

Νέες τεχνολογίες στην υπηρεσία της έρευνας για τη θεραπεία ασθενειών βασισμένες στη λειτουργική γενωμική

Αλέκος Πίντζας

*Κύριος ερευνητής, Ινστιτούτο Βιολογικών Ερευνών
και Βιοτεχνολογίας (IBEB), Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών*

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους οργανωτές για την πρόσκληση να μιλήσω απόψε εδώ, να μοιραστώ μαζί σας τις σκέψεις μου και να ακούσω τους προβληματισμούς σας για τα πολύ σημαντικά θέματα της σύγχρονης βιοϊατρικής έρευνας σχετικά με τις θεραπείες των ασθενειών.

Η βιολογική και βιοϊατρική έρευνα βρίσκεται σε μία μεταβατική περίοδο που χαρακτηρίζεται από δύο κυρίως παράγοντες: τη μαζική αύξηση της πληροφορίας σχετικά με την αλληλουχία του DNA καθώς και την ανάπτυξη τεχνολογιών που θα εκμεταλλευτούν τη χρήση της. Ειδικότερα, η πρόκληση στον τομέα της θεραπείας ασθενειών, όπως ο καρκίνος, είναι οι ειδικές θεραπείες που θα στοχεύουν σε παθολογικά διακριτούς τύπους καρκίνου για να μεγιστοποιήσουν την αποτελεσματικότητα και να ελαχιστοποιήσουν την τοξικότητα των φαρμάκων.

Η ταξινόμηση των καρκινικών τύπων είναι πολύ σημαντική και έχει βασιστεί μέχρι τώρα κυρίως στη μορφολογική εμφάνιση των καρκινικών όγκων, αλλά αυτό έχει σημαντικούς περιορισμούς. Οι όγκοι με παρόμοια ιστοπαθολογική εμφάνιση μπορεί να ακολουθήσουν διαφορετική κλινική πορεία και παρουσιάζουν διαφορετική απόκριση στη θεραπεία. Σε ορισμένες περιπτώσεις, αυτή η κλινική ετερογένεια ερμηνεύεται υποδιαιρώντας παρόμοιους μορφολογικά καρκινικούς όγκους σε υποκατηγορίες με διακριτά χαρακτηριστικά. Σημαντικά παραδείγματα περιλαμβάνουν τις οξείες λευχαιμίες, τα λεμφώματα non-Hodgkin καθώς και καρκίνους της παιδικής ηλικίας. Για αρκετά περισσότερους

καρκινικούς όγκους σημαντικές υποκατηγορίες μπορεί να υφίστανται, αλλά πρέπει να προσδιοριστούν με τη βοήθεια μοριακών δεικτών. Για παράδειγμα, καρκίνοι του προστάτη παρόμοιου σταδίου μπορεί να έχουν πολύ διαφορετική κλινική πορεία, από καθόλου εξέλιξη για δεκαετίες, μέχρι εκκρηκτική ανάπτυξη, που έχει σαν αποτέλεσμα τον θάνατο του ασθενούς. Σήμερα πλέον αναπτύσσονται τεχνολογίες που συνεισφέρουν αποτελεσματικά προς αυτήν την κατεύθυνση, βασισμένες στην ανάλυση της πληροφορίας του ανθρώπινου γονιδιώματος.

Μεταξύ των πλέον χρήσιμων τεχνολογιών-εργαλείων της γενωμικής είναι αυτή των συστοιχιών ολιγονουκλεοτιδίων ή cDNAs υψηλής πυκνότητας. Οι συστοιχίες των νουκλεϊνικών οξέων λειτουργούν με υβριδοποίηση σημασμένου RNA ή DNA σε διάλυμα σε μόρια DNA που έχουν προσκολληθεί σε θέσεις της επιφάνειας. Τα ζευγάρια των μορίων της επιφάνειας προσδιορίζονται από τους κανόνες της μοριακής αναγνώρισης. Αυτές οι συστοιχίες γονιδίων έχουν χρησιμοποιηθεί σε βιολογικά πειράματα για πολλά χρόνια, όπου τα τμήματα DNA ήταν προσκολλημένα σε μία πορώδη μεμβράνη (συνήθως νάϋλον). Πρόσφατα, η χρήση του γυαλιού ως υπόστρωμα και φθορισμό για ανίχνευση, μαζί με την ανάπτυξη νέων τεχνολογιών για σύνθεση και αποθήκευση νουκλεϊνικών οξέων σε slides από γυαλί σε μεγάλη πυκνότητα, μας έχουν επιτρέψει τη σμίκρυνση των επιφανειών των συστοιχιών νουκλεοτιδίων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της πειραματικής ακρίβειας και του περιεχομένου της πληροφορίας.

Η χρήση συστοιχιών γονιδίων για μέτρηση της έκφρασης χιλιάδων γονιδίων ταυτόχρονα χρησιμοποιείται εκτενέστατα από ερευνητές και αυτή η πληροφορία δίνει μία πολύ αναλυτική εικόνα των αλλοιώσεων στη δημιουργία και εξάπλωση του καρκίνου. Η έρευνα έχει ήδη δείξει ότι όγκοι που φαίνονται παρόμοιοι μπορεί να έχουν διαφορετικούς τρόπους γονιδιακής έκφρασης και ότι αυτές οι διαφορές μπορούν πιθανόν να αποκαλύψουν λεπτομέρειες που να σώζουν τη ζωή τού ασθενούς ως προς τον τρόπο με τον οποίο αυτός θα ανταποκριθεί στη συγκεκριμένη θεραπεία.

Για παράδειγμα, σε δύο μελέτες, η ανάλυση πολλαπλών δειγμάτων από άτομα με ή χωρίς οξεία λευχαιμία ή διάχυτο Β-κυτταρικό λέμφωμα αποκάλυψε δείκτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην ταξινόμηση αυτών των καρκίνων. Καταδείκτηκε επίσης η σημασία της ανάλυσης μεγάλου αριθμού γονιδίων, διότι ακριβείς προβλέψεις δεν ήταν δυνατό να γίνουν με ένα γονίδιο. Επιλέγοντας 50 γονίδια από τα περίπου 6.000 της συστοιχίας, οι προβλέψεις για την ασθένεια ήταν ακριβείς. Μελέτες με περισσότερα γονίδια και περισσότερους ασθενείς είναι σε εξέλιξη για την εύρεση γονιδίων δεικτών. Αλλά ακόμα και με περιορισμένα αρχικά στοιχεία κατέστη δυνατό να διαλευκανθεί μία ασυνήθιστη περίπτωση και να χρησιμοποιηθεί η πληροφορία για να κατευθύνει την κλινική φροντίδα του ασθενούς. Παρόμοιες αρχικές μελέτες έχουν γίνει σε άλλες μορφές καρκίνου, όπως στον καρκίνο του μαστού ή στο μελάνωμα.

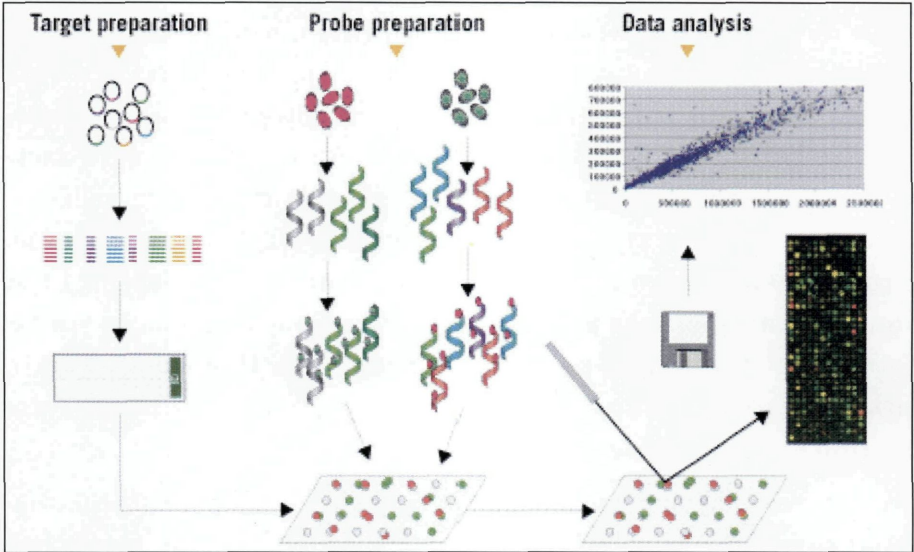
Μία ακόμα σημαντική συνεισφορά της τεχνολογίας εντοπίζεται στην περιοχή της θεραπείας των ασθενειών (φαρμακογενωμική). Μπορεί να δώσει απαντήσεις σε ερωτήματα, όπως: Γιατί μερικά φάρμακα έχουν καλύτερο αποτέλεσμα σε κάποιους ασθενείς και όχι σε άλλους; Και γιατί μερικά από αυτά είναι πολύ τοξικά σε μερικούς από αυτούς;

Ο σκοπός της φαρμακογενωμικής είναι να βρίσκει συσχετισμούς μεταξύ των θεραπευτικών αποκρίσεων στα φάρμακα και του γενετικού προφίλ των ασθενών.

ΣΥΝΤΟΜΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

Σε ένα τυπικό τεστ γονιδιακής έκφρασης που έχει σχεδιαστεί να παρουσιάσει την έκφραση πολλών γονιδίων ταυτόχρονα, παρασκευάζεται mRNA από δύο διαφορετικούς ιστούς. Οι σημασμένοι ιχνηθέτες υβριδίζονται εναντίον των στόχων. Οι στόχοι έχουν στοιχηθεί σε επικαλυμμένα slides και είναι συνήθως μέρη γονιδίων που προέκυψαν από PCR. Οι συσκευές χρησιμεύουν στο να γίνει η απόθεση και η σάρωση των γονιδίων. Επιπλέον χρησιμοποιούνται υπολογιστικά προγράμματα

τα (software) για την αρίθμηση των δειγμάτων, τον έλεγχο των μηχανημάτων και την ανάλυση των αποτελεσμάτων.



Συμπερασματικά, η αλληλουχία του ανθρώπινου γονιδιώματος και η ανάλυση της τεράστιας πληροφορίας που παρέχει, μπορεί να δώσει νέα διάσταση και ώθηση στην έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία των ασθενειών του 21ου αιώνα.