγή οστών
- ◆ Στον δερματικό ιστό με σκοπό την θεραπεία γενετικών ασθενειών του δέρματος
- ◆ Στην εισαγωγή γονιδίων στις θηλές των τριχών για την υποβοήθηση της τριχοφυΐας
- ◆ Για την αντιμετώπιση γενετικών ασθενειών του ήπατος
- ◆ Για τον καρκίνο του προστάτη

5. ΝΕΑ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΝΕΙ ΔΥΝΑΤΗ ΤΗ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΟΡΓΑΝΩΝ ΧΩΡΙΣ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

PHILADELPHIA, PA, 29 ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΥ 1998

Ερευνητές στο πανεπιστήμιο της Pennsylvania, κατάφεραν να επιτύχουν μεταμόσχευση ήπατος σε τρωκτικά, χωρίς να κάνουν χρήση ανοσοκατασταλτικής αγωγής. Για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε μέθοδος γονιδιακής θεραπείας με σκοπό να τροποποιηθεί γενετικά το ήπαρ του δότη πριν την επέμβαση, κατά τέτοιο τρόπο ώστε να γίνεται ανεκτό από το ανοσολογικό σύστημα του λήπτη. Τα νέα αυτά ευρήματα παρουσιάζονται στο "Nature of Medicine". Αν και θα χρειαστούν πολλά πειράματα σε ζώα, πριν τυχόν επιχειρηθεί η εφαρμογή της μεθόδου κρίνονται σημαντικά. Και αυτό γιατί όλα τα μέχρι σήμερα χρησιμοποιούμενα ισχυρά ανοσοκατασταλτικά φάρμακα κάνουν δυνατή την επιβίωση του μοσχεύματος στο σώμα του λήπτη, με σημαντικό όμως από πλευράς παρενεργειών κόστος. "Η ανοσοκατασταλτική αγωγή δίνεται συστηματικά και εφ'όρου ζωής" σύμφωνα με την Kim Olthoff, MD, επίκουρο καθηγήτρια χειρουργικής που ηγείται της μελέτης. Έτσι προκειμένου να αποφύγουμε τον κίνδυνο απόρριψης ο λήπτης του μοσχεύματος πρέπει να λαμβάνει μακροχρόνια ανοσοκατασταλτική αγωγή. Η τεχνική που εφαρμόστηκε από την ομάδα του πανεπιστημίου της Pennsylvania χρησιμοποιεί ένα αδενοϊό στον οποίο έχει ενσωματωθεί με μεθόδους γενετικής μηχανικής ένα γονίδιο, το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που ονομάζεται CTLA4lg. Ο αδενοϊός αυτός ο οποίος στο εξής θα αναφέρεται ως "φορέας" τοποθετείται στο υγρό συντήρησης του μοσχεύματος μαζί με το ήπαρ που πρόκειται να μεταμοσχευτεί, και τελικά προσλαμβάνεται από το όργανο. Η διαδικασία αυτή διεξάγεται σε συνθήκες χαμηλής θερμοκρασίας. Μετά τη μεταμόσχευση το γονίδιο εκφράζεται στο ήπαρ με τη μορφή πρωτεΐνης CTLA4lg. Για την ενεργοποίηση των T-κυττάρων και τη μετατροπή τους σε κυτταροτοξικά χρειάζονται δύο "χημικά σήματα". Το πρώτο από αυτά συμβαίνει με την παρουσίαση του αντιγόνου στις πρωτεΐνες που αποτελούν το σύστημα μείζονος ιστοσυμβατότητας (MHC). Για να μετατραπεί όμως το T κύτταρο σε κυτταροτοξικό απαιτείται και ένα δεύτερο χημικό σήμα. Η πρωτεΐνη CTLA4lg θεωρείται ότι μπλοκάρει την παραγωγή του δεύτερου αυτού σήματος, έτσι ώστε τα T- λεμφοκύτταρα του λήπτη να μην μετατρέπονται σε κυτταροτοξικά και έτσι να μην μπορούν να στραφούν κατά του μοσχεύματος. Σύμφωνα με προηγούμενες έρευνες έχει

αποδειχτεί πως αν διακοπεί η παραγωγή του δεύτερου χημικού σήματος κατά την περίοδο που συμβαίνει η παρουσίαση του ξένου αντιγόνου-στην περίπτωση μας στο χρονικό διάστημα της επέμβασης και αμέσως μετά - τότε τα T-λεμφοκύτταρα του λήπτη δεν στρέφονται ποτέ εναντίον του νέου ιστού. Το φαινόμενο αυτό της επίκτητης ανοχής εξηγεί γιατί και είχαμε τόσο καλά μακροπρόθεσμα αποτελέσματα, με τη γονιδιακή μέθοδο, χωρίς μάλιστα την ανάγκη καμίας ανοσοκατασταλτικής αγωγής. "Έχουμε αναπτύξει μια γονιδιακή μέθοδο για τις περιπτώσεις μεταμόσχευσης ήπατος" λει ο Abraham Shaked, MD, Ph.D, επίκουρος καθηγητής χειρουργικής "έχουμε ανακαλύψει το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για την παραγωγή μιας πρωτεΐνης η οποία μπλοκάρει το ανοσοποιητικό σύστημα, έτσι ώστε αυτό να μην μπορεί να στραφεί εναντίον του μοσχεύματος. Έτσι δεν χρειάζεται να χρησιμοποιηθεί καμιά ανοσοκατασταλτική θεραπεία". Όλα αυτά τα συμπεράσματα είναι συναρπαστικά. Οι έρευνες ακόμη όμως βρίσκονται σε πειραματικό επίπεδο και χρειάζεται χρόνος μέχρις ότου αυτά να μπορέσουν να εφαρμοστούν και σε άνθρωπο.

6. ΓΟΝΙΔΙΟ ΠΙΘΑΝΩΣ ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΤΗΣ ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑΣ

IRVINE, CA, 31 Οκτωβρίου 1997. Επιστήμονες στο πανεπιστήμιο της Καλιφόρνια και οι συνεργάτες τους στο Πίτσμπουργκ και στην Ευρώπη, ταυτοποίησαν ένα γονίδιο το οποίο σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της σχιζοφρένειας, η σχιζοφρένεια πλήττει 60 εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως και 3 εκατομμύρια ανθρώπους στην Αμερική. Το ίδιο γονίδιο πιθανώς σχετίζεται με την εμφάνιση της μανιοκαταθλιπτικής ψύχωσης, η οποία αφορά 60-100 εκατομμύρια ανθρώπους σε όλο τον κόσμο. Τα στοιχεία αυτά παρουσιάστηκαν στο 47^ο ετήσιο συνέδριο της Αμερικανικής Εταιρίας Ανθρώπινης Γενετικής στη Βαλτιμόρη. Οι George Chandy και Jay Gargus καθηγητές Φυσιολογίας, Βιοφυσικής και Γενετικής στο UC Irvine College of Medicine και ο George Gutman, καθηγητής Μικροβιολογίας και Μοριακής Γενετικής στην ίδια σχολή, ισχυρίζονται ότι απομόνωσαν ένα από τα πολλά γονίδια, τα οποία πιθανώς να ευθύνονται για την εμφάνιση ψυχικών νόσων. Παρόμοιες ανακοινώσεις από παρελθόν είχαν αποδειχθεί λανθασμένες. "Χρειάζονται επιπλέον μελέτες με μεγαλύτερους αριθμούς ασθενών μέχρι να βεβαιωθούμε για τον πραγματικό ρόλο του γονιδίου αυτού στην εμφάνιση της ψυχικής νόσου" λει ο George Chandy. "Το συγκεκριμένο γονίδιο εντοπίστηκε στην περιοχή ενός χρωμοσώματος που από παλιότερα πιστεύαμε ότι μπορεί να έχει σχέση με αυτές τις ασθένειες. Η

πρωτεΐνη για την παραγωγή της οποίας είναι υπεύθυνο κάνει ακόμα πιο λογική μια τέτοια υπόθεση", εξηγεί ο Gargus. Συγκεκριμένα το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί την παραγωγή μιας πρωτεΐνης η οποία αποτελεί διάυλο ιόντων καλίου (potassium ion channel) και η οποία ελέγχει την ηλεκτρική δραστηριότητα των νεύρων. Μεταβολές στη λειτουργία της πρωτεΐνης αυτής θα μπορούσαν να προκαλέσουν διαταραχές στη συμπεριφορά." Πρόκειται για ένα σημαντικό βήμα στην κατανόηση της προέλευσης της ψυχικής νόσου", συμπληρώνει ο Gargus. "Αν τα αποτελέσματα μας επιβεβαιωθούν από νέες μελέτες αυτή τότε η ανακάλυψη θα μπορούσε να οδηγήσει στην εφαρμογή νέων δοκιμασιών με τις οποίες θα διακρίνονται εκείνοι οι οποίοι έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν κάποια ψυχική νόσο, και ίσως και στην παραγωγή μιας νέας γενιάς φαρμάκων με συγκεκριμένους στόχους καθώς και γονιδιακής θεραπείας.

ΜΕΡΟΣ Ζ'

ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Δύο επαναστάσεις της τεχνολογίας αλλάζουν τα δεδομένα της φυσικής μας ύπαρξης. Η βιοτεχνολογία μεταμορφώνει τον τομέα της ιατρικής. Σύμφωνα με τους ειδικούς, η κατανόηση της γονιδιακής μας δομής θα προκαλέσει μια σειρά από εξελίξεις στον έλεγχο των ασθενειών που οφείλονται στα γονίδια και, γύρω στο 2012, θα έχει τελειοποιηθεί μια γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου.

Ως το 2020 θα είναι δυνατόν να προλαμβάνεται, με τον κατάλληλο χειρισμό γονιδίων, το ένα τρίτο περίπου των κληρονομικών ασθενειών. Σε αυτό βοηθάει, φυσικά, και η δεύτερη επανάσταση, η νανοτεχνολογία, μέθοδος κατασκευής μικροσκοπικών αντικειμένων στο μέγεθος του ατόμου, που κάποτε ανήκε στη σφαίρα της επιστημονικής φαντασίας. Οι μικροσκοπικοί αισθητήρες που θα μπαίνουν στην κυκλοφορία του αίματος του ανθρώπου, για να συλλέξουν πληροφορίες σχετικά με τη σύνθεσή του, θα είναι από τα πρώτα προϊόντα της νανοτεχνολογίας που θα κυκλοφορήσουν ως το 2015.

Ως το 2018, υπολογίζουν οι επιστήμονες, αυτές οι μικρομηχανές θα μπορούν να επιδιορθώνουν κύτταρα. Φυσικά, αυτό είναι μόνο η αρχή. Διότι, ως το 2050, τα περισσότερα προϊόντα θα κατασκευάζονται με νανοτεχνικές μεθόδους και θα δημιουργηθούν βιομηχανίες που θα παράγουν απλά προϊόντα μέσω υπολογιστών

Από τότε που εφαρμόστηκε για πρώτη φορά η γονιδιακή θεραπεία σε ανθρώπους, έχουν ξεκινήσει πολυάριθμες δοκιμές και πειραματικές μελέτες σε όλο τον κόσμο και στους περισσότερους τομείς της Ιατρικής. Η εκρηκτική εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας τα τελευταία χρόνια επιβεβαιώνει την πρόβλεψη ότι η επαναστατική αυτή μέθοδος θα επικρατήσει και θα επηρεάσει ριζικά την Ιατρική του μέλλοντος.

Παρόλη την εντυπωσιακή πρόοδο, όμως, υπάρχουν ακόμη αρκετές δυσκολίες που πρέπει να ξεπεραστούν και αρκετή έρευνα ακόμη

να πραγματοποιηθεί προτού η γονιδιακή θεραπεία μπορέσει να τελειοποιηθεί και να εφαρμοστεί σε μεγάλη κλίμακα.

Το κεφάλαιο αυτό αναφέρεται στα βασικά προβλήματα που αντιμετωπίζει η γονιδιακή θεραπεία σήμερα, στα σημαντικά ηθικά ζητήματα που προκύπτουν και στις προοπτικές της γονιδιακής θεραπείας στην φαρμακευτική βιομηχανία.

1. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Οι εφαρμογές της γονιδιακής θεραπείας σήμερα συναντούν μία σειρά από σημαντικές δυσκολίες που παρεμποδίζουν την ταχύτερη εξάπλωση της νέας τεχνικής. Οι περισσότερες δυσκολίες προκύπτουν από το γεγονός ότι δεν έχουν βρεθεί ακόμη τα κατάλληλα "οχήματα" μεταφοράς θεραπευτικών γονιδίων στους ανθρώπους καθώς ο κάθε τύπος φορέα που χρησιμοποιείται παρουσιάζει μεν πλεονεκτήματα αλλά και αρκετά μειονεκτήματα. Μία άλλη δυσκολία είναι η επέκταση των δοκιμών από τα ζωικά μοντέλα στους ανθρώπους. Οι δύο αυτές βασικές δυσκολίες αναφέρονται λεπτομερώς.

1.1. ΕΛΛΕΙΨΗ ΙΔΑΝΙΚΩΝ ΦΟΡΕΩΝ

Ο ιδανικός φορέας θα πρέπει να είναι ικανός να παραδίδει αποτελεσματικά το θεραπευτικό γενετικό υλικό που μεταφέρει στο γονιδίωμα των κυττάρων του ασθενή. Η κατασκευή του ιδανικού φορέα δεν είναι καθόλου εύκολη υπόθεση, διότι ο ρόλος του είναι να "ξεγελάσει" το κύτταρο-στόχος να δεχτεί το ξένο DNA το οποίο για εκατομμύρια χρόνια έχει καταφέρει να εξασφαλίζει την επιβίωση μόνο του δικού του DNA.

Αν υποθετικά κατασκευαστεί ο ιδανικός φορέας θα πρέπει να συγκεντρώνει τα χαρακτηριστικά που αναφέρονται στον [πίνακα 10](#).

Χαρακτηριστικά του ιδανικού φορέα για μεταφορά γονιδίων σε κύτταρα

- Να είναι εκλεκτικός ως προς τον στόχο του
- Να μην αναγνωρίζεται από το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενή
- Να αναπαράγεται με εύκολο και σταθερό τρόπο
- Να απομονώνεται εύκολα σε μεγάλες ποσότητες
- Να μην επάγει την πρόκληση φλεγμονών
- Να είναι ασφαλής για τον δέκτη και για το περιβάλλον
- Να εκφράζει το γονίδιο με ελεγχόμενο τρόπο για όσο χρονικό διάστημα είναι απαραίτητο

Πίνακας 10

Ο ιδανικός, όμως, φορέας ο οποίος θα συγκεντρώνει όλα αυτά τα χαρακτηριστικά σε κάθε εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας σε ανθρώπους είναι θεωρητικά πολύ δύσκολο να κατασκευαστεί γιατί το φάσμα των εφαρμογών αυτών είναι πολύ ευρύ. Ενδεχομένως για κάθε εφαρμογή χρειάζεται ένας διαφορετικός "ιδανικός" φορέας.

Η σημερινή κλινική εμπειρία δείχνει ότι όλοι οι φορείς που χρησιμοποιούνται βασισμένοι σε αδενοϊούς, ρετροϊούς και άλλους τύπους ιών και τα συμπλέγματα πλασμιδίων-λιποσωμάτων χρειάζονται βελτίωση. Η μεγαλύτερη ανάγκη βελτίωσης εστιάζεται στην αύξηση της αποτελεσματικότητας της γονιδιακής μεταφοράς, στην αύξηση της εξειδίκευσης του στόχου όπου θα παραδοθεί το γενετικό υλικό και στην ικανότητα ρύθμισης των μεταφερόμενων γονιδίων.

Επίσης, ειδικά για κάθε τύπο φορέα χρειάζεται να ελαχιστοποιηθούν οι εξής κίνδυνοι:

- ◆ Για τους ρετροϊικούς φορείς ο κίνδυνος δημιουργίας μεταλλαγών στις θέσεις που το DNA του ιού ενσωματώνεται στο χρωμόσωμα των κυττάρων.
- ◆ Για τους αδενοϊούς η πρόκληση ανοσολογικής αντίδρασης και φλεγμονών.
- ◆ Για τα συμπλέγματα πλασμιδίων-λιποσωμάτων η μειωμένη αποτελεσματικότητα μεταφοράς των γονιδίων στον πυρήνα των κυττάρων.

Η παραγωγή των φορέων σε μεγάλη κλίμακα για την εκτεταμένη χρήση τους σε κλινικές δοκιμές επίσης παρουσιάζει δυσκολίες. Κατά την παραγωγή αδενοϊικών και ρετροϊικών φορέων παρατηρείται και δημιουργία ορισμένων ανεπιθύμητων ιών με την ικανότητα να αναπαράγονται (παρόλο που κατά την κατασκευή των φορέων αφαιρούνται τα γονίδια τα υπεύθυνα για την αναπαραγωγή των ιών). Κατά την δημιουργία συμπλεγμάτων πλασμιδίων-λιποσωμάτων παρατηρείται συσσώρευση και μόλυνση από ενδοτοξίνη.

1.2. ΕΛΛΕΙΨΗ ΚΑΤΑΛΛΗΛΩΝ ΖΩΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ

Ένα άλλο σημαντικό πρόβλημα που αντιμετωπίζεται στις εφαρμογές της γονιδιακής θεραπείας είναι η ανεύρεση των κατάλληλων ζωικών μοντέλων που εκδηλώνουν παρόμοια συμπτώματα όταν έχουν προσβληθεί από ανθρώπινες γενετικές ασθένειες. Είναι π.χ. δύσκολο να βρεθούν ζώα που να εκδηλώνουν ορισμένες κοινές ανθρώπινες γενετικές

ασθένειες όπως η κυστική ίνωση και η δρεπανοκυτταρική αναιμία. Ακόμη, όμως, και όταν βρίσκονται κάποια ζώα που παρουσιάζουν όμοια γενετική συμπεριφορά με τον άνθρωπο κανένα από αυτά δεν αποτελεί ιδανικό μοντέλο.

Αυτά είναι μόνο ορισμένα από τα βασικότερα ζητήματα που πρέπει να ξεπεραστούν στο εγγύς μέλλον προκειμένου η τεχνική της γονιδιακής θεραπείας να αναπτυχθεί αποτελεσματικά και να αποτελέσει ένα πραγματικά πρωτοποριακό επιστημονικό επίτευγμα με θεαματικά θεραπευτικά αποτελέσματα όταν εφαρμόζεται στις περιπτώσεις που οι κλασικές θεραπείες δεν είναι τόσο αποτελεσματικές.

2. ΗΘΙΚΑ ΖΗΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Καμία αναφορά στην γονιδιακή θεραπεία δεν είναι πλήρης αν δεν θίγει και τα σοβαρά ηθικά, κοινωνικά και νομικά ζητήματα που προκύπτουν από την ραγδαία πρόοδο και εφαρμογή των νέων τεχνικών γονιδιακής μεταφοράς και γενετικής τροποποίησης στα κύτταρα του ανθρώπου.

Οι δυνατότητες της γονιδιακής θεραπείας έχουν δημιουργήσει μαζί με την ελπίδα για την διόρθωση πολλών γενετικών ανωμαλιών και την ανησυχία για τον κίνδυνο από την αλόγιστη χρήση αυτού του είδους των επεμβάσεων. Μετά την δημοσίευση των πρώτων αποτελεσμάτων, επιστημονικοί και εξωεπιστημονικοί κύκλοι άρχισαν μία συνεχιζόμενη διαμάχη στην οποία έλαβαν ενεργό μέρος τα μέσα μαζικής ενημέρωσης μεταδίδοντας στο κοινό τον θαυμασμό μαζί όμως με τον φόβο για τις προοπτικές της νέας θεραπευτικής μεθόδου.

Οι ανησυχίες εντείνονται και από το γεγονός ότι παράλληλα με την έρευνα για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας εξελίσσεται το πρόγραμμα χαρτογράφησης του ανθρώπινου γονιδιώματος το οποίο αναμένεται να ενισχύσει εκπληκτικά τις γνώσεις μας για τα ανθρώπινα γονίδια.

«Υπάρχουν πολλές παρεξηγήσεις ανάμεσα στους επιστήμονες και το κοινό. Η χαρτογράφηση του γενώματος, είναι μία από αυτές», λέει ο υπεύθυνος της ερευνητικής ομάδας του Κέντρου Γενετικής, στο Νοσοκομείο Νεκέρ του Παρισιού, Αρνολντ Μινίχ.

Η φωνή του ηχεί παράφωνα ίσως μέσα στις ιαχές και τις επευφημίες για το μεγάλο αυτό επίτευγμα της επιστήμης, αλλά

εκείνος νηφάλιος, μιλά στην εφημερίδα «Λε Μοντ», για τη δουλειά που έχει προηγηθεί και αυτήν που υπολείπεται να γίνει: «Μήπως περιμέναμε την αναλυτική καταγραφή του γενώματος για, να εντοπίσουμε και να αναγνωρίσουμε τα γονίδια των γενετικών ασθενειών; Ασφαλώς όχι - προσθέτει. Η εικοσαετία 1980-2000 ήταν τα πιο λαμπρά χρόνια, σ' αυτόν τον τομέα, καθώς ανακαλύψαμε τα γονίδια χιλίων ασθενειών: Όπως της μυοπάθειας, της αιμοφιλίας, σχεδόν όλων των οπτικών και ακουστικών αναπηριών και της πλειονότητας των κληρονομικών δυσμορφιών. Κι όλα αυτά πριν από την πλήρη καταγραφή του γενώματος».

Να τι λει για τον τρόπο που εργάζεται σ' αυτόν τον τόσο ευαίσθητο τομέα έρευνας:

«Θα χρησιμοποιήσω μια εικόνα για να εξηγήσω τον τρόπο που δουλεύω. Όταν είμαστε στην έρημο και ψάχνουμε για νερό, ανεβαίνουμε σε ένα ελικόπτερο και κοιτάμε πού βρίσκονται οι οάσεις. Όταν τις εντοπίζουμε, συμπεραίνουμε πως εκεί υπάρχει νερό και πάμε να το βρούμε. Το ίδιο ακριβώς κάναμε και με τις μεθόδους της παραδοσιακής γενετικής (ανάλυση σχέσεων, εντοπισμό γονιδίων, χρήση συγγενών οικογενειών). Και μ' αυτόν τον τρόπο προχωρήσαμε στην περιοχή των γονιδίων του καρκίνου. Ως γιατρός και γενετιστής, πηγαίνω από τον ασθενή μου στην οικογένειά του, από την οικογένειά του σε άλλες οικογένειες και από όλες αυτές τις οικογένειες στον εντοπισμό του γονιδίου και στην αναγνώρισή του. Από κει περνάμε στη διαμόρφωση και εφαρμογή μιας θεραπευτικής απόκρουσης. Οι γενετιστές που ασχολούνται με την πλήρη χαρτογράφηση του γενώματος, έχουν στόχο τους το σύνολο της τοπογραφίας ακόμη και των περιοχών που α priori δεν έχουν ιατρικό ενδιαφέρον».

- Τι θα προσφέρει η πλήρης καταγραφή του γενώματος;

- «Θα επιταχύνει μέρος της δουλειάς μας. Ο συνδυασμός των παραδοσιακών τεχνικών με την πρόσβαση στο γενετικό κώδικα, μέσω Ιντερνετ, έχει συμβάλει σήμερα στην επιτάχυνση των διαδικασιών. Πριν από λίγο καιρό ένας από τους συνεργάτες μου εντόπισε το γονίδιο μιας σπάνιας ασθένειας σε μια περιοχή του γενώματος που είχε ήδη αποκωδικοποιηθεί.

Ξαφνικά, εκεί που θα χρειαζόμασταν τρία ή τέσσερα χρόνια για να φθάσουμε σ' αυτό το σημείο, καταφέραμε σε δεκαπέντε ημέρες να αναγνωρίσουμε το γονίδιο και τις μεταστάσεις που οφείλονται στην ασθένεια».

- Η γνώση για το ανθρώπινο γένωμα θα επισπεύσει την ανακάλυψη θεραπειών;

- «Αυτό δεν έχει καμία σχέση. Για να θεραπεύσεις κάποιον πρέπει να κατανοήσεις τους μηχανισμούς της ασθένειας προκειμένου να εμποδίσεις την εξέλιξή τους και να βρεθούν οι φορείς που θα διευθετήσουν τα γονίδια (γονιδιακή θεραπεία) ή φάρμακα που θα μπορούν να απορροφηθούν. Οι άνθρωποι περιμένουν με μεγάλη ανυπομονησία τα αποτελέσματα αυτής της ανακάλυψης. Λες και πως με τη χαρτογράφηση του γενώματος θα αποκαλυφθεί η ύπαρξη του Θεού, όπως τότε στο όρος Σινά. Όμως το πραγματικό πρόβλημα σήμερα είναι πώς θα μεταφέρουμε όλες αυτές τις πληροφορίες που βρίσκονται στο γένωμα σε γενετικά τεστ πρόβλεψης και πρόληψης των ασθενειών. Πρέπει να εκμεταλλευτούμε τις γνώσεις μας, για να ανακαλύψουμε γονίδια άλλων ασθενειών ή γονίδια μετεξέλιξης κοινών ασθενειών. Δεν θα πρέπει η ανικανότητα επικοινωνίας των επιστημόνων, σε συνδυασμό με τις υπερβολές των ΜΜΕ, να συμβάλει σε ένα ακόμη πιο έντονο παραλήρημα των ανθρώπων πάνω σ' αυτό το θέμα».

2.1. ΑΠΟΚΑΛΥΨΗ ΤΩΝ "ΑΔΥΝΑΜΙΩΝ"

Η ολοκλήρωση του προγράμματος θα δημιουργήσει ένα είδος "διαφανούς γονιδιώματος" όπου δεν θα υπάρχουν πλέον μυστικά. Θα μπορούν να αποκαλύπτονται οι γενετικές αδυναμίες των ανθρώπων και αυτό το γεγονός μπορεί να επηρεάσει την θεώρηση της κοινωνίας για την αναπηρία, για τις μειονότητες, για τις σχέσεις γιατρών και ασθενών όπως μπορεί να επηρεάσει και τις δυνάμεις της αγοράς.

Η χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος, η οποία συνδέεται άμεσα με το μέλλον της γονιδιακής θεραπείας θεωρητικά έχει δύο όψεις από ηθικής πλευράς.

Σύμφωνα με την θετική όψη, εφόσον θα διαλευκανθούν οι γονιδιακοί μηχανισμοί που επηρεάζουν τις ασθένειες, αναμφισβήτητα θα δοθεί η δυνατότητα να αντιμετωπιστούν περισσότερες γενετικές ασθένειες με περισσότερη επιτυχία.

Σύμφωνα με την αρνητική άποψη, η αποκάλυψη των ανθρώπινων γονιδίων δημιουργεί τις προϋποθέσεις για να γίνουν προσπάθειες βελτίωσης των γενετικών χαρακτηριστικών των πληθυσμών και για την εφαρμογή της ευγονικής, η οποία όμως περιέχει τον κίνδυνο υπερβάσεως των παραδεκτών ορίων της ηθικής.

2.2. ΜΕΧΡΙ ΠΟΥ ΤΙΘΕΝΤΑΙ ΤΑ "ΟΡΙΑ"

Ένα άλλο θέμα που σχετίζεται άμεσα με το ηθικό ζήτημα της γονιδιακής θεραπείας είναι η ανάπτυξη όλο και πιο "υψηλής τεχνολογίας" γενετικών δοκιμασιών μέσω των οποίων θα γίνεται η ανίχνευση για την παρουσία ή την έλλειψη λειτουργίας συγκεκριμένων γονιδίων. Οι γενετικές δοκιμασίες αποτελούν ένα δυναμικό διαγνωστικό εργαλείο της ιατρικής με το οποίο οι γενετιστές προσπαθούν να προβλέψουν την πορεία υγείας ενός ασθενή.

Εδώ όμως τίθεται ένα πολύ σημαντικό ερώτημα: πότε τελικά μία ασθένεια μπορεί να θεωρηθεί γενετική; Σύμφωνα με τις εκτιμήσεις, όλοι οι άνθρωποι έχουν τουλάχιστον 5 με 10 γονίδια που μπορούν να τους οδηγήσουν σε ασθένεια κάτω από ορισμένες συνθήκες. Ο γενετιστής M. Kaback του Πανεπιστημίου της Καλιφόρνιας, στις ΗΠΑ, δηλώνει ότι είμαστε όλοι "μεταλλαγμένοι".

Όσο περισσότερο προχωράει η έρευνα, τόσο τα όρια που καθορίζουν μία γενετική ασθένεια γίνονται ασαφή. Αν οι ερευνητές αποκαλύψουν ένα γονίδιο που προσδίδει πχ. πιθανότητες 60% για εκδήλωση υπερβολικού βάρους, τότε ποιος θα αποφασίσει αν η παχυσαρκία που θα προκύψει θεωρηθεί ότι είναι γενετική ασθένεια ή όχι;

Δημιουργείται λοιπόν το εξής ηθικό αλλά και νομικό ζήτημα: κατά πόσο ένα άτομο το οποίο αποδεικνύεται ότι πάσχει από κάποια γενετική ανωμαλία ή έχει προδιάθεση για την εκδήλωση κάποιας γενετικής ασθένειας "στιγματίζεται" μέσα στην κοινωνία. Επισημαίνεται ο κίνδυνος να χρησιμοποιούνται τα αποτελέσματα των γενετικών δοκιμασιών από τις ασφαλιστικές εταιρίες και από τους εργοδότες σαν ένα μέσο για να διακρίνουν τους "υγιείς" από τους "μη υγιείς" πολίτες.

Ήδη στις ΗΠΑ έχουν σημειωθεί διάφορα κρούσματα "γενετικής διάκρισης" από ασφαλιστικές εταιρίες, σε πολίτες που βρέθηκαν να πάσχουν οι ίδιοι ή οι άμεσοι συγγενείς τους από γενετικές ασθένειες.

Όσον αφορά τα προβλήματα που θέτει η γενετική ευγονική, σύμφωνα με μία άποψη, η εφαρμογή αυτού του είδους της ευγονικής δεν θα προέλθει από ένα άτομο που θα παίξει τον ρόλο του "δικτάτορα" αλλά από την ίδια την κοινωνία η οποία θα λει: "μπορείτε να κάνετε παιδιά όπως τα θέλετε αλλά εμείς δεν τα πληρώνουμε".

Αναμφισβήτητα, όμως, η σημερινή κοινωνία πρέπει να προχωρήσει μέσα στην νέα εποχή των γενετικών επιτευγμάτων λαμβάνοντας υπόψιν ότι η γονιδιακή θεραπεία μπορεί να χρησιμοποιηθεί κυρίως για ηθικούς σκοπούς. Επιβάλλεται όμως επίσης, όλοι να παραμένουν επάγρυπνοι για να απολαμβάνει η ανθρωπότητα τα θεραπευτικά αποτελέσματα της νέας μεθόδου και να αποτραπεί οποιαδήποτε αλόγιστη χρήση της.

Η ανάγνωση του ανθρώπινου γενετικού κώδικα είναι μια επιστημονική και τεχνολογική επανάσταση με τεράστιες επιπτώσεις στην κοινωνία.

Τα θετικά και τα αρνητικά αυτού του εγχειρήματος εξαρτώνται από τον τρόπο διαχείρισης της νέας πληροφορίας που προκύπτει και τον αξιολογικό της προσανατολισμό. Είναι σαφές πάντως πως ανοίγει ένα νέο επιστημονικό κεφάλαιο στην ιστορία της ανθρωπότητας που απαιτεί υψηλό βαθμό συλλογικής αυτογνωσίας και κοινωνικής αυτοσυνειδησίας των πολιτών και διαρκούς επαγρύπνησής τους.

Διότι δημιουργούνται πλέον ο προϋποθέσεις, -εκτός από την αντιμετώπιση δύσκολων ασθενειών, - καταστρατήγησης κοινωνικών δικαιωμάτων, ακόμη και ελέγχου της ανθρώπινης φύσης.

Ο διευθυντής του Ινστιτούτου Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας του Ι.Τ.Ε. Γιώργος Θηραίος, από τους πλέον ειδικούς στην στα εν λόγω ζητήματα, αφού το IMBB είναι στην πρωτοπορία της διεθνούς έρευνας, μας είπε: «Ασφαλώς η ανάγνωση του ανθρώπινου γενετικού κώδικα είναι ένα πάρα πολύ σημαντικό βήμα για τη βιολογική έρευνα και για την πανανθρώπινη προσπάθεια να καταλάβουμε τους μηχανισμούς που καθορίζουν τις λειτουργίες της ζωής. Ουσιαστικά όμως είναι η αρχή, η μία βάση πάνω στην οποία θα στηριχτούμε. Το επόμενο βήμα το οποίο είναι το πιο ουσιαστικό και προκλητικό, είναι να καταλάβουμε τα γονίδια, που καθορίσαμε και γνωρίσαμε, τι είδους λειτουργία επιτελούν.

Η ελπίδα από το πρώτο και το δεύτερο στάδιο αυτής της ερευνητικής διαδικασίας, είναι ότι θα προκύψουν άμεσα οφέλη που αφορούν την ανθρώπινη υγεία, αλλά συγχρόνως με την ίδια αμεσότητα θα δημιουργηθούν και πολλά προβλήματα που σχετίζονται των προσωπικών δεδομένων, και δεν υπάρχει τίποτα πιο προσωπικό από την προσωπική ταυτότητα του καθενός από εμάς. Το δεύτερο στάδιο που αφορά τη λειτουργική γνώση των γονιδίων, θα βοηθηθεί και από τη γνώση των γονιδιωμάτων απλών μοντέλων οργανισμών. Ένα σημαντικό πράγμα που το περιμέναμε αλλά που το επιβεβαιώσαμε μέσα από τα γονιδιωματικά προγράμματα, είναι η εξελικτική συγγένεια όλων των οργανισμών πάνω στη Γη. Έτσι πολλά γονίδια που βρίσκουμε σε απλούς μύκητες, στη μύγα και στο ποντίκι είναι τα ίδια που λειτουργούν και στον άνθρωπο. Με τη γνώση των γονιδιωμάτων σε αυτούς τους απλούς οργανισμούς, αποκτούμε γνώση για τη λειτουργία των γονιδίων και κατ' επέκταση των όμοιων γονιδίων που υπάρχουν στον άνθρωπο.

Το IMBB του ΙΤΕ συμμετείχε σε δύο διεθνή προγράμματα γονιδιωματικών ερευνών, αυτό της μαγιάς της μπίρας και της μύγας της δροσόφιλας, συμμετείχε επίσης και σε φάσεις της χαρτογράφησης του ανθρώπινου γονιδιώματος. Η εμπειρία που έχει αποκτηθεί δίνει τη δυνατότητα και στην Ελλάδα, αν η κυβέρνηση το αποφασίσει, να αναπτύξει το γονιδιωματικό πρόγραμμα, επιλέγοντας οργανισμούς με ιδιαίτερη οικονομική σημασία για τη χώρα όπως παθογόνα φυτών ή ιδιαίτερης σημασίας βιοποικιλότητας για βιομηχανικές εφαρμογές, όπως είναι τα θερμόφιλα βακτήρια της Σαντορίνης. (Μερικά από αυτά τα βακτήρια αντέχουν σε υψηλές θερμοκρασίες και μπορούν βαθμιαία να αποσυνδέσουν μέταλλα).

Επικεντρώνοντας το ενδιαφέρον του και την προβληματική του στο θέμα της υγείας και στον ευαίσθητο τομέα της ανθρώπινης αξιοπρέπειας, ζητήματα που σχετίζονται άμεσα με την ανάγνωση του ανθρώπινου γενετικού κώδικα, ο κ. Θηραΐος τόνισε: «στο ιατρικό πεδίο θα καταλάβουμε τη γενετική βάση πολλών ασθενειών ακόμη και πολύπλοκων, όπως ο καρκίνος κ.λπ. Μέσα από αυτή τη γνώση θα διευρυνθούν οι θεραπευτικοί και φαρμακευτικοί στόχοι. Ελπίζουμε να δημιουργηθεί, με βάση τα γενετικά πρότυπα του κάθε ανθρώπου, ειδικό φάρμακο για κάθε άνθρωπο ξεχωριστά ανάλογα με τις παραμέτρους του οργανισμού του. Επιπρόσθετα, θα αντιμετωπισθούν πολλές ασθένειες με τη γονιδιακή θεραπεία.

Το θέμα της προσωπικής μας αξιοπρέπειας, που πιθανόν να προκύψει από αυτά τα αποτελέσματα, πρέπει να προστατευτεί. Ουσιαστικά, πρέπει να διασφαλιστεί η βάση των γενετικών δεδομένων μας, να μην υπάρχει πρόσβαση σε κανέναν, γιατί μπορεί να γίνει αφετηρία διακρίσεων. Π.χ. υπάρχουν τα περίφημα γονίδια προδιάθεσης σοβαρών ασθενειών, το "προδιάθεση", όμως, είναι πολύ ασαφές. Προσωπικά πιστεύω ότι οι άνθρωποι θα βάλουμε τους αυτοπεριορισμούς στη γνώση, γιατί τώρα δεν παίζουμε με μια βόμβα, αλλά με την ίδια μας τη φύση και το ποιος θα έχει τον έλεγχο πάνω σε αυτήν τη διαδικασία, δημιουργεί σοβαρά ερωτηματικά περισσότερο από κάθε άλλο τεχνολογικό επίτευγμα του ανθρώπου.

Δεν έχουμε τίποτα να φοβηθούμε από τη γνώση, έχουμε να φοβηθούμε από την άγνοια. Όσο περισσότερο είναι ενημερωμένο το ευρύ κοινό, τόσο περισσότερο μπορούν να τεθούν οι αυτοπεριορισμοί. Όσον αφορά τις επιπτώσεις στην υγεία, το κοινό τις δέχεται θετικά, αλλά δεν εμβαθύνει στις πιθανές παρενέργειες της γνώσης. Χωρίς να ξέρω τις δηλώσεις Κλίντον και Μπλερ, ελπίζω να μην έχουν σαν αποτέλεσμα μόνο την άνοδο των μετοχών συγκεκριμένων βιοτεχνολογικών εταιρειών, που συμμετείχαν σε

αυτό το επίτευγμα, με κύριο στόχο την εμπορευματοποίηση της γενετικής πληροφορίας».

Ο αναπληρωτής καθηγητής του Πανεπιστημίου Κρήτης στη Δομική Βιολογία και στην Κρυσταλλογραφία του Μακρομορίου, κ. Μιχάλης Κοκκινίδης, μας είπε: «Σίγουρα η ανάγνωση του ανθρώπινου γενετικού κώδικα αποτελεί άλμα για την ανθρωπότητα, τα θετικά αποτελέσματα του οποίου θα υπερκαλύψουν οποιαδήποτε προσπάθεια κατάχρησής του. Οι επιπτώσεις στο χώρο της Ιατρικής και της βιοτεχνολογίας θα είναι καταλυτικές στην αντιμετώπιση σοβαρών ασθενειών.

Όπως επίσης θα μας βοηθήσει σε σωρεία βιοτεχνολογικών εφαρμογών, η οποία θα δώσει τη δυνατότητα να γίνει με ορθολογικότερο τρόπο ο σχεδιασμός δημιουργίας αποτελεσματικών φαρμάκων. Όπως κάθε μεγάλο τεχνολογικό βήμα, έτσι κι αυτό προκαλεί καχυποψίες και αμφιβολίες, αλλά η εμπειρία στην επιστήμη έχει δείξει ότι κάθε τέτοια μεγάλη τεχνολογική επανάσταση έχει συμβάλει καταλυτικά στη βελτίωση των συνθηκών της ανθρωπότητας».

Ο ερευνητής του Ινστιτούτου Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας του ΙΤΕ κ. Ηλίας Κραμποβίτης δήλωσε: «Η γνώση είναι απολύτως αναγκαία και δεν πρέπει να έχει φραγμούς. Πρέπει να μουν όμως φραγμοί στη διαχείριση της πληροφορίας, έτσι ώστε να μην αποτελέσει κέντρο χρυσοθηρίας για τα πολυεθνικά συμφέροντα. Πρέπει να υπάρξει διαφάνεια και έλεγχος στον τρόπο αξιοποίησης αυτής της γνώσης από διεθνείς επιτροπές, όπως ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, και να διασφαλιστεί το απόρρητο του γενετικού κώδικα του κάθε ανθρώπου. Είμαι αισιόδοξος ότι θα επικρατήσει η λογική. Παράλληλα, η αξιοποίηση των αποτελεσμάτων με τη δημιουργία προϊόντων δεν πρέπει να παραμείνει προνόμιο του δυτικού κόσμου, αλλά να υπάρξουν οφέλη και για τον Τρίτο Κόσμο».

Η ερευνήτρια βιοπληροφορικής κ. Αρτεμις Χατζηγεωργίου ανέφερε: «Το θετικό καταρχήν είναι ότι η μη εμπορική έρευνα του γονιδιόματος από την ακαδημαϊκή κοινότητα προχωρά παράλληλα με την έρευνα του ιδιωτικού τομέα και αυτό θα βοηθήσει στην έρευνα στον καρκίνο, στην αναιμία, στις καρδιοπάθειες κ.λπ. Όταν η έρευνα της ακαδημαϊκής κοινότητας προχωρά, υπάρχει η ελεύθερη δυνατότητα χρήσης των αποτελεσμάτων. Αυτό δυσκολεύει τις εταιρείες να περάσουν την έρευνα υπό μορφή πατεντών πάνω σε απλές ανθρώπινες αλληλουχίες και αυτό θα είχε συνέπεια ο κάθε ενδιαφερόμενος που ήθελε να έχει πρόσβαση στο ερευνητικό υλικό ή

θα ήθελε να προχωρήσει την έρευνα, να ζητεί την επικύρωση των ιδιωτικών εταιρειών. Τώρα μπαίνουμε σε μια καινούργια εποχή. Η δουλειά αρχίζει τώρα και η μεγάλη ανάλυση θα γίνει στους κομπιούτερ. Πρέπει πολίτες, κράτος, νομοθεσία να προετοιμαστούν και να προσαρμοστούν στην καινούργια γνώση που θα αποκτηθεί στον τομέα της υγείας: πρόγνωση, πρόληψη και καταπολέμηση ασθένειας, εξέλιξη η οποία θα είναι θετική αλλά θα υπάρξουν και αρνητικά στοιχεία, όπως οι ασφαλιστικές εταιρείες μπορούν να δημιουργήσουν κατηγορίες πολιτών ή να επιβάλουν εκτεταμένο προγενετικό έλεγχο και επιλογή».

3. Η ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ ΤΟΥ ΑΡΧΑΙΟΥ ΠΝΕΥΜΑΤΟΣ

ΓΟΝΙΔΙΑΚΟ ΝΤΟΠΙΝΓΚ

Ολυμπιακοί Αγώνες 2008. Νεκρική σιγή επικρατεί στο στάδιο, καθώς όλοι οι θεατές περιμένουν με κομμένη την ανάσα τον τελικό αγώνα δρόμου των 100 μέτρων των ανδρών. Και καθώς οι φιναλίστ του τελικού περιμένουν να διαγωνιστούν, ο κόσμος προβλέπει ότι ο νικητής θα συντρίψει και αυτή τη φορά το ρεκόρ.

Επιστημονική φαντασία ή μήπως μία αρκετά πιθανή εκδοχή του μέλλοντος; Μπορεί, βέβαια, να φαντάζει σαν εφιάλτης για τον χώρο του αθλητισμού, όμως, η τεχνολογία που θα επιτρέψει την υλοποίηση αυτού του εφιάλτη μπορεί να αναπτυχθεί ακόμη και πριν από το 2008.

Επιστήμονες σε όλον τον κόσμο εργάζονται για την τελειοποίηση γονιδιακών θεραπειών, με στόχο την καταπολέμηση των αντίστοιχων ασθενειών. Σε λίγο καιρό, ασυνείδητοι αθλητές θα είναι σε θέση να τροποποιήσουν τη δομή του σώματός τους, ούτως ώστε να βελτιώσουν τις αθλητικές τους επιδόσεις.

Χρειάζεστε μεγαλύτερη αντοχή; Προσθέστε ένα γονίδιο που θα ενισχύει την προώθηση του οξυγόνου στους κουρασμένους ιστούς. Θέλετε μεγαλύτερους μυς; Εγγύστε σε αυτούς ένα γονίδιο που θα τους βοηθήσει να μεγαλώσουν. Και οι δύο αυτές τεχνικές είναι, αυτήν τη στιγμή, υπό ανάπτυξη, και αν τα αποτελέσματα που παρατηρούνται σήμερα σε πειραματόζωα ισχύουν και στους ανθρώπους, τότε θα αλλάξουν ριζικά τα δεδομένα σχεδόν σε όλα τα αθλήματα.

Με ποιο κόστος, όμως; Η γνώση ότι υφίσταται μία μέθοδος βελτίωσης των επιδόσεων είναι ένα πράγμα. Όμως, η γνώση εφαρμογής αυτής της μεθόδου είναι κάτι τελείως διαφορετικό. Εάν οι αθλητές, όντως, στραφούν στη γονιδιακή θεραπεία, αυτοί οι γενετικά βελτιωμένοι

πρωταθλητές κινδυνεύουν να πληρώσουν την επιτυχία τους με το αντίτιμο καρδιακών παθήσεων, εμφραγμάτων, ακόμη και του πρόωρου θανάτου...

Τα γονίδια έχουν πολύ μεγάλη σημασία, όταν πρόκειται για τον αθλητισμό. Στους χειμερινούς Ολυμπιακούς Αγώνες του 1964, στο Ινσμπρουκ, παραδείγματος χάριν, ο Φινλανδός αθλητής Εέρο Μεντίραντα κέρδισε δύο χρυσά μετάλλια στο σκι ανωμάλου δρόμου. Μολονότι, το προπονητικό του πρόγραμμα δεν είχε δραματικές διαφορές από εκείνο των συναθλητών του και των αντιπάλων του, ο Μεντίραντα είχε ένα σαφές πλεονέκτημα: Ήταν εκ γενετής "προικισμένος" με μία γενετική μετάλλαξη, η οποία τροφοδοτούσε το αίμα του με 25% έως 50% περισσότερα ερυθρά αιμοσφαίρια από ό,τι ενός κοινού ανθρώπου. Δεδομένου ότι τα αιμοσφαίρια αυτά μεταφέρουν το οξυγόνο από τους πνεύμονες στους ιστούς του σώματος, οι μύες του Μεντίραντα προσλάμβαναν μεγαλύτερες ποσότητες οξυγόνου που τους ήταν απαραίτητο για την αεροβική άσκηση, και έτσι μπορούσε να κάνει σκι με μεγαλύτερη ταχύτητα και για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Ο Μεντίραντα είχε περισσότερα ερυθρά αιμοσφαίρια, εξαιτίας μίας μετάλλαξης του γονιδίου που παράγει τον υποδοχέα για την ορμόνη ερυθροποιητίνη. Φυσιολογικά, τα νεφρά εκκρίνουν την ερυθροποιητίνη όταν τα επίπεδα του οξυγόνου στους ιστούς του σώματος είναι πολύ χαμηλά, όπως συμβαίνει, ας πούμε, σε μεγάλο υψόμετρο, όπου υπάρχει μικρότερη ποσότητα οξυγόνου. Η ερυθροποιητίνη δίνει στο σώμα την "εντολή" να παράγει περισσότερα ερυθρά αιμοσφαίρια, γεγονός που βοηθά το αίμα στη μεταφορά μεγαλύτερης ποσότητας οξυγόνου. Όταν η παροχή φτάσει, εκ νέου, σε φυσιολογικά επίπεδα, ο υποδοχέας της ερυθροποιητίνης σταματά την έκκριση της ορμόνης. Όμως, η μετάλλαξη του Μεντίραντα είχε αποκλείσει αυτόν τον υποδοχέα και, έτσι, το σώμα του συνέχιζε να παράγει περισσότερα ερυθρά αιμοσφαίρια.

Η μετάλλαξη του Μεντίραντα είναι εξαιρετικά σπάνια. Όμως, οποιοσδήποτε μπορεί να αυξήσει τα ερυθρά του αιμοσφαίρια προσθέτοντας ερυθροποιητίνη στο αίμα του. Το 1989, η εταιρεία παραγωγής βιοτεχνολογικών προϊόντων Amgen έθεσε σε κυκλοφορία το Erogen, μία ενέσιμη μορφή ερυθροποιητίνης, η οποία είχε προέλθει από ανασυνδυαζόμενα βακτηρίδια ως θεραπεία κατά της οξείας αναιμίας - ενός σοβαρού προβλήματος, που πολλές φορές καλούνται να αντιμετωπίσουν οι ασθενείς οι οποίοι πάσχουν από AIDS ή νεφρική ανεπάρκεια.

ΠΕΔΙΟ ΔΟΞΗΣ ΛΑΜΠΡΟ

Οι αθλητές δεν έχασαν την ευκαιρία να εκμεταλλευτούν αυτό το φάρμακο, μολονότι η πρακτική αυτή είναι απαγορευμένη και

χαρακτηρίζεται ντόπινγκ στα περισσότερα αθλήματα. Στον Ποδηλατικό Γύρο της Γαλλίας το 1998, για παράδειγμα, οι Γάλλοι αξιωματούχοι των αγώνων συνέλαβαν έναν υπάλληλο της ποδηλατικής ομάδας της Festina να μεταφέρει στο αυτοκίνητό του ένα ολόκληρο φορτίο βελτιωτικών φαρμάκων, μεταξύ αυτών και ερυθροποιητίνης.

Το σκάνδαλο αυτό έφερε στην επιφάνεια ένα "βρόμικο" μυστικό: "Το ντόπινγκ είναι αναπόσπαστο μέρος της επιχείρησης της ποδηλασίας", δήλωσε στους δημοσιογράφους ο Ελβετός ποδηλάτης Αλεξ Ζούλε, έπειτα από την ομολογία του ότι χρησιμοποιούσε ερυθροποιητίνη και άλλα απαγορευμένα φαρμακα.

Φυσικά, η ποδηλασία δεν είναι το μοναδικό άθλημα το οποίο έχει "κηλιδωθεί" από κατηγορίες για χρήση ερυθροποιητίνης. Στο Open της Αυστραλίας πέρυσι, ο τενίστας Τζιμ Κούριερ είπε στους δημοσιογράφους ότι υποψιάζεται πως η χρήση ερυθροποιητίνης στον χώρο του τένις είναι εξαιρετικά διαδεδομένη. "Δεν είναι δυνατόν να παίζω 35 εβδομάδες τον χρόνο και ένας Θεός ξέρει πόσα παιχνίδια και να συνεχίζω σαν να μην τρέχει τίποτα. Εγώ, απλώς, δεν μπορώ να το κάνω και δεν νομίζω ότι μπορεί να το κάνει και οποιοσδήποτε άλλος. Και όμως, το κάνουν".

Ο Κούριερ υποστηρίζει ότι η ερυθροποιητίνη καθιστά δυνατή την επίτευξη υπεράνθρωπων επιδόσεων. Οι αθλητές του σκι ανωμάλου δρόμου, του ποδοσφαίρου και του στίβου ψιθυρίζεται ότι χρησιμοποιούν και εκείνοι το φάρμακο αυτό. "Το γεγονός είναι ότι τα εύσημα πηγαίνουν μόνο στους νικητές, και τα φάρμακα αυτά κάνουν καλά τη δουλειά τους", αναφέρει ο Τσαρλς Γεσάλις, επιδημιολόγος του πολιτειακού πανεπιστημίου της Πενσυλβάνια, ο οποίος έχει πάρει συνέντευξη από περισσότερους από 1.000 αθλητές που έχουν ομολογήσει τη χρήση απαγορευμένων ουσιών. Δεδομένου ότι η ερυθροποιητίνη πιστεύεται ότι δίνει στους αθλητές τη δυνατότητα να τρέχουν μέχρι και 20% ταχύτερα, είναι δύσκολο σε πολλούς να αντισταθούν στη γοητεία του εν λόγω φαρμάκου.

ΔΕΥΤΕΡΗ ΕΚΔΟΧΗ

Εάν η γονιδιακή θεραπεία με τη βοήθεια της ερυθροποιητίνης δίνει στους αθλητές αντοχή και σθένος, μία διαφορετική γονιδιακή θεραπεία που βρίσκεται υπό ανάπτυξη μπορεί να τους δώσει και τους ανάλογους μυς. Αυτό, τουλάχιστον, υποστηρίζει ο Τζέφρι Γκόλντσπινκ, βιολόγος στην Ιατρική Σχολή του Βασιλικού Πανεπιστημιακού Κολεγίου στο Λονδίνο. Οι επιστήμονες πιστεύουν ότι η σκληρή άσκηση, που σε αφήνει μουνδιασμένο μέχρι και την επόμενη μέρα, "αναπτύσσει" τους μυς προκαλώντας μικροσκοπικές ζημιές στις μυϊκές ίνες.

Αυτές οι "βλάβες" επιδιορθώνονται, με την ενίσχυση των ινών με επιπλέον πρωτεΐνες, έτσι ώστε οι ίνες να είναι έτοιμες για την επόμενη άσκηση. Μία πρωτεΐνη που φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτή την επανορθωτική διαδικασία είναι ο ινσουλινομορφος αυξητικός παράγοντας 1 (IGF-1), που ενεργοποιείται, όταν ληφθεί κάποιο μηχανικό σήμα, όπως είναι η υπερβολική άσκηση. Ο IGF-1 υπάρχει τουλάχιστον σε 5 διαφορετικές μορφές, των οποίων τα τμήματα είναι συνδεδεμένα με πολλούς διαφορετικούς τρόπους. Όλες αυτές οι μορφές του αυξητικού παράγοντα παράγονται από ένα και μόνο γονίδιο.

Η ερευνητική ομάδα του Γκόλντσπινκ εργάζεται με σκοπό την ανάπτυξη μίας γονιδιακής θεραπείας, στην οποία θα χρησιμοποιείται μία από αυτές τις μορφές του IGF-1, ονόματι μηχανοαυξητικός παράγοντας (MGF), για τη θεραπεία εκφυλιστικών ασθενειών των μυών, όπως είναι η μυοδυστροφία. Δεδομένου ότι ο MGF παράγεται στους μυϊκούς ιστούς και δεν φαίνεται να κυκλοφορεί στο αίμα, ο Γκόλντσπινκ πιστεύει ότι η επιρροή του περιορίζεται στους μυς. Η ομάδα του έχει κάνει πειραματικές δοκιμές της θεραπείας σε ποντίκια, με εντυπωσιακά αποτελέσματα. Οι ερευνητές ενέχυσαν μία μικρή δόση του γονιδίου MG σε ποντίκια, και δύο εβδομάδες αργότερα οι μύες που είχαν δεχτεί την ένεση είχαν μεγαλώσει κατά 20%.

ΑΝΙΣΗ ΜΑΧΗ

Οι συνέπειες, φυσικά, των αποκαλύψεων είναι ευνόητες, ειδικά υπό το πρίσμα του αθλητισμού. Τελικά, μήπως, οι αρχές κινδυνεύουν να χάσουν τη μάχη με τις απαγορευμένες ουσίες στον αθλητισμό; Ο Ντον Κάτλιν, ένας βιοχημικός ο οποίος εργάζεται στο πανεπιστήμιο της Καλιφόρνια στο Λος Άντζελες, στο πλαίσιο ενός ερευνητικού προγράμματος με τη χρήση μεθόδων γονιδιακής θεραπείας στον αθλητισμό, έχει ελάχιστες αμφιβολίες ως προς το ότι οι αθλητές και οι γιατροί τους θα καταφύγουν στο γονιδιακό ντόπινγκ. "Δεν μου αρέσει αυτό που κάνουν - είναι "βρόμικο" - αλλά οφείλω να ομολογήσω ότι είμαι πραγματικά εντυπωσιασμένος με τα αποτελέσματα των ερευνών που διεξάγονται "στην αντίπερα όχθη".

Ο εντοπισμός τέτοιων παρατυπιών δεν θα είναι εύκολος. Το μεγαλύτερο πρόβλημα έγκειται στο γεγονός ότι οι πρωτεΐνες που παράγονται τεχνητά με γονιδιακή θεραπεία δείχνουν ταυτόσημες με εκείνες που παράγει το σώμα με τον φυσιολογικό τρόπο. Ο μόνος τρόπος που οι επιστήμονες θα μπορούσαν να εντοπίσουν κάτι τέτοιο θα ήταν ανιχνεύοντας τα ίχνη του αδενοϊού που χρησιμοποιείται για την έγχυση του γονιδίου μέσα στους μυς. Οι δυσκολίες και πάλι είναι πολύ μεγάλες:

Αν δεν γνωρίζει ο ερευνητής ακριβώς σε ποιο σημείο του σώματος έχει γίνει η ένεση, τότε θα είναι σαν να ψάχνει κάτι μικρότερο και από ένα φύλλο σε έναν γεμάτο αχυρώνα...

4. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΣΤΗΝ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ

Μέχρι πρόσφατα οι διάφοροι αναλυτές θεωρούσαν ότι θα περάσουν πολλά χρόνια προτού η γονιδιακή θεραπεία μπορέσει να έχει κλινικές εφαρμογές. Η πρώτη όμως επιτυχημένη εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας που έγινε το 1990 από τους ερευνητές του NIH (National Institutes of Health) των ΗΠΑ, σε μία τετράχρονη ασθενή με το σύνδρομο της ανεπάρκειας της αδενοσινικής απαμινάσης, άνοιξε τον δρόμο για την αλματώδη πρόοδο που έχει σημειωθεί στον τομέα αυτό.

Στα τελευταία επτά χρόνια δημιουργήθηκαν αρκετές νέες εταιρίες που ασχολούνται αποκλειστικά με την γονιδιακή θεραπεία και μεγάλες φαρμακευτικές εταιρίες αποφάσισαν να επενδύσουν στην έρευνα για την ανάπτυξη συστημάτων γονιδιακής θεραπείας. Το NIH χρηματοδοτεί τον τομέα της γονιδιακής θεραπείας με περίπου 200 εκατομμύρια δολάρια τον χρόνο και υπολογίζεται ότι ανάλογο ποσό επενδύεται και από τις εταιρίες. Περισσότερα από 100 πρωτόκολλα γονιδιακής θεραπείας έχουν εγκριθεί στις ΗΠΑ.

Η έγκριση των πρωτοκόλλων της γονιδιακής θεραπείας στις ΗΠΑ γίνεται από μία ειδική 25-μελή επιτροπή που ονομάζεται Συμβουλευτική Επιτροπή Ανασυνδυασμένου DNA (RAC=Recombinant DNA Advisory Committee) , η οποία αποτελείται από επιστήμονες, ηθικολόγους, νομικούς και άλλους ειδικούς. Η επιτροπή RAC λειτουργεί από το 1988 αλλά υπάρχει περίπτωση να καταργηθεί και να αντικατασταθεί από ένα πιο ευέλικτο σχήμα.

Μία ανάλογη επιτροπή λειτουργεί και στην Αγγλία, η οποία ονομάζεται Συμβουλευτική Επιτροπή Γονιδιακής Θεραπείας (GTAC=Gene Therapy Advisory Committee) , αν και στο μέλλον προβλέπεται να λειτουργήσει μία κεντρική ευρωπαϊκή επιτροπή.

4.1. ΤΟ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝ ΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑΣ

Η ταχύτατη εξέλιξη του τομέα της γονιδιακής θεραπείας φαίνεται και από το παράδειγμα της γενετικής ασθένειας της κυστικής ινώσεως. Το 1989 αναγνωρίστηκε το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για την ασθένεια, το 1992 σημειώθηκε η πρώτη πετυχημένη γονιδιακή θεραπεία σε

ποντικούς και τον ίδιο χρόνο εγκρίθηκαν τρία πρωτόκολλα γονιδιακής θεραπείας σε ανθρώπους (από την ειδική επιτροπή RAC του NIH). Το 1993 εγκρίθηκαν δύο ακόμη δοκιμές που υποστηρίζονται και από δύο βιοτεχνολογικές εταιρίες (την Genetic Therapy Inc και την Genzyme) και καθώς το ενδιαφέρον αυξάνεται, μεγαλώνει και ο ανταγωνισμός με νέες εταιρίες που συμμετέχουν στην έρευνα.

Ένα πρόβλημα που αντιμετωπίζει η εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας σε εμπορική κλίμακα είναι ότι πρέπει να αναπτυχθούν κατά κύριο λόγο "ενδοσωματικές" (in vivo) στρατηγικές, οι οποίες είναι πιο εύχρηστες από τις "εξωσωματικές" στρατηγικές (ex vivo). Ο κύριος στόχος των βιοτεχνολογικών εταιριών είναι να αναπτύξουν "γονίδια σε φιαλίδια" (genes in a bottle) τα οποία θα μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συνηθισμένες κλινικές δοκιμές.

Ορισμένα παραδείγματα έρευνας για την ανάπτυξη της γονιδιακής θεραπείας αναφέρονται παρακάτω:

- ◆ Η εταιρία Chiron Technologies των ΗΠΑ, εξειδικεύεται μέσω της θυγατρικής της Viagene στην ανάπτυξη τεχνολογίας μεταφοράς γονιδίων για την αντιμετώπιση κυρίως του καρκίνου και μολυσματικών ασθενειών. Γονιδιακή θεραπεία με την ιντερλευκίνη-2 βρίσκεται σε κλινικές δοκιμές φάσης II για την αντιμετώπιση του προχωρημένου μεταστατικού καρκίνου.
- ◆ Η εταιρία Genzyme, εκτελεί κλινικές δοκιμές με γονιδιακή θεραπεία μέσω αδενοϊικών φορέων για την ανοσοθεραπεία του μελανώματος. Παράλληλα, η γονιδιακή θεραπεία με μεταφορά του γονιδίου CFTR σε αδενοϊικούς φορείς για την αντιμετώπιση της κυστικής ίνωσης είναι στην αρχική φάση κλινικών δοκιμών. Επίσης, η ίδια εταιρία αναπτύσσει μία γονιδιακή θεραπεία με το γονίδιο του ενζύμου γλυκοσερεβροζιδάση για την αντιμετώπιση της ασθένειας Gaucher.

Η τεχνολογία των αντινοσηματικών αλληλουχιών (anti-sense sequences) έχει επίσης κινήσει το ενδιαφέρον αρκετών βιοτεχνολογικών εταιριών οι οποίες διεξάγουν κλινικές δοκιμές για την εφαρμογή της τεχνολογίας αυτής στην αντιμετώπιση ιών, όπως ο ιός του παпилλώματος και του έρπητα και στην αντιμετώπιση της λευχαιμίας.

4.2. ΤΑ "ΒΙΟΚΥΚΛΩΜΑΤΑ"

Μία νέα επαναστατική μέθοδος που σχετίζεται με την γονιδιακή θεραπεία διότι διευκολύνει την διάγνωση των γονιδιακών ανωμαλιών, έκανε την εμφάνιση της στα τέλη του 1996 και έχει συγκλονίσει τον επιστημονικό κόσμο και την βιοτεχνολογική βιομηχανία για τις εκπληκτικές διαγνωστικές της δυνατότητες.

Πρόκειται για την κατασκευή κατά το πρότυπο των μικροκυκλωμάτων των υπολογιστών (microchips), γονιδιακών μικροκυκλωμάτων τα οποία αποτελούνται από εκατοντάδες χιλιάδες προκατασκευασμένες αλληλουχίες DNA τοποθετημένες σε επιφάνεια λίγων τετραγωνικών εκατοστών.

Τα βιοκυκλώματα αυτά (biochips) περιέχουν μία μεγάλη ποικιλία αλληλουχιών DNA που χρησιμεύουν ως ανιχνευτές οι οποίοι υβριδοποιούνται με φθοριοσημασμένες αλληλουχίες DNA ή RNA από βιολογικά δείγματα. Τα βιοκυκλώματα χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση μεταλλαγών σε γονιδιώματα οργανισμών, για την ταυτοποίηση νουκλεοτιδικών αλληλουχιών, για την χαρτογράφηση γονιδίων ή την ανίχνευση DNA αποτυπωμάτων. Είναι δηλαδή κάτι αντίστοιχο με την ανίχνευση σακχάρου με ταινίες, του οποίου όμως οι εφαρμογές πλησιάζουν τα όρια της επιστημονικής φαντασίας!

Παράδειγμα εφαρμογής των βιοκυκλωμάτων στην ανίχνευση μεταλλαγών σε γονίδια που είναι υπεύθυνα για την δημιουργία καρκίνου είναι η τοποθέτηση περίπου 100.000 20μερών ολιγονουκλεοτιδίων σε ένα DNA κύκλωμα για να υβριδοποιηθούν με φθοριοσημασμένα μόρια RNA από ανθρώπινα κύτταρα. Ανιχνεύονται με αυτόν τον τρόπο οι μεταλλαγές σε ένα συγκεκριμένο γονίδιο. Άλλα παραδείγματα αποτελούν η ανίχνευση ποικιλομορφιών στο γονιδίωμα του ιού HIV-1 με ένα σύστημα που έχει αναπτύξει η εταιρία Attymetrix στις ΗΠΑ και η ανάλυση γονιδιακής έκφρασης σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα.

Η μαζική παραγωγή των βιοκυκλωμάτων θεωρείται ότι θα αποτελέσει την μεγαλύτερη καινοτομία του αιώνα στην διαγνωστική ανθρώπινων ασθενειών και γενετικών προδιαθέσεων.

ΛΕΞΟΛΟΓΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΟΡΩΝ

Αλληλουχία ή ακολουθία ή αλληλοδιαδοχή(sequence): η γραμμική διαδοχή δομικών μονάδων όπως των νουκλεοτιδίων του DNA και των αμινοξέων των πρωτεϊνών.

Αντινοηματική αλυσίδα DNA(anti-sense strand): οι αλληλουχίες της μίας αλυσίδας του δίκλωνου DNA που αποτελούν την μήτρα για την σύνθεση του mRNA και συνεπώς είναι συμπληρωματικές με τις αλληλουχίες του mRNA.

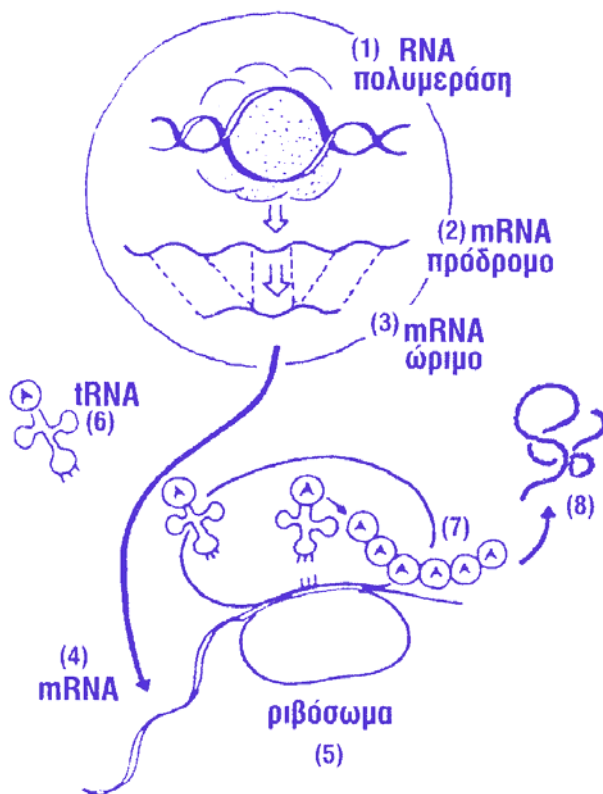
Αντίστροφη μεταγραφάση ή τρανσκριπτάση(reverse transcriptase): ένζυμο το ποίο βρίσκεται στους ρετροϊούς και καταλύει τον σχηματισμό DNA με μήτρα το RNA του ιού. Η αντίστροφη μεταγραφάση χρησιμοποιείται για την κατασκευή συμπληρωματικού DNA(complementary DNA ή cDNA) από μόρια mRNA.

Ανασυνδυασμένο DNA(recombinant DNA): κάθε μόριο DNA το οποίο έχει προκύψει από την σύνδεση τμημάτων DNA που έχουν προέλθει από διαφορετικές πηγές. Τα ανασυνδυασμένα DNA συνήθως παράγονται τεμαχίζοντας μόρια DNA με περιοριστικά ένζυμα και συνδέοντας τα τμήματα από διαφορετικές πηγές μεταξύ τους με την βοήθεια του ενζύμου DNA συνδετάσης.

Βάσεις(bases): τέσσερα απλά αζωτούχα μόρια 12-16 ατόμων με ιδιότητες βάσεων που ανήκουν στην κατηγορία των πουρινών όπως αδερίνη(A) και η γουανίνη(G) και στην κατηγορία των πυριμιδινών όπως η θυμίνη (T), η κυτοσίνη (C) και η ουρακίλη (U). οι βάσεις αποτελούν ουσιαστικό δομικό στοιχείο του DNA και του RNA(το οποίο περιέχει ουρακίλη αντί θυμίνης) και εμφανίζουν την σημαντική για τη δομή και λειτουργία του DNA και του RNA ιδιότητα να αποτελούν ζεύγη συνδεόμενες με δεσμούς υδρογόνου, να είναι δηλαδή ανά δύο συμπληρωματικές η μία προς την άλλη: η αδερίνη (A) προς την θυμίνη (T) ή την ουρακίλη (U) και η γουανίνη(G) προς την κυτοσίνη (C), (δηλαδή A:T, A:U, G:C). Το ζευγάρι των συμπληρωματικών βάσεων κάθε έλικας του DNA συγκρατεί τις δύο έλικες μεταξύ τους και δημιουργεί την χαρακτηριστική διπλή έλικα(double helix ή double strand). Το ζεύγος των βάσεων χαρακτηρίζεται με τα αρχικά bp(base pair) και αποτελεί μονάδα μήκους της αλυσίδας του DNA.

Bp(base pair): ζεύγος συμπληρωματικών βάσεων το οποίο αποτελεί μονάδα μέτρησης μήκους του DNA. Το ανθρώπινο DNA π.χ. έχει μήκος 3×10^9 bp. Πολλαπλάσιο του bp είναι το Kbp που ισούται με 1000 ζεύγη βάσεων.

Γονιδιακή έκφραση(gene expression): η πραγματοποίηση της γενετικής οδηγίας που περιέχει ένα γονίδιο για την σύνθεση συγκεκριμένης πρωτεΐνης.(εικόνα 6.)



Εικόνα 6.

Σχηματική παράσταση της διαδικασίας εκφράσεως ενός γονιδίου για την σύνθεση της πρωτεΐνης την οποία κωδικοποιεί: Εκδίπλωση της διπλής έλικας του DNA και μεταγραφή του γονιδίου με την δράση της RNA πολυμεράσης (1) στο πρόδρομο mRNA (2). Το πρόδρομο mRNA αποβάλλει τις ανενεργές αλληλουχίες (εσώνια) με την διαδικασία της κοπτοραφής (splicing) και μεταβάλλεται σε ώριμο mRNA (3) που περιέχει μόνο αλληλουχίες με γενετικό μήνυμα τα εξώνια (ΕΞ). Το ώριμο mRNA μεταναστεύει στο κυτταρόπλασμα (4) και εγκαθίσταται στα ριβοσώματα (5). Μεταφορά των αμινοξέων (A) από τα tRNA (6) και αναγνώριση της θέσεως τους στην αλυσίδα του mRNA για τον σχηματισμό της αλυσίδας των αμινοξέων της πρωτεΐνης (7). Σχηματισμός της τελικής τριτοταγούς μορφής της πρωτεΐνης (8).

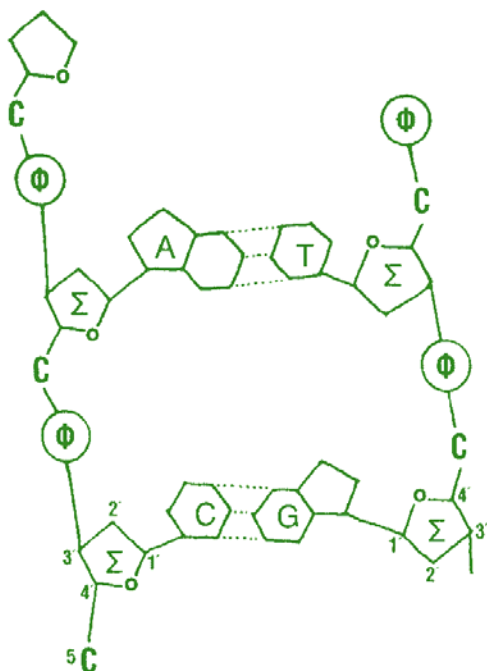
Γονίδιο(gene): το τμήμα του DNA που περιέχει μια οδηγία ή μια πληροφορία η οποία όταν εκφραστεί θα οδηγήσει στην σύνθεση συγκεκριμένης πρωτεΐνης που έχει ειδική λειτουργία (δομικό γονίδιο) ή στην ρύθμιση της λειτουργίας των δομικών των δομικών γονιδίων(ρυθμιστικό γονίδιο). Στο ανθρώπινο γονιδίωμα υπολογίζεται ότι υπάρχουν περίπου 100.000 γονίδια αποτελούμενα από μερικές εκατοντάδες μέχρι και άνω του 1.000.000 ζεύγη βάσεων.

Γονιδίωμα(genome): το σύνολο των γενετικών οδηγιών ή πληροφοριών που περιέχεται στο DNA των κυττάρων ενός οργανισμού. Το ανθρώπινο γονιδίωμα υπολογίζεται ότι αποτελείται από 3 δισεκατομμύρια ζεύγη βάσεων.

Διαγονιδιακά ζώα (transgenic): ζώα στα οποία έχει εισαχθεί στο γονίδιο τους ένα κλωνοποιημένο ξένο DNA, το οποίο κληρονομείται σταθερά στις επόμενες γενιές.

DNA(δεσοξυριβονουκλεϊνικό οξύ): μακρύ πολυμερές που μεταφέρει την γενετική πληροφορία ενός οργανισμού. Τα δομικά υλικά του DNA είναι τέσσερα διαφορετικά νουκλεοτίδια αποτελούμενα από ένα σάκχαρο (δεσοξυριβόζη) και μία αζωτούχα βάση που μπορεί να είναι είτε η αδενίνη (A), είτε η κυτοσίνη (C), είτε η γουανίνη (G), είτε η θυμίνη (T), που συμβολίζονται με τα λατινικά αρχικά τους. Τα

νουκλεοτίδια συνδέονται μεταξύ τους με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Στην φυσική του κατάσταση το DNA βρίσκεται σε μορφή περιελισσόμενης διπλής έλικας (ή αλυσίδας ή κλώνου). Η θέση και η αλληλοδιαδοχή των νουκλεοτιδίων του DNA περιγράφονται με την σειρά των βάσεων που χαρακτηρίζει το κάθε νουκλεοτίδιο (εικόνα 7.).



Σχηματική παράσταση της δομής του DNA: Μία δίκλωνη αλληλουχία DNA, όπου Σ=σάκχαρο, Φ=φωσφοδιεστερικός δεσμός, A=αδενίνη, T=θυμίνη, C=κυτοσίνη, G=γουανίνη

Εικόνα 7.

Εξόνιο (exon): οι αλληλουχίες του DNA στα γονίδια των ευκαριωτικών κυττάρων οι οποίες περιέχουν γενετικά μηνύματα.

Εσόνιο: αλληλουχίες του DNA οι οποίες δεν περιέχουν γενετικό μήνυμα. Τα εσόνια μεταγράφονται στο πρόδρομο mRNA αλλά αφαιρούνται στην συνέχεια με την διαδικασία της κοπτοραφής για να σχηματιστεί το ώριμο mRNA που αποτελείται μόνο από εξόνια.

Ευκαριωτικά : τάξη οργανισμών (φυτά, ζώα, μύκητες, ζυμομύκητες, πρωτόζωα και τα περισσότερα φύκη) των οποίων τα κύτταρα έχουν πυρήνα και οργανίδια.

Kbp(kilobase pair): πολλαπλάσιο του ζεύγους βάσεων όπου ισούται με 1000 ζεύγη βάσεων.

Κλωνοποιημένο DNA(cloned DNA): τμήμα του DNA το οποίο έχει εισαχθεί σε ένα φορέα κλωνοποίησης και έχει αναπαραχθεί σε πολλαπλά αντίτυπα.

Κλωνοποίηση: διαδικασία κατά την οποία μια αλληλουχία DNA απομονώνεται και αναπαράγεται σε πολλά αντίγραφα.

Κλώνος(clone): σύνολο κυττάρων τα οποία προήλθαν από ένα μοναδικό κοινό πρόγονο και είναι γενετικά απολύτως όμοια προς αυτό και μεταξύ τους.

Κυτταροκίνες(cytokines): πρωτεΐνες με μικρό αριθμό αμινοξέων οι οποίες εκκρίνονται από κύτταρα και ασκούν σημαντική αυτοκρινική, παρακρινική και ενδοκρινική δράση (ιντερλευκίνες, ιντερφερόνες).

Μεταγραφή του DNA(transcription): καλείται η διεργασία κατά την οποία οι βάσεις μιας αλληλουχίας νουκλεοτιδίων ενός κλώνου του DNA μεταγράφονται στις συμπληρωματικές τους βάσεις ενός μορίου RNA δημιουργώντας ένα αρνητικό αντίγραφο της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων του DNA που μεταγράφηκε. Το αρνητικό αυτό αντίγραφοRNA είναι πανομοιότυπο με την αλληλουχία του άλλου κλώνου DNA δεδομένου ότι για να είναι συμπληρωματικό με τον κλώνο από τον οποίο μεταγράφηκε πρέπει οι βάσεις του να είναι ίδιες με τις βάσεις του απέναντι κλώνου.

Μεταγωγή (transudation): η μεταφορά γενετικού υλικού από ιούς σε βακτήρια ή ευκαριωτικά κύτταρα.

Μεταλλαγή ή μετάλλαξη (mutation): κάθε σταθερά κληρονομήσιμη αλλαγή στην αλληλουχία DNA ενός χρωμοσώματος.

Μεταλλαξιγόνο: φυσικός ή χημικός παράγοντας που προκαλεί μεταλλάξεις.

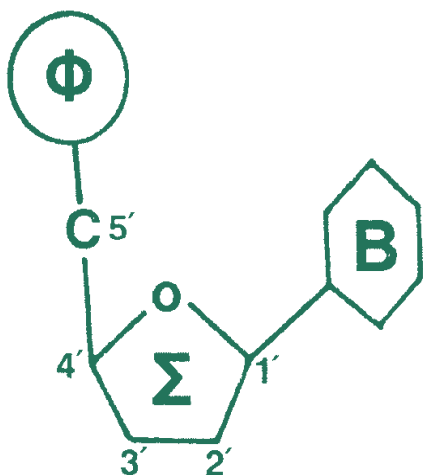
Μετάφραση (translation): η μετατροπή των γενετικών οδηγιών του mRNA σε συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Η μετάφραση γίνεται στα ριβοσώματα όπου το mRNAέχει μεταναστεύσει από τον πυρήνα.

Μεταφορικό mRNA(transfer RNA ή t-RNA): μικρομοριακά (70-80 νουκλεοτίδια)RNA τα οποία είναι φορείς αμινοξέων κατά την πρωτεϊνοσύνθεση. Κάθε t-RNA μεταφέρει ένα αμινοξύ και έχει μια τριάδα (αντικωδικόνιο) με την οποία δεσμεύεται στην συμπληρωματική τριάδα (κωδικόνιο)του mRNA η οποία κωδικοποιεί το αμινοξύ που φέρει.

MRNA(messenger RNA ή αγγελιοφόρο RNA): μονόκλωνο αντίγραφο τμήματος της μίας έλικας DNA το οποίο περιέχει την αλληλουχία ενός γονιδίου. Το mRNA διαφέρει ελαφρώς από το DNA γιατί έχει ως σάκχαρο ριβόζη αντί δεοξυριβόζη και την βάση ουρακίλη αντί της αντί της θυμίνης. Το mRNA στα ευκαριωτικά κύτταρα διακρίνεται σε πρόδρομο RNA που είναι αντίγραφο ενός ολόκληρου γονιδίου και σε ώριμο RNA που έχει μόνο εξώνια δηλαδή τις αλληλουχίες που μεταφράζονται σε πρωτεΐνη.

Νουκλεοτίδιο(nucleotide): δομική μονάδα του DNA ή RNA που αποτελείται περίπου από 40 άτομα. Τα νουκλεοτίδια διακρίνονται σε δεοξυριβονουκλεοτίδια και ριβονουκλεοτίδια. Τα δεοξυριβονουκλεοτίδια δομούν το DNAκαι αποτελούνται από μια δεοξυριβόζη(σάκχαρο) και μία από τις τέσσερις αζωτούχες βάσεις αδενίνη (A), γουανίνη (G), θυμίνη(T),

ή κυτοσίνη (C). τα ριβονουκλεοτίδια δομούν το RNA και αποτελούνται από μια ριβόζη (σάκχαρο) και μια από τις τέσσερις αζωτούχες βάσεις αδενίνη(A), γουανίνη(G), ουρακίλη(U), ή κυτοσίνη(C) (εικόνα 8).



Εικόνα 8.

Σχηματική παράσταση νουκλεοτιδίου: όπου Σ=σάκχαρο (ριβόζη στο RNA και δεοξυριβόζη στο DNA) με 5 άτομα C αριθμημένα από 1' ως 5', Φ=φωσφοδιεστερικός δεσμός και Β=αζωτούχος βάση [αδενίνη (A), γουανίνη (G), θυμίνη (T), ουρακίλη (U) ή κυτοσίνη (C)]

Ογκογονίδια(oncogenes): γονίδια των οποίων τα προϊόντα επάγουν τον σχηματισμό καρκίνων σε ζώα και στον άνθρωπο. Τα περισσότερα ογκογονίδια είναι μεταλλαγμένες μορφές φυσιολογικών γονιδίων (των πρώτο-ογκογονιδίων) τα οποία ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό.

Πλασμίδια(plasmids): μικρά κυκλικά εξωχρωμοσωμικά μόρια DNA ικανά για αυτόνομη αναπαραγωγή σε ένα κύτταρο. Συναντώνται συνήθως στα βακτηρίδια και φέρουν συχνά γονίδια αντίστασης στα αντιβιοτικά. Τα πλασμίδια χρησιμεύουν ως φορείς κλωνοποίησης τμημάτων DNA διότι πολλαπλασιάζονται με τους μηχανισμούς του κυττάρου στο οποίο παρασιτούν.

Πρόδρομο mRNA ή πρωτογενές: είναι το mRNA το οποίο έχει μεταγραφεί από ολόκληρο το ασυνεχές γονίδιο το οποίο περιέχει τα εσώνια και τα εξώνια. Το πρόδρομο mRNA μετατρέπεται με την διαδικασία της κοπτοραφής στο ώριμο ή ενεργό mRNA το οποίο αποτελείται μόνο από τα γενετικά ενεργά εξώνια.

Προκαριωτικά: τάξη οργανισμών που αποτελείται από τα ευβακτήρια και τα αρχαιοβακτήρια, τα οποία δεν έχουν πυρήνα και ορισμένα άλλα οργανίδια στα κύτταρα τους.

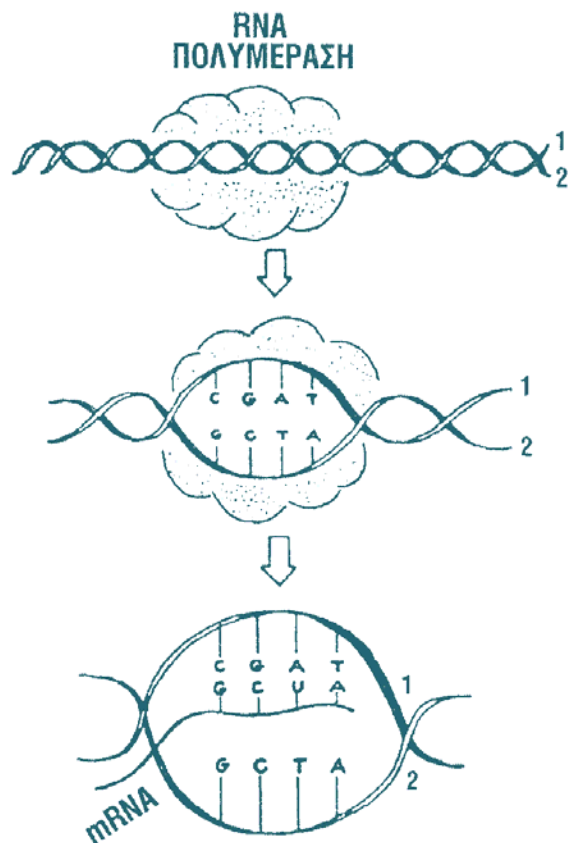
Πρώτο-ογκογονίδια: φυσιολογικά γονίδια τα οποία ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό και που μπορούν να μεταλλαχθούν σε ογκογονίδια δηλαδή που επάγουν τον σχηματισμό καρκίνων.

Ρετροϊοί: κατηγορία ιών που προσβάλλουν ευκαριωτικά κύτταρα και περιέχουν στο γονιδίωμα τους RNA αντί DNA. Το RNA των

ρετροϊών μετατρέπεται σε DNA μόλις το γονιδίωμα των ιών εισέλθει στα κύτταρα με μια διαδικασία που ονομάζεται αντίστροφη μεταγραφή και καταλύεται από το ένζυμο του ιού, αντίστροφη μεταγραφάση.

Ριβόσωμα: οργανίδιο του πρωτοπλάσματος στο οποίο γίνεται η μετάφραση των οδηγιών που φέρει το mRNA για την σύνθεση συγκεκριμένης πρωτεΐνης.

RNA πολυμεράση (RNA polymerase): ένζυμο το οποίο συνδέεται με ένα τμήμα της διπλής έλικας του DNA και το εκδιπλώνει απομακρύνοντας τις δύο έλικες. Στην συνέχεια συνθέτει το mRNA μεταγράφοντας διαδοχικά τις αλληλουχίες του ενός κλώνου του DNA σε συμπληρωματικές αλληλουχίες του mRNA που σχηματίζεται. Η όλη διαδικασία ξεκινάει με την ανεύρεση από την RNA πολυμεράση ειδικής θέσεως στο μόριο του DNA και τερματίζεται όταν η πολυμεράση συναντήσει την τριπλέτα λήξεως (εικόνα 9).



Σχηματική παράσταση της δράσης της RNA πολυμεράσης: Η RNA πολυμεράση δεσμεύεται στην διπλή έλικα του DNA στο σημείο έναρξης μεταγραφής ενός γονιδίου και εκδιπλώνει τις δύο έλικες. Στην συνέχεια η RNA πολυμεράση καταλύει την σύνθεση ενός mRNA μορίου με μήτρα τον ένα κλώνο DNA (1). Το mRNA που σχηματίζεται είναι συμπληρωματικό του κλώνου (1) αλλά πανομοιότυπο με τον κλώνο (2) (εκτός από την ουρακίλη που έχει αντί της θυμίνης).

Εικόνα 9.

RNA(ριβονουκλεϊνικό οξύ): αλληλουχία από ριβονουκλεοτίδια. Τα ριβονουκλεοτίδια αποτελούνται από μία ριβόζη(σάκχαρο)και μια από τις τέσσερις αζωτούχες βάσεις αδενίνη (A), γουανίνη(G), ουρακίλη(U), ή κυτοσίνη(C) και συνδέονται μεταξύ τους με φωσφοδιεστερικούς

δεσμούς. Το RNA διακρίνεται στο αγγελιοφόρο RNA(mRNA), στο μεταφορικό (tRNA) και στο ριβοσωμικό(rRNA).

Σύζευξη(conjugation): η μεταφορά μέσω πλασμιδίου, γενετικού υλικού από δότη σε δέκτη η οποία απαιτεί κυτταρική επαφή.

Συμπληρωματικό DNA(complementary DNA ή c DNA): DNA που έχει σχηματιστεί με την βοήθεια της αντίστροφης μεταγραφάσης από το RNA το οποίο περιέχει τις συμπληρωματικές του αλληλουχίες.

Υποκινητής(promoter): αλληλουχία που βρίσκεται συνήθως σε απόσταση λίγων ζευγών βάσεων από το γονίδιο και η οποία καθορίζει την θέση έναρξης της μεταγραφής από την mRNA πολυμεράση. Οι υποκινητές συχνά ελέγχουν και την ποσότητα του mRNA και ορισμένες φορές καθορίζουν την εξειδίκευση του γονιδίου να εκφραστεί σε ορισμένο ιστό ή κυτταρικό συγκρότημα.

Φορέας κλωνοποίησης (cloning vector): αυτόνομο αναπαραγόμενο γενετικό στοιχείο που χρησιμοποιείται για να μεταφέρει ένα επιλεγμένο τμήμα c DNA στα κύτταρα ενός ξενιστή με σκοπό την κλωνοποίηση ενός γονιδίου. Οι πιο συνηθισμένοι φορείς κλωνοποίησης είναι βακτηριακά πλασμίδια και γονιδιώματα ιών.

Ωριμο ή ενεργές mRNA: mRNAαποτελούμενο μόνο από γενετικά ενεργείς αλληλουχίες (εξώνια). Το ώριμο mRNA έχει προέλθει από το πρόδρομο mRNA μετά από την αφαίρεση των εσωνίων με την διαδικασία της κοτποραφής.

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Για την διεκπεραίωση του ερευνητικού μέρους μοιράστηκαν ερωτηματολόγια με ερωτήσεις που περιλάμβαναν απαντήσεις επιλογής και σύντομες ελεύθερες απαντήσεις.

Τα ερωτηματολόγια μοιράστηκαν στα εξής νοσοκομεία :

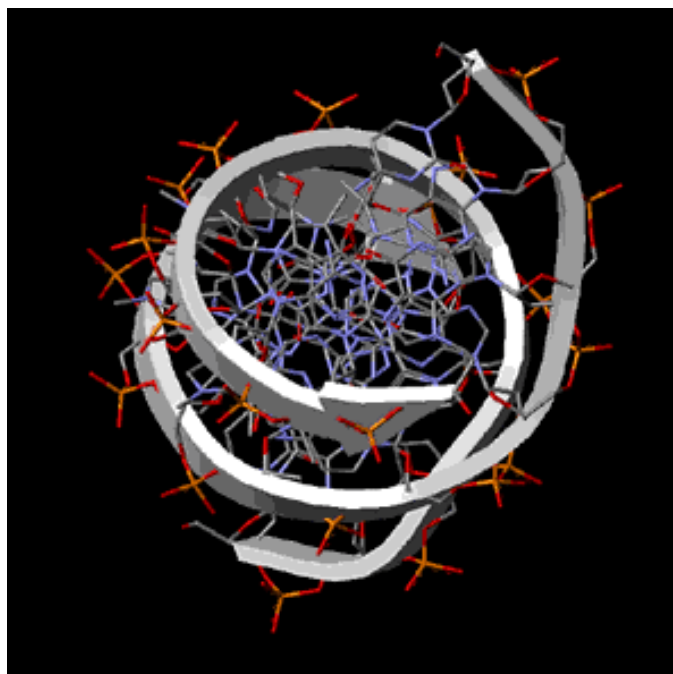
- ◆ Στο Σισμανόγλειο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών και
- ◆ Στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου

και απευθυνόταν σε νοσηλευτές τριτοβάθμιας εκπαίδευσης.

Από τον αριθμό των ερωτηματολογίων που μοιράστηκαν προέκυψε ένα δείγμα ατόμων το οποίο ανέρχεται σε 153 νοσηλευτές.

Το δείγμα αποτελούνταν από άνδρες και γυναίκες, από 25 έως 39 ετών.

Ακολουθεί το ερωτηματολόγιο καθώς επίσης και τα αποτελέσματα σε μορφή πινάκων και γραφημάτων.



Ερωτηματολόγιο

Γενικά Στοιχεία

Νοσηλευτικού Προσωπικού Τριτοβάθμιας Εκπαίδευσης

1. Φύλο
2. Ηλικία
3. Πιστεύετε ότι είστε ενημερωμένος(η) για τη γονιδιακή θεραπεία (μέθοδος που εφαρμόζεται κλπ.)

- Καθόλου
- Λίγο-ελάχιστα
- Αρκετά
- Πάρα πολύ

4. Αν γνωρίζετε για την γονιδιακή θεραπεία ποια ήταν η πηγή της ενημέρωσης σας;

- ΜΜΕ
- Συνέδρια
- Διαδίκτυο
- Άλλη

5. Γνωρίζετε σε ποιες ασθένειες εφαρμόζεται η γονιδιακή θεραπεία;

- _____
- _____
- _____
- _____

6. Τι νομίζετε ότι θα αλλάξει στην κλασική θεραπεία των ασθενών με την γονιδιακή θεραπεία; (ελεύθερη απάντηση)

- _____
- _____
- _____
- _____
- _____

7. Νομίζετε ότι θα είναι η γονιδιακή θεραπεία:

- Πιο φθηνή
- Πιο ακριβή
- Πανάκριβη για τους ολίγους και μόνο

8. Νομίζετε ότι θα είναι προσιτή σε όλα τα Ασφαλιστικά ταμεία;

- Ναι
- Όχι

9. Πιστεύετε ότι θα είναι αναγκαίο να μετεκπαιδευτείτε στις νέες μεθόδους θεραπείας;

- Ναι
 - Όχι
- Και γιατί;

10. Με πιο τρόπο νομίζετε ότι θα μπορούσαν να βοηθήσουν οι νοσηλευτές στην έρευνα για την γονιδιακή θεραπεία; (σύντομη ελεύθερη απάντηση)

11. Θα το θεωρούσατε πρόκληση να συμμετέχετε σε μια ερευνητική ομάδα;

- Ναι
 - Όχι
- Γιατί;

12. Πότε πιστεύετε ότι θα άλλαζαν κάποια παραδοσιακά φάρμακα βάση της γονιδιακής θεραπείας;

- 5 χρόνια
- 10 χρόνια
- 15 χρόνια
- νωρίτερα

13. Πόσα χρόνια ελπίζετε ότι θα ζει ο μέσος άνθρωπος και με την γονιδιακή θεραπεία;

- 80 χρόνια
- 90 χρόνια
- 100 χρόνια

14. Θεωρείτε ότι η εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας θα είναι ελπιδοφόρα για ασθενείς με ανίατες ασθένειες;

- Ναι
 - Όχι
- Και γιατί;

15. Πιστεύετε ότι εκτός της θεραπείας θα συμβάλει και στην πρόληψη ασθενειών;

- Ναι
 - Όχι
- Και γιατί;

16. Πιστεύετε ότι η γονιδιακή θεραπεία θα μπορέσει να εφαρμοστεί και σε μη γενετικές ασθένειες (υπέρταση, καρδιοπάθειες, νεανικός διαβήτης, Αλτσχάιμερ)

- Ναι
- Όχι

17. Πιστεύετε ότι η γονιδιακή θεραπεία παρεμβαίνει στη φύση;

Ναι

Όχι

Γιατί;

18. Νομίζετε ότι θα γίνει δεκτό από τους ασθενείς;

Ναι

Όχι

19. Η μέθοδος έρευνας για την εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας πιστεύετε ότι είναι θεμιτή και ηθική;

Ναι

Όχι

γιατί;

Δεν γνωρίζω

20. Πιστεύετε ότι θα προκύψουν ηθικά διλήμματα;

Ναι

Όχι

21. Πιστεύεται ότι οι γενετιστές είναι οι επιστήμονες του αύριο;

Ναι

Όχι

22. Νομίζετε ότι στην Ελλάδα χρηματοδοτείται η έρευνα γύρω από την γονιδιακή θεραπεία;

Ναι

Όχι

Δεν γνωρίζω

23. Πιστεύετε ότι υπάρχουν οι κατάλληλες προϋποθέσεις (εγκαταστάσεις και μέσα) για την ανάπτυξη της έρευνας στην Ελλάδα;

- Ναι
- Όχι
- Δεν γνωρίζω

24. Ποια πιστεύετε ότι θα ήταν πιο σημαντική πηγή χρηματοδότησης για την ανάπτυξη της έρευνας στην Ελλάδα;

- Κρατική επιχορήγηση
- Ευρωπαϊκή Ένωση
- Φαρμακευτικές εταιρίες
- Ιδιωτική πρωτοβουλία
- Προσωπική πρωτοβουλία

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟΥ

Γενικά στοιχεία

Νοσηλευτικού προσωπικού τριτοβάθμιας εκπαίδευσης

1. ΦΥΛΟ

ΑΡΡΕΝ	55
ΘΗΛΥ	98
ΣΥΝΟΛΟ	153

2. ΗΛΙΚΙΑ

ΑΠΟ 25 ΕΩΣ 39 ετών

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

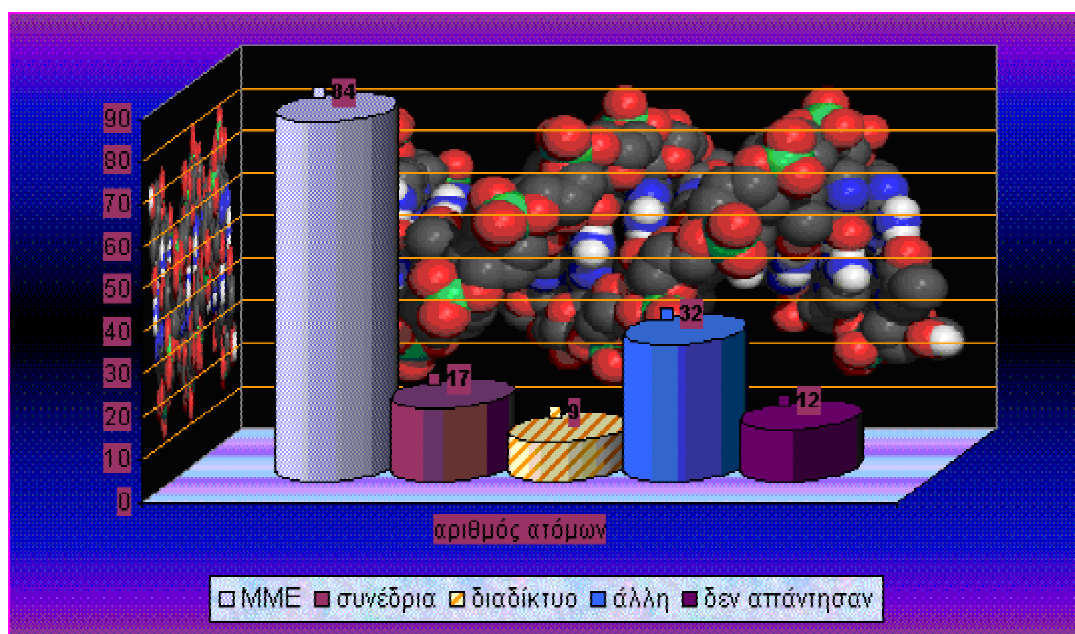
3. Πιστεύετε ότι είστε ενημερωμένος(η) για τη γονιδιακή θεραπεία; (μέθοδος, που εφαρμόζεται κλπ)

	αριθμός ατόμων	ποσοστό %
καθόλου	38	25%
λίγο-ελάχιστα	104	68%
αρκετά	11	8%
πάρα πολύ	0	0%



4. Αν γνωρίζετε για τη γονιδιακή θεραπεία, ποιά ήταν η πηγή της ενημέρωσής σας;

	αριθμός ατόμων	πόσοστό %
MME	84	55%
συνέδρια	17	11%
διαδίκτυο	9	6%
άλλη	32	21%
δεν απάντησαν	12	8%



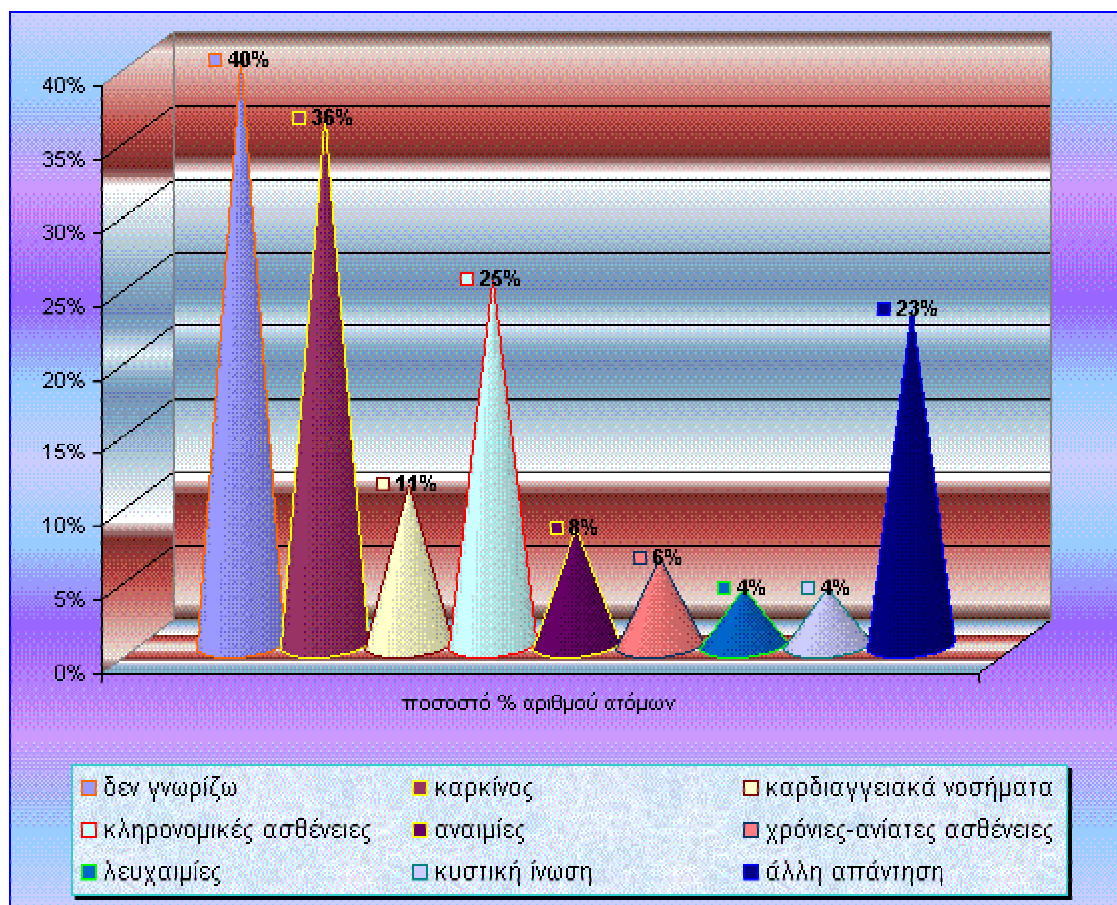
5. Γνωρίζετε σε ποιες ασθένειες εφαρμόζεται η γονιδιακή θεραπεία;

Ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό που ανέρχεται στο 40% δήλωσε ότι δεν γνωρίζει σε ποιες ασθένειες εφαρμόζεται η γονιδιακή θεραπεία. Κατά τα άλλα η ποικιλία των απαντήσεων που δόθηκαν ήταν αξιοσημείωτη με προεξάρχουσα τις Νεοπλασίες-Καρκίνους και τις Κληρονομικές ασθένειες με ποσοστά 36% και 25% αντίστοιχα.

Το 11% των ερωτηθέντων δήλωσε ότι η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόζεται σε καρδιαγγειακά νοσήματα, το 8% σε αναιμίες (συγκεκριμένα Β μεσογειακή αναιμία και αναιμία Fanconi), ενώ ακολούθως το 6% δήλωσε σε χρόνιες και ανίατες ασθένειες(εκτός καρκίνου).

Οι λευχαιμίες και η κυστική ίνωση απαντήθηκαν σε ποσοστό 4%, ενώ με ποσοστό 2% απαντήθηκαν τα: σύνδρομο Down, AIDS, GVHD, Parkinson, ελλείψεις ενζύμων, σαχαρώδης διαβήτης, μυική δυστροφία, νεφροπάθειες, αιμορροφιλία, μεταβολικά νοσήματα, ανεπάρκειες ανοσοποιητικού.

	ποσοστό % αριθμού ατόμων
δεν γνωρίζω	40%
καρκίνος	36%
καρδιαγγειακά νοσήματα	11%
κληρονομικές ασθένειες	25%
αναιμίες	8%
χρόνιες-ανίατες ασθένειες	6%
λευχαιμίες	4%
κυστική ίνωση	4%
άλλη απάντηση	23%



6. Τι νομίζετε ότι θα αλλάξει στην κλασική θεραπεία των ασθενών με τη γονιδιακή θεραπεία;

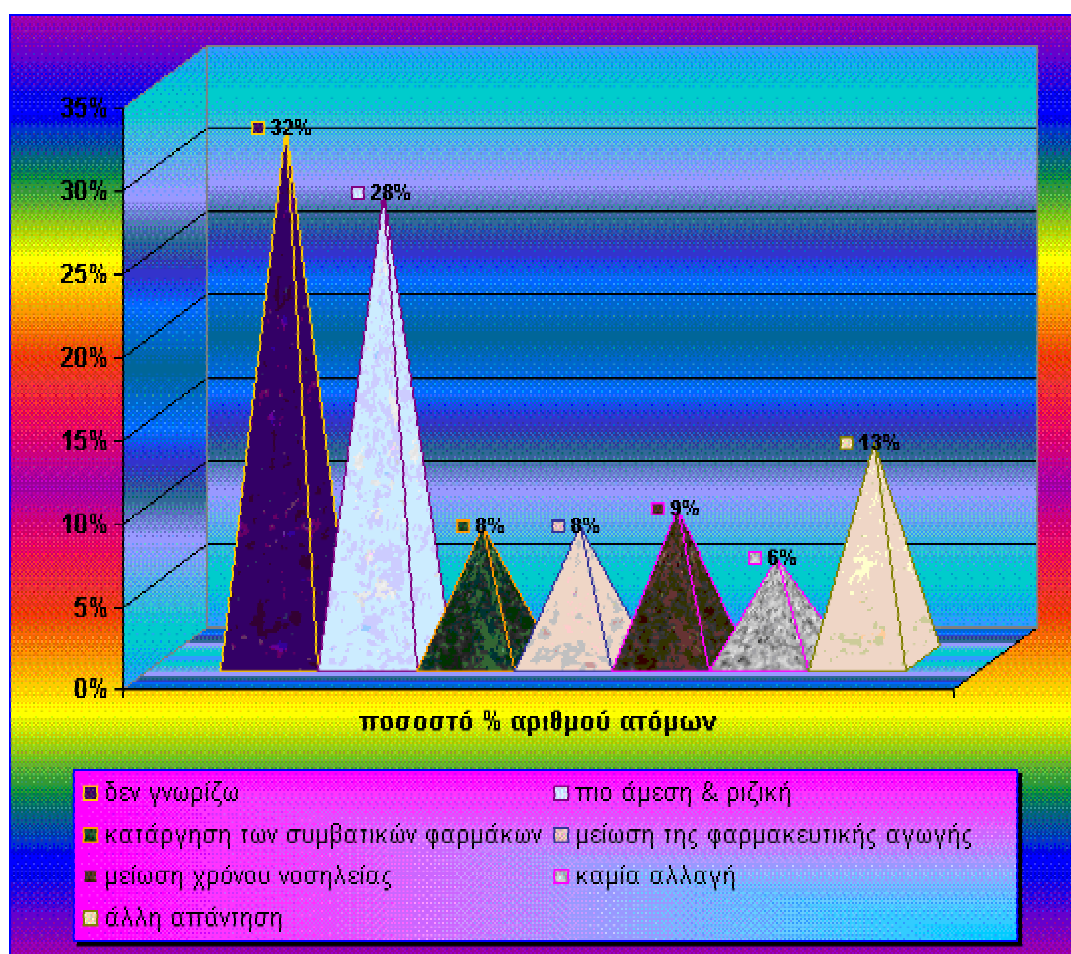
Σε αυτή την ερώτηση, το ποσοστό των ερωτηθέντων που δεν απάντησαν ή απάντησαν ότι δεν γνωρίζουν έφτασε το 32%. Ένα ποσοστό 28% έκρινε ότι η γονιδιακή θεραπεία σε σύγκριση με την κλασική θα διαθέτει ένα χαρακτήρα πιο άμεσο, εντοπισμένο και συγκεκριμένο ενώ έμφαση δόθηκε και στην δυνατότητα ριζικής αντιμετώπισης των παθήσεων με τη χρήση της πρώτης. 8% θεώρησε ότι η είσοδος της γονιδιακής θεραπείας στις ως τώρα θεραπευτικές μεθόδους θα επιφέρει κατάργηση των συμβατικών φαρμάκων.

Επίσης 8% του δείγματος απάντησε πως αναμένει μείωση της φαρμακευτικής αγωγής, ενώ ένα εξίσου μεγάλο ποσοστό πιστεύει πως θα μειωθεί ο χρόνος νοσηλείας(9%).

Υπήρξε και πληθώρα άλλων απαντήσεων που κατέλαβαν μικρότερα ποσοστά όπως: η μείωση αναγκών για χειρουργικές επεμβάσεις, η μείωση της ψυχικής και σωματικής ταλαιπωρίας του ασθενούς, η μείωση του χρόνιου πόνου, η αλλαγή των θεραπευτικών σχημάτων και οι τρόποι νοσηλευτικής προσέγγισης των ασθενών, η εξατομίκευση της θεραπείας και τέλος η καλύτερη συμμόρφωση των ασθενών.

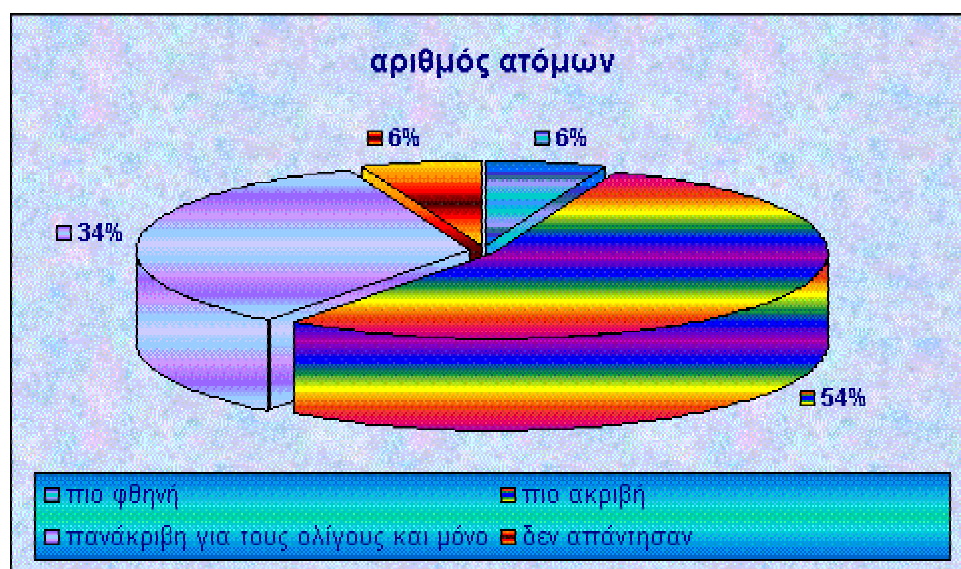
Αξίζει να σημειωθεί ότι ένα ποσοστό 6% απάντησε ότι η γονιδιακή θεραπεία δεν πρόκειται να επιφέρει καμία αλλαγή στην ως τώρα εφαρμοζόμενη κλασική θεραπεία.

	ποσοστό % αριθμού ατόμων
δεν γνωρίζω	32%
πιο άμεση & ριζική	28%
κατάργηση των συμβατικών φαρμάκων	8%
μείωση της φαρμακευτικής αγωγής	8%
μείωση χρόνου νοσηλείας	9%
καμία αλλαγή	6%
άλλη απάντηση	13%



7. Νομίζετε ότι θα είναι η γονιδιακή θεραπεία πιο φθηνή, πιο ακριβή ή πανάκριβη για τους ολίγους;

	αριθμός ατόμων
πιο φθηνή	9
πιο ακριβή	84
πανάκριβη για τους ολίγους και μόνο	52
δεν απάντησαν	9



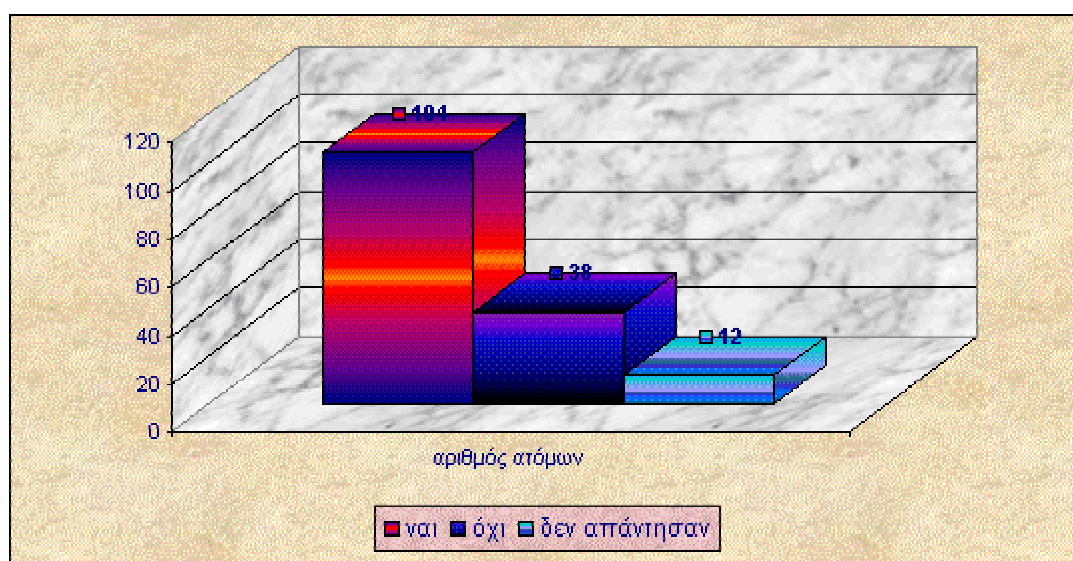
8. Νομίζετε ότι θα είναι προσιτή σε όλα τα ασφαλιστικά ταμεία;

	αριθμός ατόμων
ναι	35
όχι	113
δεν απάντησαν	6



9. Πιστεύετε ότι θα είναι αναγκαίο να μετεκπαιδευτείτε στις νέες μεθόδους θεραπείας;

	αριθμός ατόμων	ποσοστό %
ναι	104	68%
όχι	38	25%
δεν απάντησαν	12	8%



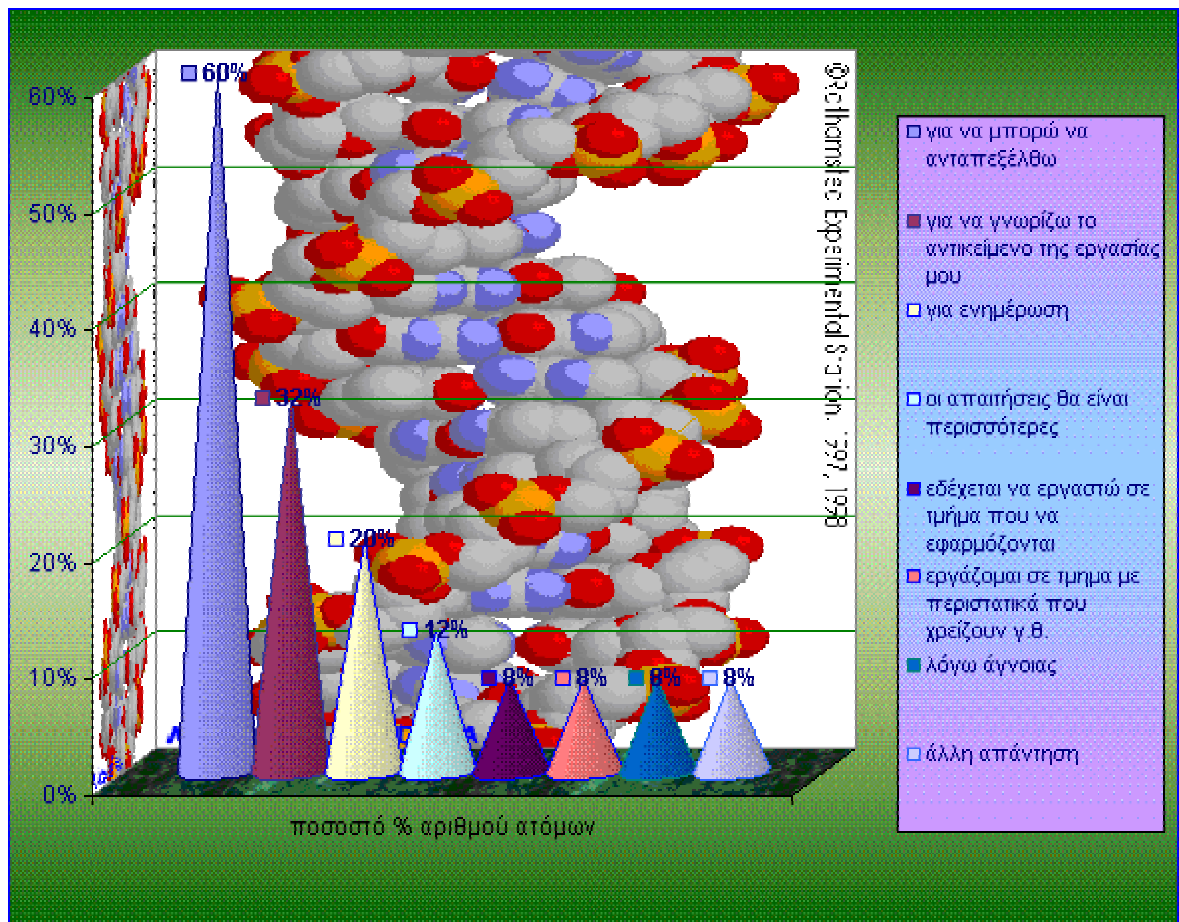
και γιατί;

Το ποσοστό των ερωτηθέντων που δεν απάντησαν ή απάντησαν ότι δεν γνωρίζουν στο δεύτερο σκέλος της ερώτησης έφτασε το 53% ενώ το 8% δεν ασχολήθηκε καθόλου με την ερώτηση. Από αυτούς που απάντησαν θετικά στην ερώτηση (68%), το 60% προέβαλε σαν δικαιολόγηση την ανάγκη να ανταπεξέλθουν στην εξέλιξη της νοσοκομειακής φροντίδας με περαιτέρω εξιδείκευση και εκσυγχρονισμό. Ακολούθως ποσοστό 32% απάντησε ότι η μετεκπαίδευση θα είναι αναγκαία διότι ως ενεργό νοσηλευτικό προσωπικό θα πρέπει να γνωρίζουν άριστα το αντικείμενο της εργασίας τους, ενώ 20% θεωρούν την ανάγκη για ενημέρωση ως κύριο λόγο μετεκπαίδευσης. Ποσοστό 12% προέβαλε ως επιχείρημα το ότι οι απαιτήσεις θα είναι περισσότερες ενώ 8% το ότι εδέχεται να εργαστούν σε κάποιο τμήμα που να εφαρμόζεται η γονιδιακή θεραπεία. Αναγκαία έκριναν τη μετεκπαίδευση 8% των ερωτηθέντων διότι ήδη εργάζονται σε τμήμα όπου νοσηλεύονται περιστατικά με νόσους που χρειάζονται γονιδιακής θεραπείας και εξίσου 8% επειδή θεωρούν ότι έχουν άγνοια επι του θέματος. Υπήρξαν και άλλες απόψεις οι οποίες κυρίως έδιναν βάση στο ότι η γονιδιακή θεραπεία είναι κάτι καινούριο και άγνωστο έως σήμερα, ένα επαναστατικό επίτευγμα της βιοιατρικής έρευνας που θα διατελέσει πρωταγωνιστικό ρόλο στην ιατρική και στο οποίο κρίνεται αναγκαία η ενεργή συμμετοχή ιδιαίτερα αν συνυπολογιστεί και η αύξηση στη χρήση του με την πάροδο του χρόνου.

Υπήρξαν και αυτοί που θεώρησαν ότι μια μετεκπαίδευση πάνω στην γονιδιακή θεραπεία δε θα τους

ήταν αναγκαία (25%) είτε διότι η τελειοποίηση των θεραπευτικών μεθόδων θα αργήσει πολύ είτε διότι δεν θα γίνεται εφαρμογή τους σε όλα τα νοσοκομεία.

	ποσοστό % αριθμού ατόμων
για να μπορώ να ανταπεξέλθω	
για να γνωρίζω το αντικείμενο της εργασίας μου	
για ενημέρωση	
οι απαιτήσεις θα είναι περισσότερες	
εδέχεται να εργαστώ σε τμήμα που να εφαρμόζονται	
εργάζομαι σε τμήμα με περιστατικά που χρειάζονται γ.θ.	
λόγω άγνοιας	
άλλη απάντηση	



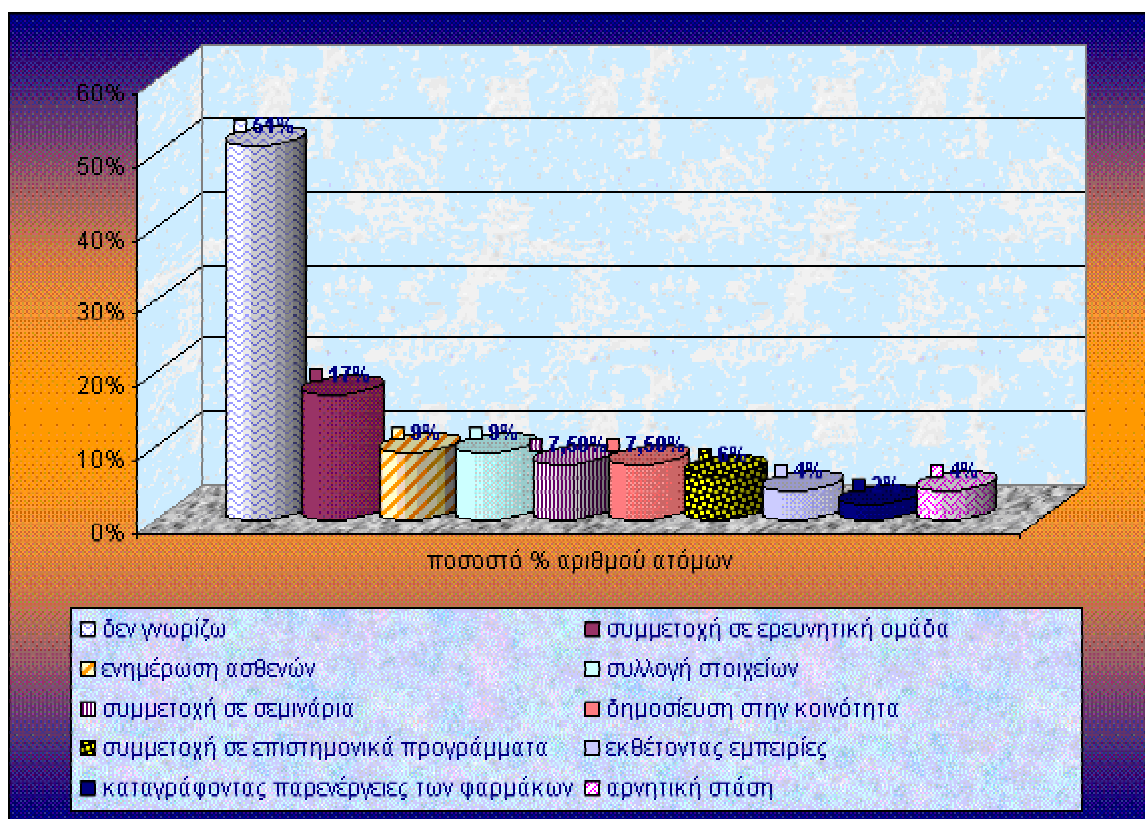
10. Με ποιο τρόπο νομίζετε ότι θα μπορούσαν να βοηθήσουν οι νοσηλευτές στην έρευνα για τη γονιδιακή θεραπεία; (σύντομη ελεύθερη απάντηση)

Όσον αφορά τους τρόπους με τους οποίους το νοσηλευτικό προσωπικό μπορεί να βοηθήσει στη γονιδιακή

έρευνα, η πλειοψηφία (51%) δεν απάντησαν ή απάντησαν ότι δεν γνωρίζουν. Το 17% πρότεινε τη συμμετοχή τους σε κάποια ερευνητική ομάδα ενώ το 9% θεώρησε ότι θα μπορούσε να βοηθήσει εκτελώντας το έργο της ενημέρωσης των ασθενών όσον αφορά τις νέες τεχνικές και μεθόδους θεραπείας. Εξίσου 9%

πρότεινε ως πιθανή συνεισφορά τη συλλογή στοιχείων για πρωτόκολλα (ιστορικό), την καταγραφή ασθενών και δεδομένων και γενικότερα τη βοήθεια στη στατιστική μελέτη. Η συμμετοχή σε σεμινάρια που έχουν σχέση με την έρευνα που αφορά τη γονιδιακή θεραπεία προτάθηκε σε ποσοστό 7,5% όπως ακριβώς και η άποψη για περαιτέρω ενημέρωση και δημοσίευση του θέματος στην κοινότητα. Από ποσοστά 6% και 4% αντίστοιχα κατέλαβαν οι προτάσεις για συμμετοχή σε πρωτοποριακά επιστημονικά/ ερευνητικά προγράμματα στον Ελλαδικό χώρο και όχι μόνο και για έκθεση εμπειριών που συλλέγει το νοσηλευτικό προσωπικό από την επαφή του με τους ασθενείς. Εξίσου 4% υιοθέτησε αρνητική στάση θεωρώντας ότι προς το παρόν δεν φαίνεται να υπάρχει χώρος για τη βοήθεια των νοσηλευτών, ενώ μόλις 2% έκρινε ότι η άποψή τους πάνω στη δράση των φαρμάκων στους ασθενείς ίσως να συνεισφέρει.

	ποσοστό % αριθμού ατόμων
δεν γνωρίζω	
συμμετοχή σε ερευνητική ομάδα	
ενημέρωση ασθενών	
συλλογή στοιχείων	
συμμετοχή σε σεμινάρια	
δημοσίευση στην κοινότητα	
συμμετοχή σε επιστημονικά προγράμματα	
εκθέτοντας εμπειρίες	
καταγράφοντας παρενέργειες των φαρμάκων	
αρνητική στάση	



11. Θα το θεωρούσατε πρόκληση να συμμετέχετε σε μια ερευνητική ομάδα;

	α
ναι	
όχι	
δεν απάντησαν	



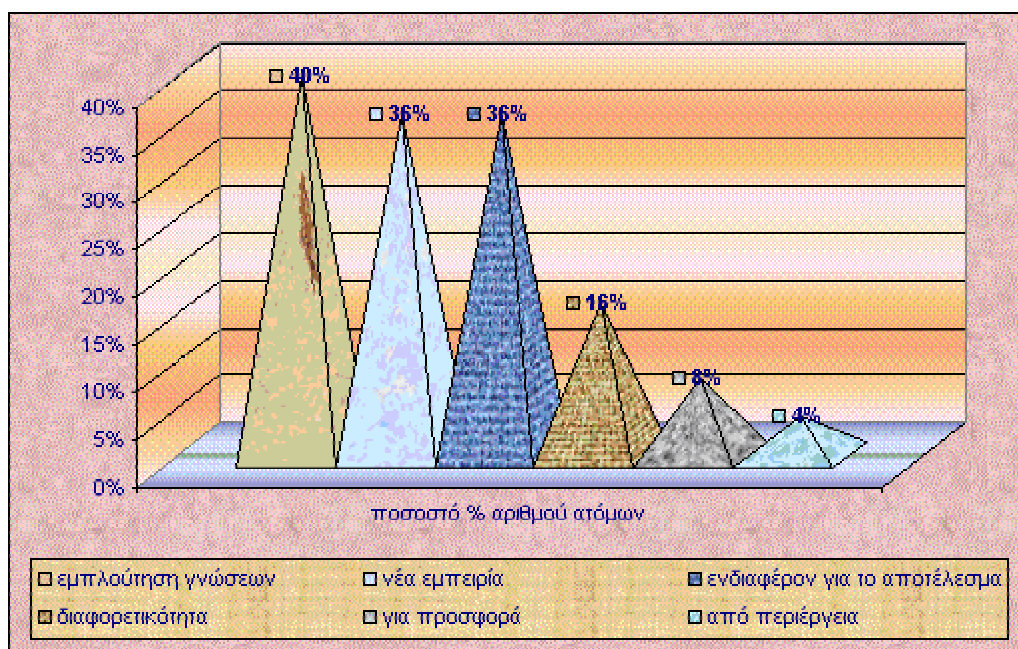
και γιατί;

Το 9% δεν έδωσε καμία απάντηση στην ερώτηση 11 ενώ το 53% δεν ασχολήθηκε με το σκέλος της δικαιολόγησης της απάντησης.

Από τους ερωτηθέντες που θεωρούν πρόκληση την συμμετοχή του σε κάποια ερευνητική ομάδα (62%), το 40% προέβλεπε σαν επιχείρημα πρώτα απ' όλα την εμπλοκή των προσωπικών τους γνώσεων ενώ το 36% το ότι θα αποτελέσει μια νέα εμπειρία με αντικείμενο πρωτόγνωρο και ως εκ τούτου πρόκληση. Εξίσου 36% δήλωσε ότι θα ενδιαφερόταν για το αποτέλεσμα της έρευνας ωστόσο 16% απάντησε ότι η συμμετοχή σε μία ερευνητική ομάδα θα αποτελούσε κάτι διαφορετικό, μια πρόκληση που θα τους έβγαζε απ τη ρουτίνα της κλινικής. Ένα ποσοστό 8% θα συμμετείχαν γιατί θέλουν να προσφέρουν ενώ υπήρξαν κι αυτοί που θα έπαιρναν μέρος από περιέργεια.

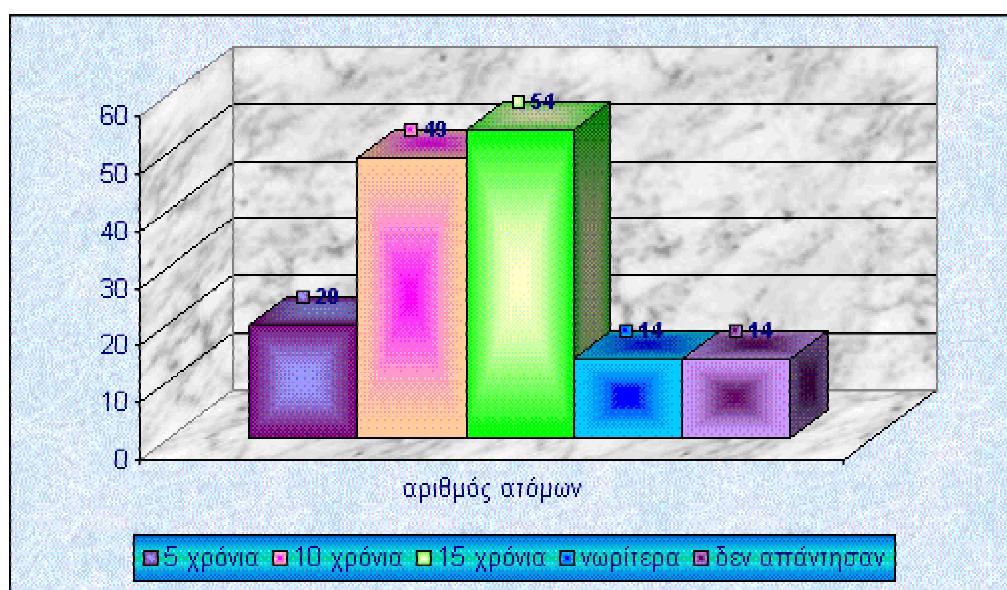
Από τους ερωτηθέντες τώρα που απάντησαν ότι δε θεωρούν τη συμμετοχή τους σε ερευνητική ομάδα πρόκληση (28%) δόθηκαν απαντήσεις όπως: "δεν με ενδιαφέρει το θέμα", "δεν με αφορά" και "δεν γνωρίζω το θέμα ακριβώς".

	ποσοστό % αριθμού ατόμων
εμπλοκή γνώσεων	
νέα εμπειρία	
ενδιαφέρον για το αποτέλεσμα	
διαφορετικότητα	
για προσφορά	
από περιέργεια	



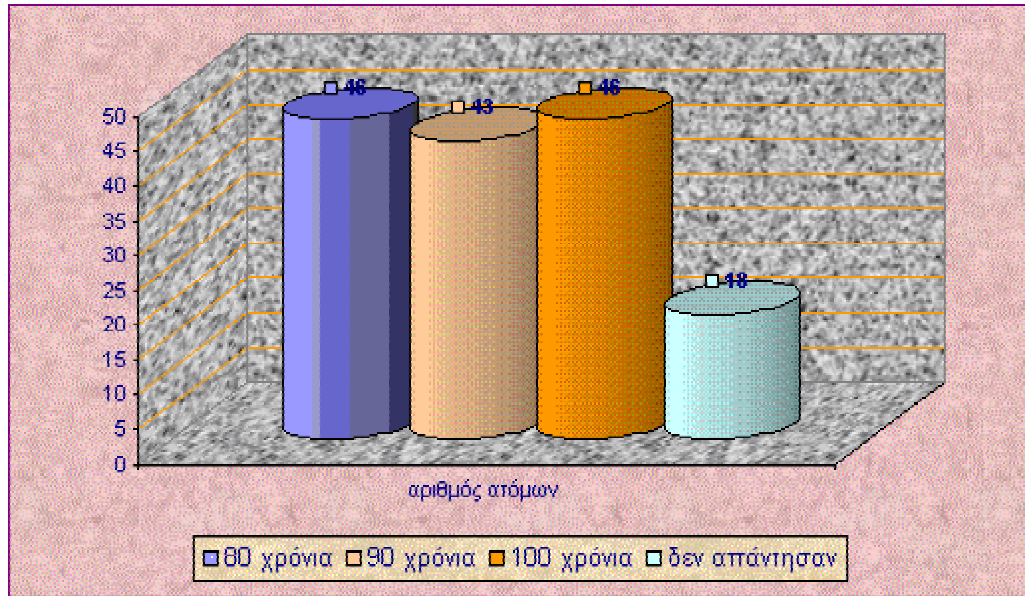
12. Πότε πιστεύετε ότι θα άλλαζαν κάποια παραδοσιακά φάρμακα βάση της γονιδιακής θεραπείας;

	αριθμός ατόμων	ποσοστό %
5 χρόνια	20	13%
10 χρόνια	49	32%
15 χρόνια	54	36%
νωρίτερα	14	9%
δεν απάντησαν	14	9%



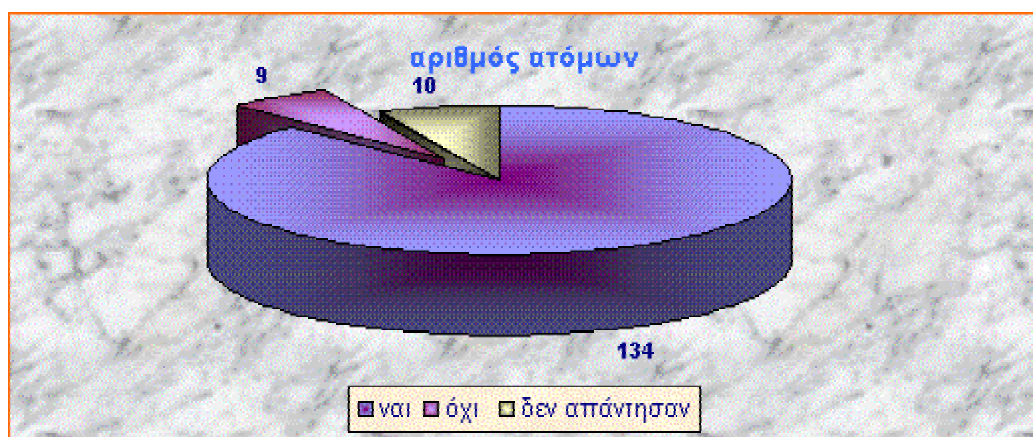
13. Πόσα χρόνια ελπίζετε ότι θα ζεί ο μέσος άνθρωπος με τη γονιδιακή θεραπεία;

	αριθμός ατόμων
80 χρόνια	
90 χρόνια	
100 χρόνια	
δεν απάντησαν	



14. Θεωρείτε ότι η εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας θα είναι ελπιδοφόρα για ασθενείς με ανίατες ασθένειες;

	αριθμός ατόμων
ναι	
όχι	
δεν απάντησαν	

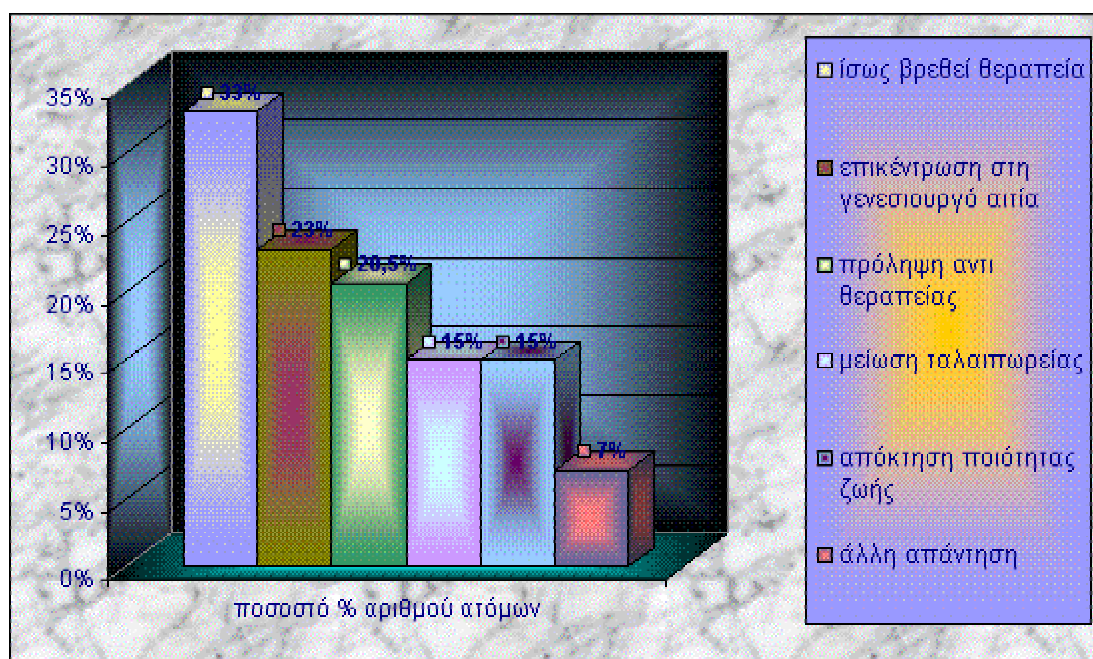


και γιατί;

Στην ερώτηση αυτή ποσοστό 6,7% των ερωτηθέντων δεν απάντησαν καθόλου ενώ 26% δεν ασχολήθηκαν με το σκέλος της δικαιολόγησης της απάντησης. Απ αυτούς που πιστεύουν ότι η εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας θα είναι ελπιδοφόρα για ασθενείς που πάσχουν από ανίατες ασθένειες(87,5%), η πλειοψηφία (33%) προέβαλε επιχείρημα την πιθανότητα να βρεθεί θεραπεία για κάποιες απ αυτές. Αναφέρεται επίσης και στην πιθανή αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης. Το 23% θεωρεί ότι η γονιδιακή θεραπεία θα διορθώνει τα ελαττωματικά γονίδια δηλαδή θα επικεντρώνεται στην γενεσιουργό αιτία και όχι στα συμπτώματα ενώ 20,5% θεωρεί ελπιδοφόρα την εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας διότι ανίκαρες νόσοι θα εντοπίζονται σε προγεννητικό στάδιο οπότε είναι πιθανό αυτές να προλαμβάνονται αντί να θεραπεύονται. Ένα ποσοστό 15% απάντησε ότι με τη γονιδιακή θεραπεία οι ασθενείς θα θεραπεύονται άμεσα χωρίς να ταλαιπωρούνται (παραμονή στο νοσοκομείο, παρενέργειες φαρμάκων κ.α.) ενώ εξίσου 15% θεωρεί ότι θα αποκτήσουν ποιότητα ζωής και αυτοί οι ασθενείς με ανίατες ασθένειες. Μόλις 7% δικαιολόγησε την άποψη του αναφέροντας ότι πολλές ανίατες ασθένειες έχουν γονιδιακή βάση οπότε σε αυτές και θα στοχεύει η γονιδιακή θεραπεία.

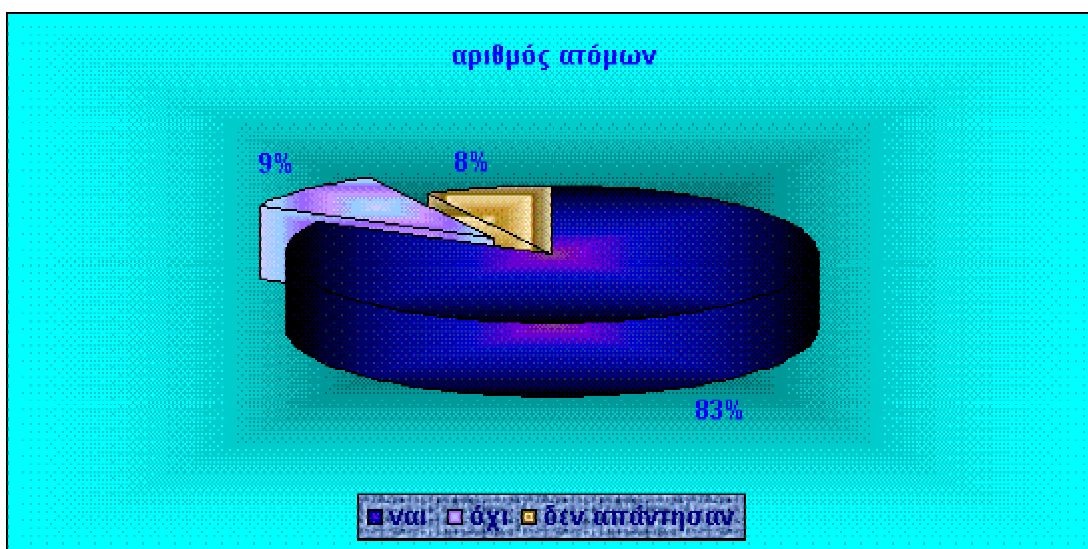
Απαισιόδοξοι όσον αφορά τη βοήθεια που μπορεί να δώσει η εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας σε ασθενείς με ανίατες νόσους ήταν μόλις το 5,8% και οι περισσότεροι από αυτούς αντιμετώπισαν το θέμα από οικονομικής πλευράς θεωρώντας ότι η γονιδιακή θεραπεία θα είναι απρόσιτη οικονομικά για την πλειοψηφία των ασθενών αυτών.

	ποσοστό % αριθμού ατόμων
ίσως βρεθεί θεραπεία	33%
επικέντρωση στη γενεσιουργό αιτία	23%
πρόληψη αντι θεραπείας	20,5%
μείωση ταλαιπωρείας	15%
απόκτηση ποιότητας ζωής	15%
άλλη απάντηση	7%



15. Πιστεύετε ότι εκτός της θεραπείας θα συμβάλει και στην πρόληψη ασθενειών;

	αριθμός ατόμων
ναι	127
όχι	14
δεν απάντησαν	12



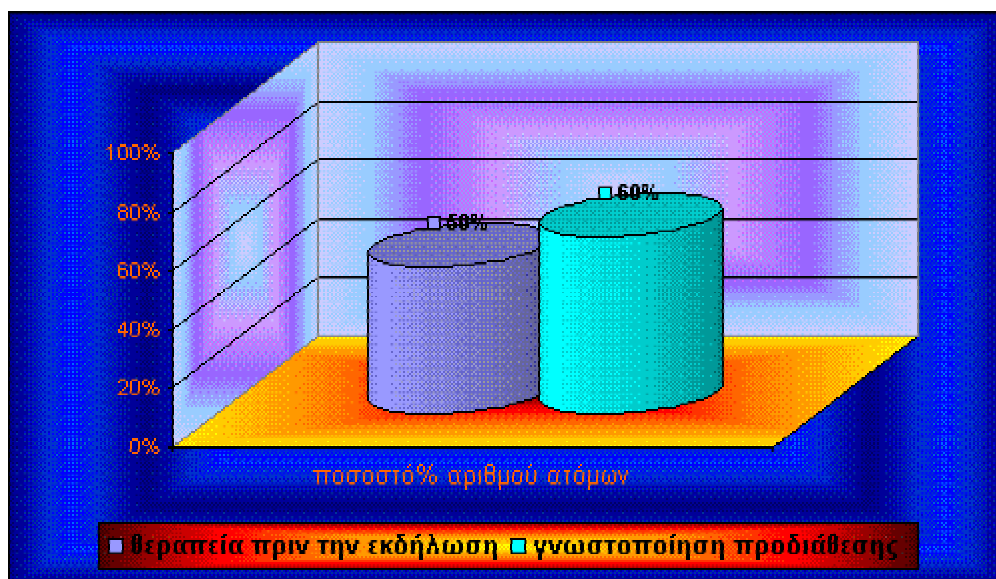
και γιατί;

Ποσοστό 8% επί του συνόλου των ερωτηθέντων δεν έδωσε καμία απάντηση στην ερώτηση αυτή ενώ 24,5% δεν ασχολήθηκε με το σκελος της δικαιολόγησης της ερώτησης.

Το 83% πιστεύει ότι η εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας θα συμβάλει και στην πρόληψη ασθενειών, ενώ το 50% αυτών στηρίζουν την άποψή τους στο ότι θα γίνεται έγκαιρη επέμβαση στο μηχανισμό κάθε νοσήματος διορθώνοντας τη γενετική βλάβη με την εισαγωγή στο κύτταρο 'φυσιολογικού' DNA, την αντικατάσταση "ύποπτων" γονιδίων και κατά συνέπεια θα αντιμετωπίζονται πιθανώς ασθένειες πριν καν την εκδήλωσή τους. Το 60% βέβαια, έχει τη γνώμη ότι επειδή θα γίνεται προληπτικός έλεγχος για παθολογικά γονίδια και θα γνωρίζει ο καθένας την προδιάθεσή του θα λαμβάνει και τα αντίστοιχα μέτρα πρόληψης (διατροφή, άσκηση, τρόπος ζωής κλπ) οπότε κατ' αυτή την έννοια η γονιδιακή θεραπεία θα συμβάλει και στην πρόληψη ασθενειών.

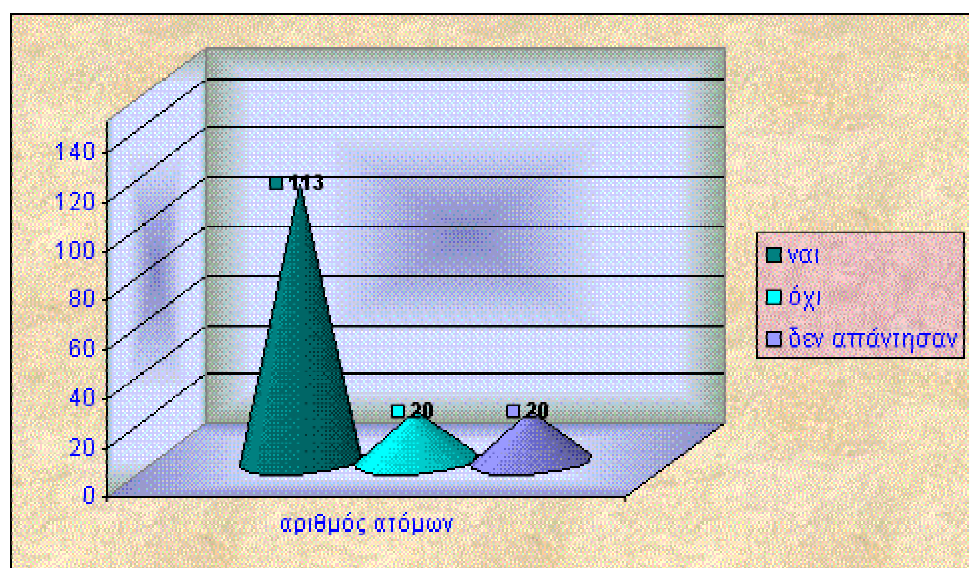
Δεν έλειψαν και αυτοί που δεν πιστεύουν ότι η γονιδιακή θεραπεία θα συμβάλει στην πρόληψη των ασθενειών (9%) θεωρώντας είτε ότι το ενδεχόμενο αυτό είναι δύσκολο εως απίθανο είτε ότι θα πάρει πάρα πολλά χρόνια μέχρι να πραγματοποιηθεί και ίσως μέχρι τότε να υπάρχουν νέες ασθένειες.

	ποσοστό% αριθμο
θεραπεία πριν την εκδήλωση	50%
γνωστοποίηση προδιάθεσης	60%



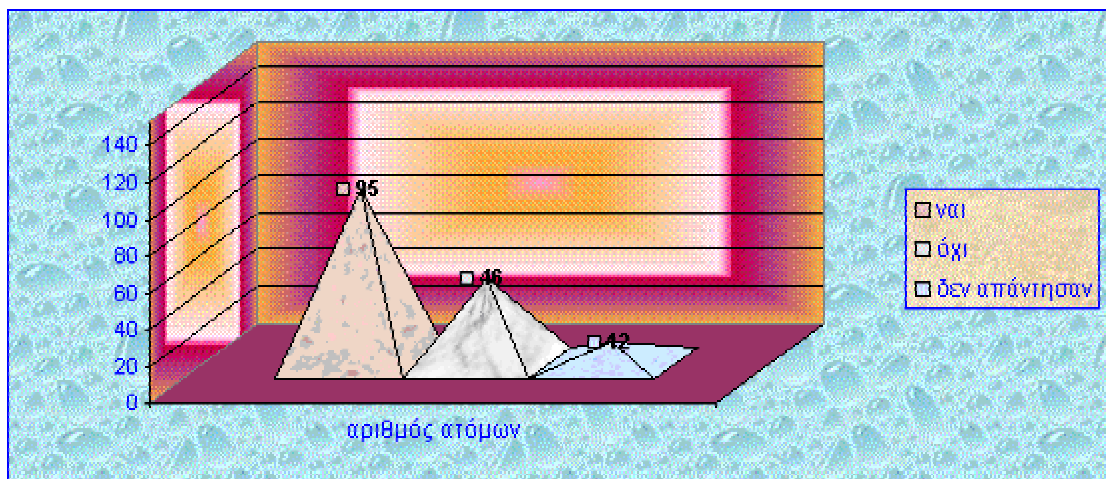
16. Πιστεύετε ότι η γονιδιακή θεραπεία θα μπορέσει να εφαρμοστεί και σε μη γενετικές ασθένειες (υπέρταση, καρδιοπάθειες, νεανικός διαβήτης, αλτσχάιμερ)

	αριθμός ατόμων	ποσοστό %
ναι	113	74%
όχι	20	13%
δεν απάντησαν	20	13%



17. Πιστεύετε ότι η γονιδιακή θεραπεία παρεμβαίνει στη φύση;

ναι
όχι
δεν απάντησαν



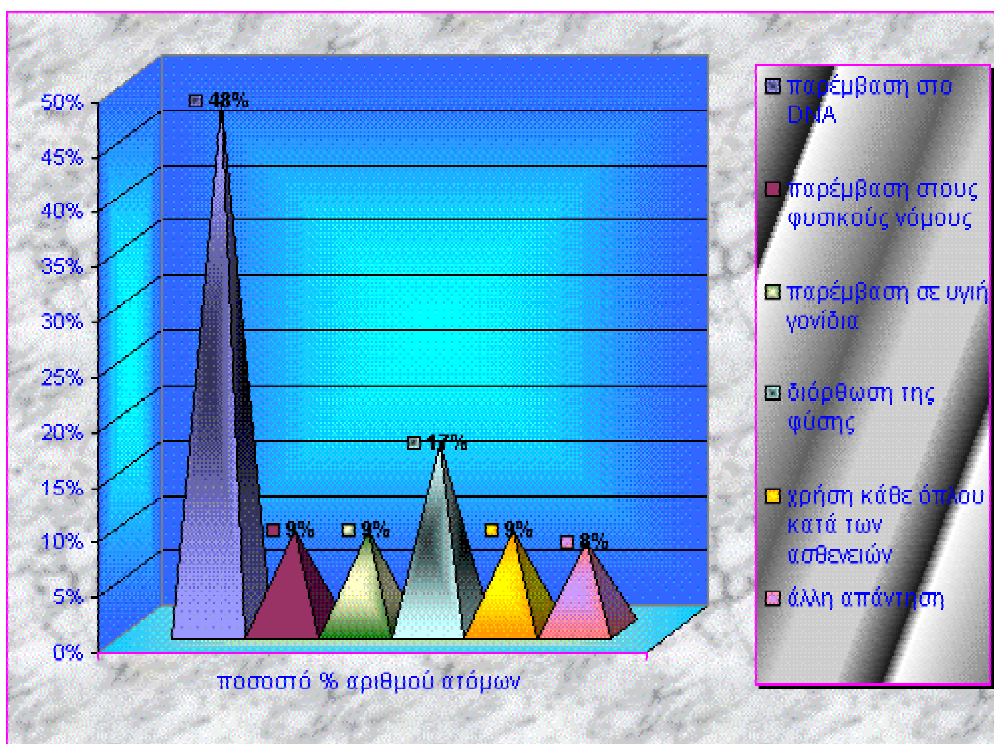
και γιατί;

Καμία απάντηση στην ερώτηση δεν έδωσαν 8% των ερωτηθέντων ενώ απάντησαν χωρίς να δικαιολογήσουν όμως την απάντησή τους το 57%.

Από το ποσοστό των ατόμων που δικαιολόγησαν την απάντησή τους είτε θετικά είτε αρνητικά (43%), η πλειοψηφία δηλαδή το 48% θεωρεί ότι θα γίνεται τροποποίηση του γονιδιώματος και παρέμβαση στο DNA ενώ 9% πιστεύουν ότι θα υπάρχει παρέμβαση στους νόμους της φυσικής επιλογής. Εξίσου 9% ανέφερε το ενδεχόμενο να γίνεται παρέμβαση και σε υγιή γονίδια ενώ μόλις το 4% έκρινε τα πειράματα ως παρέμβαση.

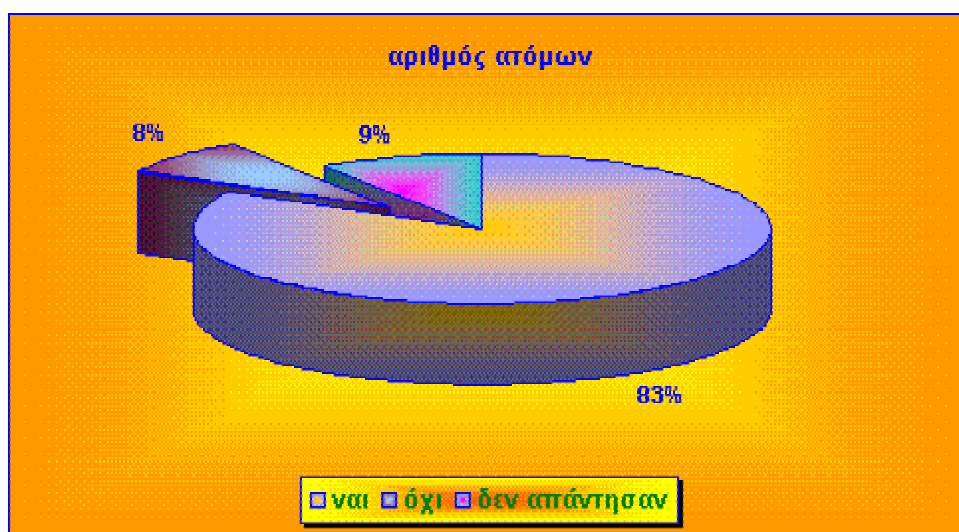
Το 30% ωστόσο δε θεωρεί ότι η γονιδιακή θεραπεία θα παρεμβαίνει στη φύση. Το 17% λοιπόν κρίνει ότι δεν παρεμβαίνει αλλά συμπληρώνει τη φύση, το 9% πιστεύει ότι η επιστήμη της υγείας μπορεί να χρησιμοποιήσει ότι όπλο έχει στον αγώνα κατά των ασθενειών, ενώ το 4% επισημαίνει ότι η γονιδιακή θεραπεία δεν παρεμβαίνει στη φύση αφού έχει σκοπό την αποκατάσταση της υγείας και όχι την καλαισθησία (πχ πλαστική).

παρέμβαση στο DNA
παρέμβαση στους φυσικούς νόμους
παρέμβαση σε υγιή γονίδια
διόρθωση της φύσης
χρήση κάθε όπλου κατά των ασθενειών
άλλη απάντηση



18. Νομίζετε ότι θα γίνει δεκτό από τους ασθενείς;

	αριθμός ατόμων	ποσοστό %
ναι	127	83%
όχι	12	8%
δεν απάντησαν	14	9%



19. Οι μέθοδοι έρευνας στην εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας πιστεύετε ότι είναι θεμιτές και ηθικές;

	ναι
	όχι
	δεν γνωρίζω
	δεν απάντησαν



και γιατί;

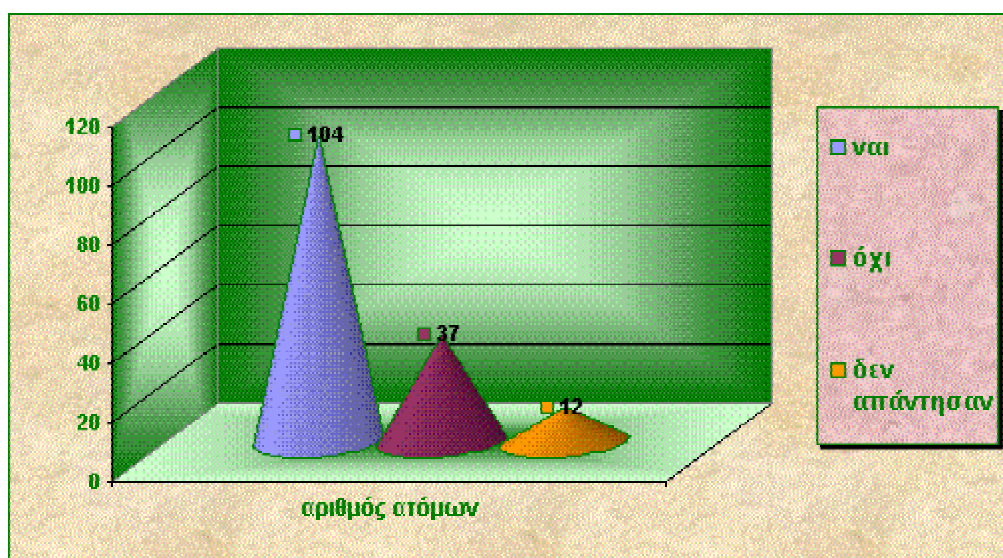
Από το 66% του συνόλου του δείγματος που απάντησε "ναι" και "όχι", αρκετοί ήταν αυτοί οι οποίοι τεκμηρίωσαν την άποψή τους. Από το σύνολο αυτών που απάντησαν θετικά (45%) αρκετοί ήταν αυτοί που υποστήριξαν πως η γονιδιακή θεραπεία δεν παρεμβαίνει τα όρια της ηθικής, αφού η επιστήμη δεν γνωρίζει όρια και φραγμούς μπροστά στο αύριο της ανακάλυψης, αφού η υγεία μετράει πρώτα και πάνω απ' όλα και επειδή η ζωή (ποιότητα και προσδόκιμο) είναι υπεράνω θεμιτού και ηθικού. Άλλοι πάλι υποστήριξαν πως σφ' όσον δεν γίνεται παρεμβολή στην προσωπικότητα του ατόμου δεν τίθεται θέμα ηθικής.

Από το σύνολο των ατόμων που κράτησαν αρνητική στάση (21%) απέναντι στο θέμα, αρκετοί ήταν αυτοί οι οποίοι τεκμηρίωσαν την άποψή τους λέγοντας ότι η γονιδιακή θεραπεία παρεμβαίνει στη φύση, πράγμα που δεν είναι ηθικό και θεμιτό. Άλλοι πάλι δήλωσαν πως θεωρούν αθέμιτο μέσο τα πειράματα που γίνονται σε ζώα.

Αξιοσημεωτο είναι πως ένα μικρό μέρος των ατόμων που κράτησαν θετική στάση, επισήμαναν πως αναμένουν η κοινή γνώμη να παρασυρθεί (π.χ. από εκκλησία) και να προκύψουν πολλά και ποικίλα ηθικά δηλήματα.

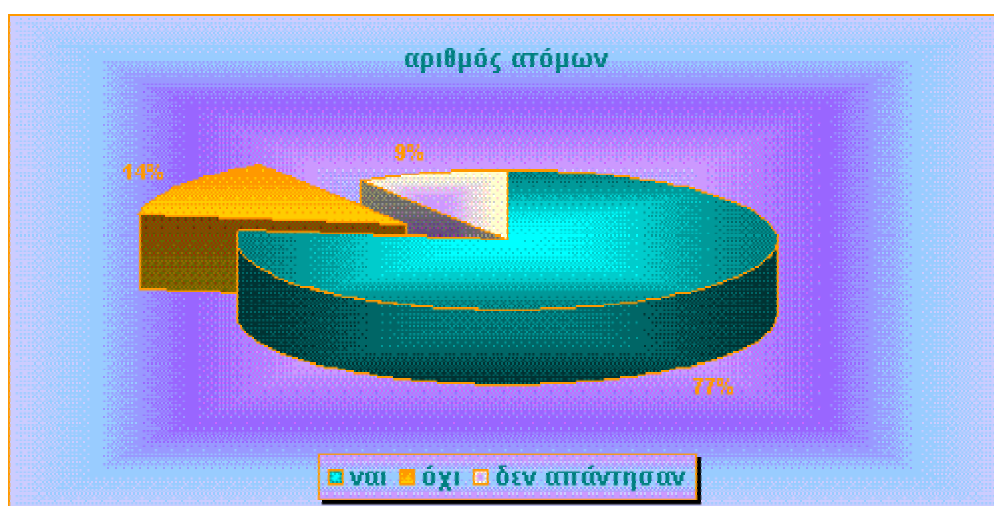
20. Πιστεύετε ότι θα προκύψουν ηθικά διλήμματα;

	αριθμός ατόμων	ποσοστό %
ναι	104	68%
όχι	37	24%
δεν απάντησαν	12	8%

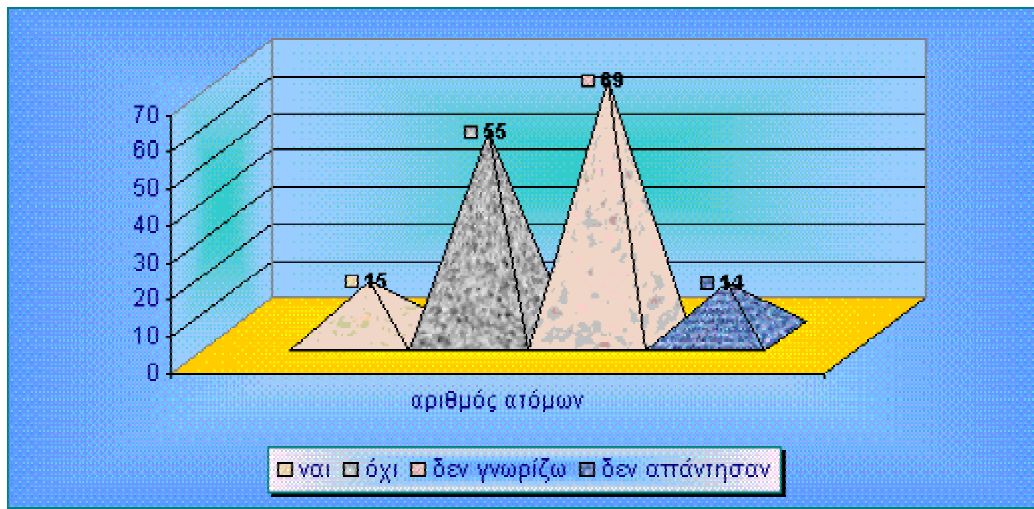


21. Πιστεύετε ότι οι γενετιστές είναι οι επιστήμονες του αύριο;

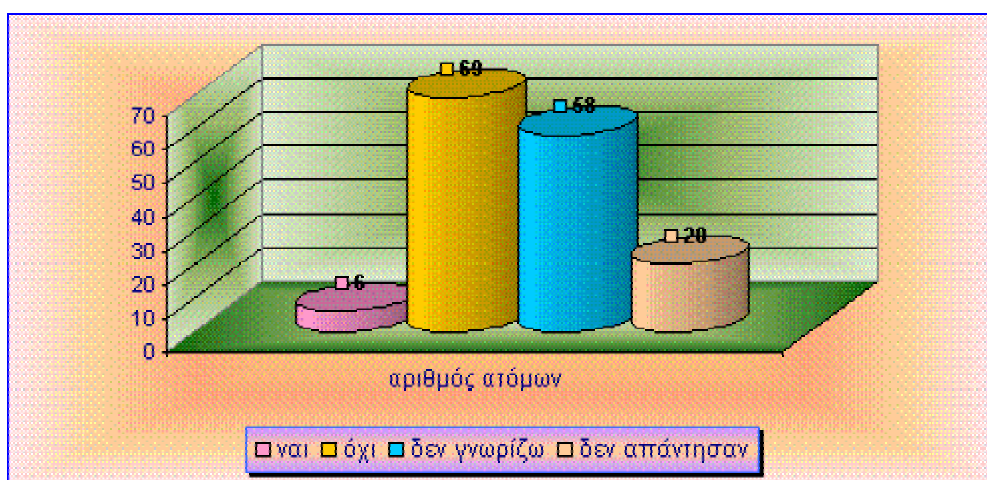
	αριθμός ατόμων	ποσοστό %
ναι	118	77%
όχι	21	14%
δεν απάντησαν	14	9%



22. Νομίζετε ότι στην Ελλάδα χρηματοδοτείται η έρευνα γύρω από τη γονιδιακή θεραπεία;

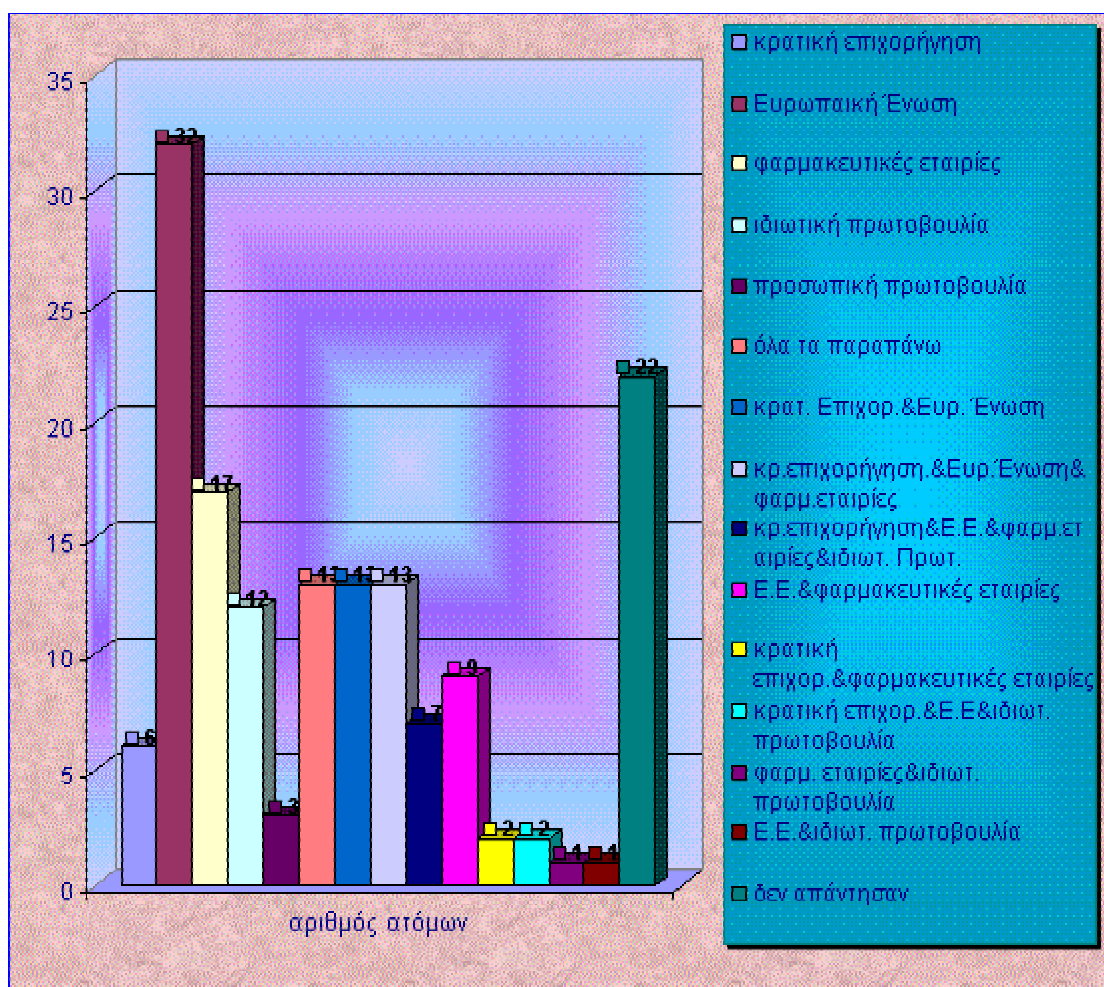


23. Πιστεύετε ότι υπάρχουν οι κατάλληλες προϋπθέσεις (εγκαταστάσεις και μέσα) για την ανάπτυξη της έρευνας στην Ελλάδα;



24. Ποιά πιστεύετε ότι θα ήταν η πιο σημαντική πηγή χρηματοδότησης για την ανάπτυξη της έρευνας στην Ελλάδα;

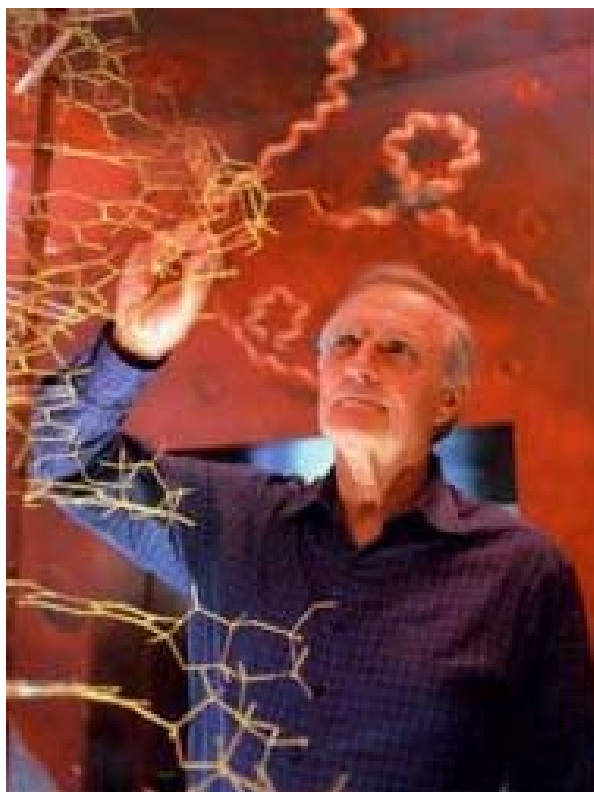
	αριθμός ατόμων
κρατική επιχορήγηση	6
Ευρωπαϊκή Ένωση	32
φαρμακευτικές εταιρίες	17
ιδιωτική πρωτοβουλία	12
προσωπική πρωτοβουλία	3
όλα τα παραπάνω	13
κρατ. Επιχορ.&Ευρ. Ένωση	13
κρ.επιχορήγηση.&Ευρ.Ένωση&φαρμ.εταιρίες	13
κρ.επιχορήγηση&Ε.Ε.&φαρμ.εταιρίες&ιδιωτ. Πρωτ.	7
Ε.Ε.&φαρμακευτικές εταιρίες	9
κρατική επιχορ.&φαρμακευτικές εταιρίες	2
κρατική επιχορ.&Ε.Ε&ιδιωτ. πρωτοβουλία	2
φαρμ. εταιρίες&ιδιωτ. πρωτοβουλία	1
Ε.Ε.&ιδιωτ. πρωτοβουλία	1
δεν απάντησαν	22



ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Πολλά ηθικά και κοινωνικά ζητήματα έχουν δημιουργηθεί για τις συνέπειες και τα όρια της γονιδιακής θεραπείας. Το σίγουρο είναι πως θα πρέπει να υπάρξει ενημέρωση γύρω από το θέμα "ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ" στους νοσηλευτές οι οποίοι στο μέλλον θα κλιθούν να εφαρμόσουν τις νέες αυτές μεθόδους και να τις κάνουν αντικείμενο της εργασίας τους

Ελπίζουμε διαβάζοντας αυτή την εργασία, ο κάθε ενδιαφερόμενος να αποκομίσει κάποιες βασικές γνώσεις όσον αφορά το θέμα, γιατί η γονιδιακή θεραπεία έχει καθιερωθεί και εξελίσσεται ραγδαία και αναμένεται να αποτελέσει τον σημαντικότερο τρόπο προληπτικής ή θεραπευτικής αντιμετώπισης των ασθενειών. Βέβαια υπάρχουν πολλές δυσκολίες που πρέπει ακόμα να ξεπεραστούν, πιθανόν να γίνουν και αρκετά λάθη ή να υπερεκτιμηθούν ορισμένες επιτυχίες μέσα στο γενικότερο ενθουσιασμό και τον γρήγορο ρυθμό εξέλιξης που επικρατεί, εως ότου τα νέα επιτεύγματα ενταχθούν σε κάποια πλαίσια αποδεκτά από την πλειοψηφία του επιστημονικού κόσμου και του κοινού και να χρησιμοποιηθούν για το καλό της ανθρωπότητας.





ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ανθιμία Μ. Μπατρινού, Βιολόγος MSc Βιοτεχνολογίας, MBA Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών, [Γονιδιακή Θεραπεία](#).

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία :

1. <http://www.nature.com>
2. <http://www.time.com/cloning>
3. <http://www.nih.gov/news/panelrep.html>
4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
5. <http://www.pascal.bids.ac.uk>
6. <http://gene.therapy.med.umich.edu>
7. <http://www.latimes.com>
8. <http://www.forthnet.gr/mednet>
9. <http://health.in.gr>
10. <http://www.ivf.gr/pressroom> 54. html
11. <http://www.weblab.gr>
12. <http://www.iatronet.gr>
13. <http://www.mednet.gr>
14. <http://www.asgt.org>
15. <http://www.sciam.com>
16. <http://www.ornl.gov>

