

**ΓΥΜΝΑΣΙΟ ΚΕΡΑΤΕΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ Γ2'**

**ΕΡΓΑΣΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΤΟ ΡΟΛΟ ΤΟΥΣ ΣΤΗ  
ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ**

**ΣΥΝΕΡΓΑΣΤΗΚΑΝ  
ΜΑΥΡΙΚΟΥ ΜΑΡΙΑ  
ΜΙΧΑΛΗ ΓΕΩΡΓΙΑ-ΖΩΗ**

## Μεταλλάξεις

Οι αλλαγές στην αλληλουχία του DNA ονομάζονται **μεταλλάξεις**. Αυτές μπορεί να είναι δύο ειδών: Οι **χρωμοσωμικές** μεταλλάξεις και οι **γονιδιακές**.

Αν οι αλλαγές αφορούν μικρό αριθμό βάσεων τότε μιλάμε για γονιδιακή μετάλλαξη. Οι γονιδιακές μεταλλάξεις μπορεί να είναι: αντικατάσταση βάσης, έλλειψη βάσης και προσθήκη βάσης ή βάσεων.

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες αφορούν αλλαγές σε μεγαλύτερα τμήματα του χρωμοσώματος.

Μεταλλάξεις μπορούν να συμβούν σε οποιοδήποτε γεννητικό ή σωματικό κύτταρο ενός οργανισμού. Οι μεταλλάξεις των γεννητικών κυττάρων είναι οι μόνες που μπορεί να κληρονομηθούν. Οι μεταλλάξεις των σωματικών κυττάρων είναι οι συνηθέστερες.

Οι μεταλλάξεις συμβάλλουν στη δημιουργία γενετικής ποικιλότητας στον πληθυσμό και ευθύνονται για πολλές κληρονομικές ασθένειες καθώς και για πολλές περιπτώσεις καρκίνου. Πολλές μεταλλάξεις δεν έχουν καμιά επίπτωση στον οργανισμό και χαρακτηρίζονται ουδέτερες. Οι μεταλλάξεις που εμφανίζονται ξαφνικά μέσα στον πληθυσμό ονομάζονται αυτόματες και προέρχονται από λάθη που συμβαίνουν κατά τη διαδικασία της αντιγραφής ή κατά τον διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων. Πολλοί τύποι μεταλλάξεων μπορεί να δημιουργηθούν από παράγοντες του περιβάλλοντος που λέγονται μεταλλαξογόνοι. Τέτοιοι είναι οι διάφοροι τύποι ιονιζουσών ακτινοβολιών (χ,γ,β,α), η κοσμική ακτινοβολία και η υπεριώδης. Επίσης πολλές ουσίες που βρίσκονται σε γεωργικά, βιομηχανικά και φαρμακευτικά προϊόντα. Ο ανθρώπινος πληθυσμός εκτίθεται με πολλούς τρόπους σε ακτινοβολίες όπως για ιατρικούς σκοπούς, επαγγελματικούς λόγους, κοσμική ακτινοβολία, ακτινοβολία που εκπέμπουν τα ραδιενεργά κοιτάσματα και ακτινοβολίες που εκλύονται κατά τη διάρκεια δομικών ατομικών όπλων και πυρηνικών ατυχημάτων.

Παρακάτω παραθέτουμε ορισμένες ασθένειες που προέρχονται από μετάλλαξη.

### ΑΛΦΙΣΜΟΣ

Ο **αλφισμός** ή **αλμπινισμός** ή **λευκοπάθεια** είναι πάθηση που εμφανίζεται εκ γενετής σ' ένα άτομο και σαν κύρια συνέπεια έχει το **λευκό** χρώμα στο **δέρμα** και στις τρίχες των μαλλιών και ολόκληρου του σώματος, ενώ η **ίριδα** των **ματιών** είναι ρόδινη. Το τελευταίο δεν θα πρέπει να συγχέεται με το **φαινόμενο των κόκκινων ματιών**.

Οι πάσχοντες από αλφισμό έχουν λεπτό **δέρμα** που παρουσιάζει μεγάλη ευπάθεια στις **λοιμώξεις**, καθώς και σοβαρά προβλήματα όρασης η οποία είναι ελαττωματική και μπορούν να προκαλέσουν **αχρωματοψία** ή **καταρράκτη**, ενώ εμφανίζουν και **φωτοφοβία**. Στις βαρύτερες μορφές του, οι δύο κυριότερες επιπλοκές του αλφισμού είναι η **τύφλωση** και η εμφάνιση **καρκινωμάτων** του δέρματος. Αντίθετα, στον μερικό αλφισμό, η πάθηση χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένες περιοχές του δέρματος και του τριχωτού στις οποίες λείπει η χρωστική και η μοναδική εκδήλωση μπορεί να είναι μία λευκή τούφα τριχών σε κάποιο άλλο σημείο του σώματος.

### Αιτία του αλφισμού

Ο αλφισμός προκαλείται από την έλλειψη χρωστικής και οφείλεται σε βλάβη των γονιδίων που καθορίζουν τη σύνθεση της **μελανίνης**. Η έλλειψη αυτή μπορεί να είναι κληρονομική, μπορεί όμως να είναι και αποτέλεσμα του γενετικού φαινομένου της μεταλλαγής. Για την εμφάνισή του δεν παίζει ρόλο ούτε η φυλή (παρουσιάζεται σε όλες τις φυλές του κόσμου), ούτε το περιβάλλον και οι κλιματολογικές συνθήκες. Παρ' όλα αυτά, ενώ ο παγκόσμιος μέσος όρος εμφάνισης του αλφισμού είναι 1 στις 20.000 γεννήσεις, σε κάποιους τόπους τα ποσοστά αυξάνονται (στην **Αφρική** είναι 1 στις 5.000 γεννήσεις), ενώ σε άλλους μειώνονται (στη **Δανία** είναι 1 στις 60.000 γεννήσεις).

## Αλφισμός και «μαγεία» στην Αφρική

---

Στην Αφρική όπου υπάρχει το μεγαλύτερο ποσοστό αλφισμού παγκοσμίως και όπου κατά συνέπεια είναι περισσότερο ορατά τα διαφορετικά χαρακτηριστικά της πάθησης, έχουν παρατηρηθεί φαινόμενα κοινωνικού αποκλεισμού τα οποία εντάθηκαν δραματικά στην [Τανζανία](#) στα μέσα του [2008](#), όταν και αναφέρθηκαν περίπου 35 δολοφονίες και ακρωτηριασμοί [ανθρώπων](#) με αλφισμό (ανάμεσά τους και παιδιά) ως «μαγεμένων», κυρίως από οργανωμένες συμμορίες που μισθώνονται από γιατρούς - μάγους της φυλής. Το γεγονός καταδίκασε με ψήφισμά του το [Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο](#) στις [3 Σεπτεμβρίου 2008](#).<sup>[3]</sup>

Για τα άτομα που πάσχουν από αλφισμό ισχύει διεθνώς ο χαρακτηρισμός *albino* (από τη [λατινική](#) λέξη *albus* που σημαίνει λευκό), ενώ στην [ελληνική γλώσσα](#) τα άτομα αυτά ονομάζονται *λευκοπαθικά*.

## Ο αλφισμός στη φύση

---

Στα [ζώα](#) τα συμπτώματα του αλφισμού παρουσιάζονται όπως ακριβώς και στον άνθρωπο, ενώ στα [φυτά](#) προκαλείται η έλλειψη [χλωροφύλλης](#) και αλλάζει το χρώμα των [λουλουδιών](#), π.χ. [λευκά](#) άνθη σε φυτά που κάτω από φυσιολογικές συνθήκες θα έπρεπε να ήταν [κόκκινα](#).

### Λαγόχειλο Λυκόστομα

Σχιστία της υπερώας, κοινώς ουρανίσκου, γνωστή ως λυκόστομα. Μπορεί να συνυπάρχει με τη χειλεοσχιστία ή εμφανίζεται μεμονωμένα με συχνότητα 1:2500 γεννήσεις. Η ποικιλομορφία της έχει οδηγήσει τους ερευνητές σε πολλές ταξινομήσεις, που έχουν βέβαια επιστημονικό ενδιαφέρον, αλλά δεν προσφέρουν ιδιαίτερη βοήθεια στην πράξη. Πολλά προβλήματα δημιουργεί στο νεογνό το λυκόστομα: στη σίτιση: δε μπορεί να θηλάσει, λόγω αδυναμίας δημιουργίας κενού στη στοματική κοιλότητα στην ομιλία: αργότερα το παιδί παρουσιάζει ένρινη ομιλία, "ρινολαλία" οδοντικές ανωμαλίες: ελαττωμένη οδοντική σύγκλιση μέση ωτίτιδα και βαρηκοΐα. Η χειρουργική διόρθωση του λυκοστόματος αρχίζει μόλις τον 19ο αιώνα. Ο von Langenbeck υπήρξε πρωτοπόρος και θεμελιώτης, στις αρχές του οποίου στηρίζονται οι σημερινές τεχνικές. Για το χρόνο αποκατάστασης (timing) υπήρχε ανέκαθεν σκεπτικισμός. Για πολλά χρόνια, είχε οριστεί σαν κατάλληλος χρόνος επέμβασης η ηλικία των 18-24 μηνών. Σήμερα γίνεται νωρίτερα. Όλο και περισσότεροι χειρουργοί υποστηρίζουν την απόκατάσταση σε 2 χρόνους. Συγκεκριμένα, την πρώιμη σύγκλιση της μαλακής υπερώας (early repair) κατά τον 3ο-6ο μήνα, ενώ η σύγκλιση της σκληράς υπερώας γίνεται αργότερα (delayed repair) κατά τον 15ο-18ο μήνα, ώστε να μην επηρεαστεί η ανάπτυξη της άνω γνάθου. Η αντιμετώπιση των ασθενών γίνεται από μια ομάδα ειδικών, που περιλαμβάνει εκτός από τον Πλαστικό Χειρουργό, τον ΩΡΛ, τον Ορθοδοντικό, ενώ απαραίτητες θεωρούνται και οι ασκήσεις ορθοφωνίας.

## In vitro

---

Η [λατινική](#) έκφραση *In vitro* (που σημαίνει μέσα στο γυαλί - δοκιμαστικό σωλήνα), είναι επιστημονικός όρος της [Βιολογίας](#) που αναφέρεται κυρίως στην τεχνική της

πραγματοποίησης ενός δεδομένου πειράματος σε δοκιμαστικό σωλήνα ή γενικότερα για πειράματα που πραγματοποιούνται σε αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες έξω από τους ζωντανούς οργανισμούς.

## Πειράματα - εφαρμογές

---

Πολλά πειράματα στην [Μοριακή Βιολογία](#) πραγματοποιούνται σε τέτοιες συνθήκες γιατί σε συνθήκες μέσα στους οργανισμούς τα αποτελέσματα ένδεχόμενα να μην ανταποκρινόταν στη σχεδίαση του πειράματος. Τα πειράματα αυτά αποκαλούνται *in vitro*, σε αντίδιαστολή με τον όρο *in vivo*.

Χαρακτηριστική εφαρμογή του όρου είναι στη γονιμοποίηση ανθρώπινων ωαρίων σε δοκιμαστικό σωλήνα στο εργαστήριο, πριν την εμφύτευση τους και πάλι στη μητέρα.

Επιμέρους εξειδικευμένοι όροι είναι: *in vitro* [μετάλλαξη](#), *in vitro* [ενίσχυση](#) που αφορά DNA, *in vitro* [σύνθεση](#), και *in vitro* [μεταγραφή](#).

### ***in vitro* μετάλλαξη**

Η λεγόμενη ***in vitro* μετάλλαξη** (*in vitro* mutagenesis) είναι ειδική μέθοδος εξ ενός συνόλου άλλων που επιτρέπει την εισαγωγή σ' ένα [μόριο DNA](#) μια τυχαία ή συγκεκριμένη [μετάλλαξη](#). Στην αρχή αφαιρείται από το κύτταρο το DNA που πρόκειται να μεταλλαχθεί, γίνεται η μετάλλαξη εκτός κυττάρου και στη συνέχεια επανεισάγεται σ' αυτό.

### ***in vitro* ενίσχυση DNA**

Η λεγόμενη ***in vitro* ενίσχυση DNA** (*in vitro* DNA amplification) πρόκειται για ειδική μέθοδο ενίσχυσης [DNA](#) που πραγματοποιείται σε δοκιμαστικό σωλήνα. Δείτε σχετικά [αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης](#).

### ***in vitro* σύνθεση**

Η λεγόμενη ***in vitro* σύνθεση** (*in vitro* packaging), είναι η σύνθεση μολυσματικών μορίων [βακτηριοφάγων](#), (ή φάγων), με χρησιμοποίηση [εκχυλίσματος](#) από μολυσμένα κύτταρα φάγων, που γίνεται σε δοκιμαστικό σωλήνα.

### ***in vitro* μεταγραφή**

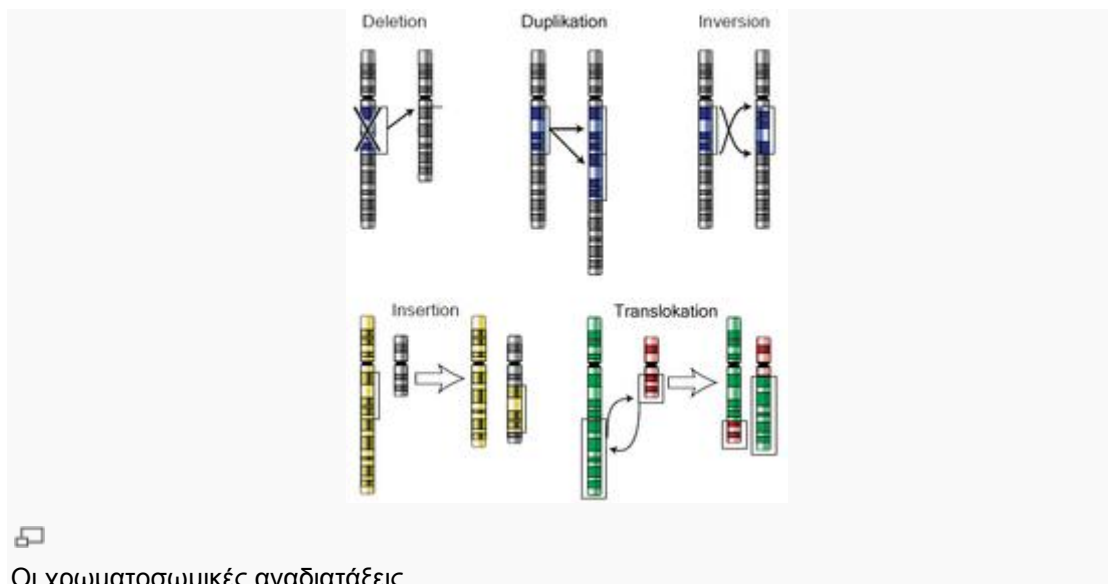
Η λεγόμενη ***in vitro* μεταγραφή** (*in vitro* transcription) είναι ένα σύστημα ελεύθερο από κύτταρα που περιέχει όλα τα απαραίτητα ένζυμα, και κάποια άλλα συστατικά για τη μεταγραφή αλληλουχιών DNA.

## Χρωμοσωμική μετάλλαξη

---

Η **χρωμοσωμική μετάλλαξη** (ή *χρωματοσωμική μετάλλαξη*) έχει ως αποτέλεσμα είτε την αλλαγή της δομής των [χρωμοσωμάτων](#), είτε την αλλαγή του αριθμού των [χρωμοσωμάτων](#). Στην πρώτη περίπτωση λέγεται χρωματοσωματική αναδιάταξη, ενώ στην δεύτερη περίπτωση λέγεται γενοτυπική μετάλλαξη.

## Χρωμοσωμικές αναδιατάξεις



Οι χρωματοσωμικές αναδιατάξεις

Οι χρωμοσωμικές αναδιατάξεις μπορεί να οφείλονται είτε σε *ελλείμματα* είτε σε *διπλασιασμούς* είτε σε *αναστροφές* είτε σε *μετατοπίσεις* χρωμοσωμικών τμημάτων.

### Ελλείμματα

Τα **ελλείμματα** είναι μορφή χρωμοσωμικών μεταλλάξεων. Συμβαίνουν όταν ένα τμήμα ενός χρωμοσώματος λείπει. Τα ελλείμματα οφείλονται είτε σε ενδοχρωμοσωμικό διασκελισμό είτε σε άνισο διασκελισμό μεταξύ δύο ομολόγων χρωμοσωμάτων. Όταν τα ελλείμματα βρίσκονται σε ομοζυγωτική κατάσταση, είναι θνησιγόνα. Στην περίπτωση που υπάρχει ετεροζυγωτία ενός υπολειπόμενου αλληλόμορφου, με κάποιο έλλειμμα θα εκδηλωθεί το γνώρισμα του υπολειπόμενου αλληλόμορφου. Σε αυτή την περίπτωση το υπολειπόμενο αλληλόμορφο μοιάζει να επικρατεί, γι' αυτό ονομάζουμε αυτό το φαινόμενο ψευδοεπικράτηση. Η μετάλλαξη που δημιουργεί έλλειμμα, μπορεί να γίνει επικίνδυνη, αν το έλλειμμα πάρει την θέση ενός υγιούς και επικρατούς αλληλόμορφου, που βρίσκεται απέναντι σε ένα υπολειπόμενο θνησιγόνο (π.χ. ογκογονίδιο). Τότε το γονίδιο αυτό θα εκδηλωθεί.

### Διπλασιασμοί

Μια άλλη μορφή μεταλλάξεων είναι ο διπλασιασμός, που οφείλεται σε διπλή ύπαρξη μιας χρωμοσωμικής περιοχής. Οφείλεται και αυτός σε άνισο διασκελισμό. Μία μορφή διπλασιασμού είναι και η **μετάθεση**, στην οποία το διπλασιασμένο τμήμα (αντίγραφο) βρίσκεται σε άλλη περιοχή από το πρωτότυπο. Οι διπλασιασμοί μπορούν να οδηγήσουν στην δημιουργία νέων γονιδίων.

### Αναστροφές

Μετάλλαξεις αναστροφής έχουμε όταν ένα τμήμα χρωμοσώματος είναι ανεστραμμένο σε σχέση με την κανονική του διάταξη. Προκύπτουν από ενδοχρωμοσωμικό διασκελισμό. Η αναστροφή ανάλογα με την έκταση της μπορεί να έχει από πολύ μικρή επίπτωση σε έναν οργανισμό έως καταστροφική.

### Μετατοπίσεις

Οι μετατοπίσεις είναι οι μετακινήσεις χρωμοσωμικών τμημάτων από μία θέση σε μία άλλη. Αυτή η μετάλλαξη έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία μονοσωμιών ή τρισωμιών, δηλαδή δημιουργία ανώμαλων καρυότυπων.

## Γενοτυπικές μεταλλάξεις

---

Στις γενοτυπικές μεταλλάξεις έχουμε αλλαγή είτε στον αριθμό των χρωμοσωμάτων είτε στον αριθμό των χρωμοσωματικών σειρών. Στην περίπτωση αλλαγής του αριθμού των χρωμοσωμάτων η γενοτυπική μετάλλαξη ονομάζεται [ανευπλοειδία](#) ενώ στην περίπτωση αλλαγής των χρωμοσωματικών σειρών η γενοτυπική μετάλλαξη ονομάζεται [ευπλοειδία](#).

### Ανευπλοειδία

Η ανευπλοειδία είναι η μορφή γενοτυπικής μετάλλαξης στην οποία συμβαίνει αλλαγή του αριθμού των χρωμοσωμάτων. Η ανευπλοειδία έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία ανώμαλων [καρυότυπων](#) και την εκδήλωση προβλημάτων στα άτομα που τις φέρουν. Οι ανώμαλοι καρυότυποι ονομάζονται μονοσωμίες (αν έχουμε έλλειψη ενός χρωμοσώματος), τρισωμίες ή τετρασωμίες (αν έχουμε αύξηση των χρωμοσωμάτων κατά ένα ή δύο). Οι πιο χαρακτηριστικές περιπτώσεις τρισωμιών είναι το [σύνδρομο Down](#) και το [σύνδρομο Klinefelter](#), ενώ περίπτωση μονοσωμίας είναι το [σύνδρομο Turner](#).

### Ευπλοειδία

Η ευπλοειδία είναι η μορφή γενοτυπικής μετάλλαξης στην οποία συμβαίνει αλλαγή του αριθμού των χρωμοσωμικών σειρών. Διακρίνεται σε απλοειδία και σε πολυπλοειδία. Απλοειδία έχουμε όταν απουσιάζει μία χρωμοσωμική σειρά, ενώ ευπλοειδία έχουμε όταν έχουμε αύξηση των χρωμοσωμικών σειρών. Το φαινόμενο της πολυπλοειδίας είναι πιο κοινό στα φυτά και λιγότερο συνηθισμένο στα ζώα.

## [Μετάλλαξη του DNA](#)

Πριν από αρκετά χρόνια είχε δημοσιευτεί ένα εκτενέστατο άρθρο σχετικά με τις ηλεκτρομαγνητικές μεταβολές που υφίσταται η Γη και πως αυτό επηρεάζει το ανθρώπινο γονιδίωμα, βασισμένο σε βιβλίο των Grazyna Fosar και Franz Bludorf.

Σύμφωνα με το άρθρο εκείνο οι εν λόγω επιστήμονες επιβεβαίωσαν τις αλλαγές που δημιουργούνται στο ανθρώπινο DNA, μέσα από δεκάδες επιστημονικούς τομείς, και μιλούσαν για το "ξεκλείδωμα" νέων δυνατοτήτων και ιδιοτήτων στους ανθρώπους...

Τώρα ήρθε στο φως της δημοσιότητας άλλη μία επιστημονική εργασία, η οποία επιβεβαιώνει τις αλλαγές στο DNA των ανθρώπων! Οι αλλαγές ήδη συντελούνται και είναι επιστημονικά ανιχνεύσιμες! Ίσως τώρα, λίγο πριν την κορύφωση αποφασίσουν ακόμη περισσότεροι άνθρωποι να πάρουν πιο συνειδητά το δρόμο προς τη μεγάλη αλλαγή...

Η γιατρός Berrebda Fox (ολιστική θεραπεύτρια γιατρός του κέντρου Avalon Wellness στο όρος Σάστα (Mount Shasta) στην Καλιφόρνια) μας εξηγεί τις κυτταρικές αλλαγές του DNA.

Η Κλινική Avalon ξαναφέρει στην επιφάνεια την θεραπευτική ιδέα και μεθόδους όπως εφαρμόζονταν αρχικά στο νησί Avalon. Η ολιστική γιατρός απέδειξε, μέσω εργαστηριακών αναλύσεων του αίματος, πως στην πραγματικότητα υπάρχει ανάπτυξη νέων ελίκων στο DNA των ανθρώπων.

"Υπάρχουν μεγάλες αλλαγές, τροποποιήσεις και μεταλλάξεις, που με τα λεγόμενα των γενετιστών έχουν αρχίσει εδώ και πάρα πολλά χρόνια.

Πριν ένα χρόνο, στο Μεξικό, έγινε ένα συνέδριο γενετιστών από όλο τον κόσμο, με αρχικό θέμα « η αλλαγή του DNA». Ζούμε μια επαναστατική αλλαγή, παρόλα αυτά δεν γνωρίζουμε σε τι πραγματικά αλλάζουμε.

Ο κάθε ένας από εμάς έχει μια διπλή έλικα DNA. Εκείνο το οποίο βλέπουμε να συμβαίνει είναι πως σχηματίζονται και άλλες έλικες. Στην διπλή έλικα υπάρχουν δύο αλυσίδες ή νήματα σε σχήμα σπείρας, εκείνο που κατανοώ είναι πως θα αναπτυχθούν 12 έλικες. Αυτό το φαινόμενο φαίνεται πως άρχισε πριν 5-10 χρόνια. ΟΝΤΩΣ ΜΕΤΑΛΛΑΣΟΜΕΘΑ – ΑΛΛΑΖΟΥΜΕ! Αυτή είναι η επιστημονική εξήγηση! Πρόκειται για μια μετάλλαξη – αλλαγή του είδους μας προς κάτι που ακόμα μας είναι άγνωστο. Οι αλλαγές αυτές ακόμη δεν έχουν

δημοσιευθεί γιατί ή επιστημονική κοινότητα πιστεύει πως αυτό θα τάραζε τον πληθυσμό. Παρομοίως αλλάζουν και τα κύτταρα μας. Αυτή την συγκεκριμένη στιγμή εργάζομαι με τρία παιδιά που έχουν 3 έλικες στο DNA τους. Παιδιά που μπορούν να μετακινήσουν αντικείμενα με την σκέψη ή ακόμα και να πάρουν ένα ποτήρι νερό κοιτάζοντας το μονάχα, πρόκειται για τηλεπαθητικά παιδιά. Κοιτάζοντας τα μπορείς να σκεφτείς πως πρόκειται για υπεράνθρωπους ή κατά κάποιον τρόπο αγγελικά όντα, αλλά δεν είναι έτσι, κατά την ταπεινή μου γνώμη έτσι θα είμαστε και εμείς στις επόμενες δεκαετίες.

Ήδη πολλές θρησκείες έχουν μιλήσει για αυτές τις αλλαγές και γνωρίζουμε πως αυτό θα γίνει με κάποιον τρόπο. Γνωρίζουμε πως πρόκειται για μια θετική μετάλλαξη – αλλαγή, τόσο σωματική όσο και νοητική και συναισθηματική και αυτό μπορεί να παρεξηγηθεί και να προκαλέσει και ανησυχία ακόμη..

Το μεγαλύτερο ποσοστό του πληθυσμού που γεννήθηκε πριν το 1940 δεν είναι ικανό να πραγματοποιήσει αυτή την μετάλλαξη – αλλαγή, όμως οι επόμενες γενιές κάτι άρχισαν που τους δίνει την ικανότητα και δυνατότητα να σχηματίζουν μια επιπλέον έλικα κατά την διάρκεια της ζωής τους.

Τα συστήματά μας – ανοσοποιητικό και ενδοκρινολογικό – παρουσιάζουν πολλά σημεία αυτής της αλλαγής. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο εργάζομαι στον ερευνητικό τομέα με αποδείξεις και θεραπείες. Μερικοί ενήλικες που εξέτασα και μελέτησα έχουν αρχίσει να σχηματίζουν μια νέα έλικα, άλλοι έχουν ήδη την Τρίτη. Αυτά τα άτομα ζουν πολλές αλλαγές στο σώμα τους και στην συνειδητότητά τους, που οφείλονται στο γεγονός πως όλα είναι ΕΝΑ. Η γνώμη μου είναι πως η Γη και οι κάτοικοι της ανεβάζουν την δόνησή τους. Πολλοί που γεννήθηκαν τελευταία έχουν φωτεινά σώματα. Οι πιο παλιοί που διαλέγουν να αλλάξουν πρέπει να περάσουν μέσα από πολλές φυσικές αλλαγές.

Η πιο εύκολη μορφή της μετάλλαξης – αλλαγής του DNA είναι μέσω ενός ιού. Συνεπώς οι ιοί δεν είναι πάντα κακοί. Οι ιοί ζουν πάνω σε ένα ζωντανό ιστό, οι ονομαζόμενοι ιοί DNA όπως είναι ο ιός του Epstein Barr και ο ιός Herpes 6.

Σχεδόν όλα τα άτομα που ζουν ένα τέτοιο φαινόμενο μετάλλαξης και που είναι ζωντανά ή έχουν μια καινούργια δουλειά ή έχουν ένα καινούργιο τρόπο που σκέφτονται ή αρχίζουν μια καινούργια ζωή.

Παρόλο που μπορεί να αισθανθούν σαν άρρωστοι ή απελπισμένοι, αυτό όμως είναι ένα μεγάλο δώρο, τους δόθηκε η δυνατότητα να αλλάξουν την δομή του DNA και του σώματος με μια δομή πιο φωτεινή και περισσότερο υγιή, που θα τους επιτρέψει να ζήσουν τις επόμενες γενιές. Κατά την γνώμη μου, πάντα, αυτό το φαινόμενο θα ολοκληρωθεί πριν το 2012.

Τα παλιά συστήματα θα πρέπει να καταρρεύσουν εάν θέλουμε να δούμε να γεννιέται κάτι νέο : μέχρι τώρα βλέπουμε πολέμους, συστήματα πολιτικό- οικονομικό και υγείας που δεν λειτουργούν...

Πολλά παλιά πρότυπα δεν πρέπει πια να υπάρχουν.

Όλοι εκείνοι που διάλεξαν να ζήσουν σε αυτή την συγκεκριμένη στιγμή, είναι οι πρόδρομοι του νέου είδους.

Βρισκόμαστε στην εποχή της αποκάλυψης και εμφάνισης του ουρανού πάνω στην γη. Δεχόμαστε βοήθειες από εκείνους που άλλοι αποκαλούν Δασκάλους, άλλοι εξωγήινους, άλλοι, αγγελικές οντότητες ....

Όλοι μαζί ενωμένοι θα είμαστε ικανοί να ακούσουμε την εσωτερική φωνή των ουρανών, όλοι μαζί ενωμένοι θα είμαστε συντονισμένοι με τις αλλαγές που έρχονται.

## Μεταλλάξεις του ιού HIV

Οι μεταλλάξεις του ιού HIV προκαλούν ανοχή σε διάφορα αντιρετροϊκά φάρμακα ή και σε ολόκληρες κατηγορίες αντιρετροϊκών φαρμάκων, ανάλογα με την θέση στην οποία εμφανίζονται πάνω στο γονίδιο της αντίστροφης μεταγραφάσης. Οι μεταλλάξεις αποκαλύπτονται με το γονοτυπικό έλεγχο που γίνεται πριν την έναρξη της θεραπείας ή πριν την αλλαγή της θεραπείας.

## ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ RAS ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΟΥ ΑΠΟ ΑΛΚΥΛΙΩΤΙΚΟΥΣ ΚΑΡΚΙΝΟΓΟΝΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η Ο6-ΜΕΘΥΛΟΓΟΥΑΝΙΝΗ, ΠΡΟΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΟΝΟΣ ΚΑΙ ΠΡΟΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΒΛΑΒΗ Η ΟΠΟΙΑ ΕΠΑΓΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΜΕΘΥΛΙΩΤΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ, ΕΙΣΗΧΘΗ ΣΕ ΚΡΙΣΙΜΕΣ ΘΕΣΕΙΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΠΡΩΤΟ-ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΟΥ HA-RAS1 (ΚΩΔΙΚΟΝΙΑ 12,13) ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗΘΗΚΕ Η ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΕ Ε. COLI ΚΥΤΤΑΡΑ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗΣ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ: 1) Η Ο6- ΜΕΘΥΛΟΓΟΥΑΝΙΝΗ ΕΠΗΓΕ ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΑ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ G-> A, 2) Η ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΕΝΕΣΗΣ ΣΕ ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΕΛΑΤΤΩΜΑΤΙΚΑ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΛΑΝΘΑΣΜΕΝΩΝ ΖΕΥΓΩΝ ΒΑΣΕΩΝ ΕΙΝΑΙ ΔΙΠΛΑΣΙΑ ΤΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΠΟΥ ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΣΕ ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΑΓΡΙΟΥ ΤΥΠΟΥ, ΠΡΑΓΜΑ ΠΟΥ ΣΗΜΑΙΝΕΙ ΟΤΙ Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΛΑΝΘΑΣΜΕΝΩΝ ΖΕΥΓΑΡΙΩΝ ΒΑΣΕΩΝ ΠΟΥ ΚΑΤΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ, ΣΥΝΕΙΣΦΕΡΕΙ ΕΜΜΕΣΑ ΣΤΗ ΜΕΙΩΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΕΝΕΣΗΣ ΑΠΟ ΤΗΝ Ο6ΜΕΓ. ΕΜΜΕΣΑ ΓΙΑΤΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΝΕΙ ΤΑ ΕΝΔΙΑΜΕΣΑ ΖΕΥΓΗ G:T ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΠΟΜΕΘΥΛΙΩΣΗ ΖΕΥΓΩΝ Ο6ΜΕΓ:T, 3) ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΕΛΛΕΙΠΗ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΑΛΚΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗ ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΕΝΕΣΗΣ, ΠΡΑΓΜΑ ΠΟΥ ΑΝΑΔΕΙΚΝΥΕΙ ΤΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ ΡΟΛΟ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΣΤΗΝ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΤΟΥΣΥΜΠΛΟΚΟΥ (Ο6ΜΕΓ). ΤΕΛΟΣ, Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΦΑΙΡΕΤΙΚΗΣ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΑΠΟΔΕΙΚΝΥΕΤΑΙ ΝΑ ΕΧΕΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ, ΥΠΟ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΥΣΙΑΣΤΗΣ ΑΛΚΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ, ΚΑΙ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΛΑΝΘΑΣΜΕΝΩΝ ΖΕΥΓΩΝ ΒΑΣΕΩΝ.

## Επιγενετικοί δείκτες και ρυθμιστές σε βλαστικά και διαφοροποιημένα κύτταρα: ανάλυση μεταλλαγμένων στελεχών ποντικού που φέρουν τη μετάλλαξη icj στον LBR

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εστιάζεται στη μελέτη ποντικών οι οποίοι φέρουν, σε ετερόζυγη ή ομόζυγη μορφή, μία μετάλλαξη στον υποδοχέα της λαμίνης Β (LBR). Οι πειραματικές προσεγγίσεις που χρησιμοποιήθηκαν κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες: α) μορφολογική ανάλυση διαφόρων ιστών και κυττάρων, β) βιοχημική ανάλυση πυρηνικών πρωτεϊνών και γ) ανάλυση του προτύπου έκφρασης σε επίπεδο γονιδιώματος. Αρχικά, μελετήθηκαν οι ακόλουθοι ιστοί σε τομές παραφίνης: δέρμα, σπλήνας, λεπτό έντερο, παχύ έντερο, στόμαχος, ήπαρ, νεφροί, εγκέφαλος, καρδιά και πνεύμονες. Ταυτόχρονα, πραγματοποιήθηκαν ανοσοϊστοχημικές χρώσεις σε τομές παραφίνης, κρυστο-τομές, ή επιχρίσματα (απομονωμένα σπληνοκύτταρα) χρησιμοποιώντας αντισώματα που αναγνωρίζουν τις πυρηνικές λαμίνες, τον LBR, ή τις κερατίνες 8 και 19. Τέλος, μελετήθηκε η ικανότητα των T-λεμφοκυττάρων να μεταβαίνουν από τη φάση ηρεμίας (G0) σε φάση κυτταρικού πολλαπλασιασμού, μετά από ειδική επαγωγή με PHA. Τα πειράματα αυτά έδειξαν ότι η αρχιτεκτονική των περισσότερων ιστών και η κατανομή των πρωτεϊνών που εξετάστηκαν δεν έχουν επηρεαστεί από τη μετάλλαξη στον LBR. Παρόλα ταύτα, από τη μορφολογική μελέτη προέκυψαν ενδείξεις ότι η αλωπεκία που παρατηρείται στα ομόζυγα ζώα οφείλεται σε εκλεκτική υπερπλασία της κεράτινης στοιβάδας της επιδερμίδας, ενώ η καχεξία που τελικά



οδηγεί στον θάνατο μπορεί να συσχετίζεται με βλάβες του εντερικού επιθηλίου. Αυτή η υπόθεση βασίζεται στο γεγονός ότι το επιθήλιο του λεπτού εντέρου στα ομόζυγα ποντίκια χαρακτηρίζεται από την παρουσία συσσωματωμάτων χρωματίνης στον πυρηνικό φάκελο που εμφανίζουν έναν ενδιαφέροντα «μωσαϊκό» φαινότυπο. Η μορφολογική ανάλυση που πραγματοποιήσαμε συμπληρώθηκε με βιοχημική ανάλυση των μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων στις ιστόνες H3 και H2A με φασματοσκοπίας μάζας. Επίσης, πραγματοποιήθηκαν πειράματα συγκατακρήμνισης χρωματίνης χρησιμοποιώντας ως «δόλωμα» τις τρεις ισομορφές της ετεροχρωματινικής πρωτεΐνης HP1 και τον LBR. Τα παραπάνω πειράματα δεν αποκάλυψαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα αγρίου τύπου και τα μεταλλαγμένα ζώα. Τα παραπάνω δεδομένα, σε συνδυασμό με τον καχεκτικό φαινότυπο των ομόζυγων ζώων, έκαναν απαραίτητη τη χρήση της τεχνολογίας μικροσυστοιχιών DNA, ώστε να εξεταστεί η αλλαγή στο πρότυπο έκφρασης των γονιδίων που εκφράζονται στο λεπτό έντερο. Η ανάλυση αυτού του τύπου αποκάλυψε 149 γονίδια-στόχους των οποίων η μεταγραφική δράση είναι σημαντικά διαφορετική στα ομόζυγα ζώα. Πολλά από αυτά τα γονίδια αντιστοιχούν σε μεταγραφικούς παράγοντες, ενώ άλλα σχετίζονται (άμεσα ή έμμεσα) με την πρόσληψη και απορρόφηση θρεπτικών υλών. Τα γονίδια Smad3 και Bmf1 παρουσίασαν αύξηση των επιπέδων του RNA τους και αυτό επιβεβαιώθηκε με τη χρήση ποσοτικής PCR. Με τον ίδιο τρόπο μελετήθηκαν τα επίπεδα μεταγραφής των γονιδίων Areg, Reg3b/Pap, Vimentin και I-FABP2. Από τη μελέτη μας συμπεραίνεται ότι ο LBR διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο μεταγραφικό έλεγχο συγκεκριμένων γονιδίων, άποψη που συμφωνεί με αποτελέσματα που έχουν δημοσιευθεί στην πρόσφατη βιβλιογραφία.

### **Αναστολή της ενεργοποιημένης κινάσης της τυροσίνης JAK2 λόγω της σημειακής μετάλλαξης V617F στα Χρόνια Μυελοϋπερπλαστικά Σύνδρομα**

Τα Χρόνια Μυελοϋπερπλαστικά Σύνδρομα (ΧΜΥΣ) ή Χρόνια Μυελοϋπερπλαστικά Νεοπλάσματα (ΧΜΥΝ) είναι κλωνικές διαταραχές που χαρακτηρίζονται από τον άμετρο, αναίτιο και άσκοπο πολλαπλασιασμό μιας ή περισσοτέρων αιμοποιητικών σειρών. Οφείλονται σε μετασχηματισμό των αντίστοιχων πολυδύναμων αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων και περιλαμβάνουν την Χρόνια Μυελογενή Λευχαιμία (ΧΜΛ), την Αληθή Πολυκυτταραιμία (ΑΠ), την Ιδιοπαθή θρομβοκυτταραιμία (ΙΘ), και την Ιδιοπαθή Μυελοσκλήρυνση (ΙΜ). Σύμφωνα με το Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, στη κατηγορία των μυελοϋπερπλαστικών διαταραχών περιλαμβάνονται επίσης η Χρόνια Ηωσινοφιλική Λευχαιμία (Chronic Eosinophilic Leukemia, CEL), το Ιδιοπαθές Υπερηωσινοφιλικό Σύνδρομο (Idiopathic Hypereosinophilic Syndrome, HES) και η Χρόνια Ουδετεροφιλική Λευχαιμία. Τα Χρόνια Μυελοϋπερπλαστικά Σύνδρομα (ΧΜΥΣ) ή Χρόνια Μυελοϋπερπλαστικά Νεοπλάσματα (ΧΜΥΝ) χαρακτηρίζονται από την αναγνώριση το 2005 της μετάλλαξης V617F στο γονίδιο JAK2. Η σημειακή μετάλλαξη V617F εντοπίζεται στο εξόνιο 14 του γονιδίου JAK2, όπου η βαλίνη αντικαθίσταται, σε επίπεδο πρωτεΐνης, από φαινυλαλίνη ως αποτέλεσμα της μετάλλαξης της γουανίνης σε θυμίνη σε

επίπεδο DNA. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη ρυθμιστική περιοχή JH2 του γονιδίου JAK2 και βρέθηκε σε ποσοστό 90% σε ασθενείς με ΑΠ και, σε μικρότερα ποσοστά, σε ασθενείς με IM (50%) και ΙΘ (60%). Σκοπός της μελέτης, είναι η ανίχνευση της μετάλλαξης V617F του γονιδίου JAK2 και η μελέτη του κλινικού φαινότυπου των ασθενών με την μετάλλαξη. Επίσης γίνεται ποσοτικός προσδιορισμός των μεταλλαγμένων αλληλομόρφων V617F σε ασθενείς με ΧΜΥΣ και συσχέτιση αυτών με τα αιματολογικά χαρακτηριστικά τους. Στόχος είναι να οριστεί το "φορτίο μοριακής νόσου" όλων των ασθενών με ΧΜΥΣ 16 και κυρίως των ασθενών με ΑΠ κατά την διάρκεια της θεραπείας τους με το φαρμακευτικό σκευάσμα της ιντερφερόνης (peg-IFNα-2a). Ένας άλλος στόχος της μελέτης αυτής, είναι η ανίχνευση των μεταλλάξεων στο εξόνιο 12 του γονιδίου JAK2 σε ασθενείς με ΑΠ και η ανίχνευση των μεταλλάξεων του υποδοχέα της θρομβοποιητίνης (MPL) σε ασθενείς με ΙΘ και IM, που είναι αρνητικοί για την μετάλλαξη JAK2V617F. Για το λόγο αυτό μελετήσαμε ασθενείς με ΧΜΥΣ. Σε αυτούς τους ασθενείς έγινε ανίχνευση της μετάλλαξης JAK2V617F. Η ανίχνευση της μετάλλαξης έγινε με την μέθοδο Amplification Refractory Mutation System-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) σε δείγματα DNA ασθενών, που είχαν απομονωθεί από περιφερικό αίμα. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της μετάλλαξης JAK2V617F έγινε σε δείγματα αίματος ή μυελού με το Πρόγραμμα Ανάλυσης Εικόνας (Image quant software). Με τον τρόπο αυτό προσδιορίζεται η οπτική πυκνότητα της ζώνης του μεταλλαγμένου, του φυσιολογικού αλληλομόρφου JAK2 και της ζώνης αναφοράς. Το ποσοστό των μεταλλαγμένων αλληλομόρφων JAK2 υπολογίζεται με βάση πρότυπες καμπύλες που κατασκευάζονται με μαθηματική προσέγγιση από DNA που απομονώθηκε από περιφερικό αίμα ασθενούς (αρνητική στην μετάλλαξη JAK2V617F) και από την κυτταρική σειρά HEL που χαρακτηρίζεται από την μετάλλαξη JAK2V617F. Τα αποτελέσματα της μελέτης συνοψίζονται ως εξής: B1. Ανίχνευση της μετάλλαξης JAK2V617F σε ασθενείς με ΑΠ, ΙΘ και IM. Μελετήθηκαν 1378 ασθενείς, οι οποίοι πληρούσαν τα κριτήρια WHO για την κατάταξή τους σε ΑΠ, ΙΘ και IM. Διαπιστώθηκαν 968 ασθενείς θετικοί και 410 ασθενείς αρνητικοί για την μετάλλαξη, με την ακόλουθη κατανομή: ΑΠ 434/480 (90.5%), ΙΘ 525/880 (60%) και IM 9/18 (50%). Το ποσοστό των ασθενών χωρίς την μετάλλαξη JAK2V617F είναι: ΑΠ 46/480 (9.5%), ΙΘ 355/880(40%) και IM 9/18 (50%). Συγκεκριμένα: B2. Ποσοτική ανάλυση του ποσοστού των μεταλλαγμένων αλληλομόρφων JAK2V617F για τους ασθενείς με ΑΠ, ΙΘ και IM. Το ποσοστό του μεταλλαγμένου γονιδίου JAK2V617F μελετήθηκε σε 87 ασθενείς με ΑΠ, 50 ασθενείς με ΙΘ και 9 ασθενείς με IM. Το ποσοστό των αλληλομόρφων JAK2V617F ήταν σαφώς υψηλότερο στην ομάδα ΑΠ και εξαιρετικά υψηλό στην ομάδα IM. B3. Σύγκριση των αιματολογικών παραμέτρων σε ασθενείς με ΑΠ και IM θετικούς ή αρνητικούς για την μετάλλαξη JAK2V617F Από το σύνολο των 434 ασθενών με ΑΠ, μελετήθηκαν συγκριτικά 43 δείγματα θετικά και 34 δείγματα αρνητικά για την μετάλλαξη JAK2V617F. Από την ομάδα των ασθενών με ΙΘ μελετήθηκαν 105 δείγματα θετικά και 71 αρνητικά για την μετάλλαξη, ενώ από τους ασθενείς με IM μελετήθηκαν 9 θετικά και 9 αρνητικά για την μετάλλαξη JAK2V617F δείγματα. Ευρήματα : Στην ομάδα ΑΠ δεν αναδείχθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ (+) και (-) ασθενών όσον αφορά τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης. Αντίθετα, στους (+) ασθενείς τα επίπεδα λευκών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων είναι σαφώς

υψηλότερα των αντίστοιχων επιπέδων στους (-) ασθενείς. Στην ομάδα ΙΘ όλες οι αιματολογικές παράμετροι ήταν σαφώς υψηλότερες στην ομάδα JAK2V617F (+) σε σχέση με αυτές της ομάδας JAK2V617F (-). Οι διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές. Στην ομάδα IM δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων, ο αριθμός όμως είναι μικρός για να οδηγήσει σε σαφή συμπεράσματα. B4. “Φορτίο νόσου” (ποσοστό μεταλλαγμένων αλληλομόρφων του γονιδίου JAK2) στα μελετηθέντα ΧΜΚΥΣ Μελετήθηκαν 38 ασθενείς με ΑΠ, 50 ασθενείς με ΙΘ και 9 ασθενείς με IM. Όλοι πληρούσαν τα κριτήρια διάγνωσης του WHO και, εξ’ ορισμού, όλοι ήταν θετικοί για την μετάλλαξη JAK2V617F, Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο ότι, παρά την μεγάλη διακύμανση, οι μέσες και διάμεσες τιμές του φορτίου νόσου ήταν μεγαλύτερες του 50%. B5. Συσχέτιση των αιματολογικών παραμέτρων με το ποσοστό των μεταλλαγμένων αλληλομόρφων JAK2V617F σε κάθε κατηγορία ασθενών Ευρήματα : Στην ομάδα ΑΠ το φορτίο νόσου σχετίζεται θετικά ( $p < 0.01$ ) με τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης, αιματοκρίτη, λευκών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων. Στην ομάδα ΙΘ η συσχέτιση αυτή είναι αμβλύτερη (τιμές  $p$  0.02 έως 0.050), ενώ Στην ομάδα IM δεν υπήρχε τέτοια συσχέτιση, αν και ο αριθμός των δειγμάτων ήταν πολύ μικρός. B6. Διερεύνηση μεταλλάξεων στο εξόνιο 12 του γονιδίου JAK2 σε ασθενείς με ΑΠ που είναι αρνητικοί για την μετάλλαξη JAK2V617F. 17 Από το σύνολο των 46 ασθενών με ΑΠ, οι οποίοι ήσαν αρνητικοί για την μετάλλαξη JAK2V617F, 34 ασθενείς υποβλήθηκαν σε πλήρη έλεγχο για την παρουσία των μεταλλάξεων N542-E543del, F537- K539delinsL, H538QK539L, και K539L. Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική Allele Specific PCR. Διαπιστώθηκαν 5 ασθενείς που έφεραν μεταλλάξεις στο εξόνιο 12 του γονιδίου JAK2 (14,7%), και συγκεκριμένα 4 φορές η μετάλλαξη N542-E543del (ποσοστό 10,8% ), 1 φορά (ποσοστό 2.1%) η μετάλλαξη H538QK539L και 1 φορά (ποσοστό 2.1%) η μετάλλαξη K539L. Η μετάλλαξη F537- K539delinsL δεν ανιχνεύθηκε σε κανέναν ασθενή. Συσχέτιση αποτελεσμάτων με τον κλινικό φαινότυπο των ασθενών : Τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης και αιματοκρίτη είναι σαφώς αυξημένα όπως αναμένεται. Αντίθετα, 3 ασθενείς εμφανίζουν λευκοκυττάρωση και 2 θρομβοκυττάρωση που δεν αναμένονται σύμφωνα με την προσιτή βιβλιογραφία. B6.1. Σύγκριση του κλινικού φαινοτύπου ασθενών με τις μεταλλάξεις στο εξόνιο 12 του γονιδίου JAK2 με ασθενείς που είναι θετικοί στην μετάλλαξη JAK2V617F και με ασθενείς που ήταν αρνητικοί και για τις δυο μεταλλάξεις. Διαπιστώσαμε ότι οι ασθενείς με τις μεταλλάξεις στο εξόνιο 12 του γονιδίου JAK2 χαρακτηρίζονται κυρίως από αυξημένα επίπεδα αιματοκρίτη, αιμοσφαιρίνης και λευκών αιμοσφαιρίων σε σχέση με τους ΑΠ ασθενείς που είναι θετικοί της μετάλλαξης JAK2V617F και με τους ασθενείς που είναι αρνητικοί των μεταλλάξεων. Αντίθετα τα επίπεδα των αιμοπεταλίων των ασθενών με τις μεταλλάξεις στο εξόνιο 12 του γονιδίου JAK2 είναι πιο χαμηλά από τους ασθενείς με την μετάλλαξη JAK2V617F και πιο υψηλά από τους αρνητικούς ασθενείς. B7. Διερεύνηση μεταλλάξεων στο γονίδιο MPL σε ασθενείς με ΙΘ και IM που είναι αρνητικοί για την μετάλλαξη JAK2V617F 355 ασθενείς με ΙΘ και 9 ασθενείς IM αρνητικοί για την μετάλλαξη JAK2V617F ελέγχθηκαν με την τεχνική Allele Specific PCR για τις μεταλλάξεις W515L και W515K του γονιδίου MPL (υποδοχέας θρομβοποιητίνης). 24 ασθενείς (23 με ΙΘ και 1 με IM) (6,5% συνολικά) αποδείχθηκαν φορείς τέτοιων μεταλλάξεων. Ειδικότερα, αναγνωρίστηκαν : η

μετάλλαξη W515L σε ποσοστό 5,4% (20/364) και η μετάλλαξη W515K σε ποσοστό 1,09% (4/364). B7.1. Σύγκριση του κλινικού φαινοτύπου ασθενών με τις μεταλλάξεις στον υποδοχέα της θρομβοποιητίνης W515K/W515L με ασθενείς με την μετάλλαξη JAK2V617F και με ασθενείς που ήταν αρνητικοί και για τις δυο μεταλλάξεις. Η σύγκριση κλινικού φαινοτύπου ασθενών της πρώτης και της τρίτης ομάδας διαπιστώνει ότι η πρώτη ομάδα έχει αυξημένα επίπεδα λευκών αιμοσφαιρίων και αιμοσφαιρίνης, ενώ τα επίπεδα των αιμοπεταλίων δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Η σύγκριση κλινικού φαινοτύπου ασθενών της πρώτης και της δεύτερης ομάδας διαπιστώνει ότι ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων, τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης και τα επίπεδα των αιμοπεταλίων της πρώτης ομάδας είναι χαμηλά. Επίσης παρατηρείται ότι η αύξηση της ηλικίας είναι μεγαλύτερη στους ασθενείς με τις μεταλλάξεις του υποδοχέα της θρομβοποιητίνης από τους ασθενείς με την μετάλλαξη JAK2V617F και από τους ασθενείς που είναι αρνητικοί και για τις δυο μεταλλάξεις. Στην σύγκριση κλινικού φαινοτύπου ασθενών της δεύτερης και της τρίτης ομάδας διαπιστώσαμε αύξηση των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης, του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων, στατιστικά σημαντική στους ασθενείς με την μετάλλαξη JAK2V617F. B8. Παρακολούθηση των επιπέδων του μεταλλαγμένου γονιδίου JAK2V617F κατά την διάρκεια της θεραπείας ασθενών με ΑΠ με υδροξουρία και α-ιντερφερόνη Μελετήθηκε η δράση της υδροξουρίας όσον αφορά την μείωση του φορτίου μοριακής νόσου σε κυτταρικές σειρές K562 (αλληλόμορφα αρνητικά για την μετάλλαξη JAK2V617F) και HEL (μεταλλαγμένα αλληλόμορφα- V617F σε ομοζυγωτία) καθώς και στο περιφερικό αίμα ασθενών με ΑΠ θετική για την μετάλλαξη JAK2V617F που έπαιρναν το φάρμακο. Μείωση του φορτίου μοριακής νόσου δεν παρατηρήθηκε σε κανένα από τα παραπάνω πειράματα. Αντίθετα, η χορήγηση α-ιντερφερόνης σε ασθενείς με αληθή πολυκυτταραιμία ακολουθήθηκε, συνήθως μετά δίμηνο, από προοδευτική σαφή μείωση του φορτίου μοριακής νόσου. Σε αρκετές περιπτώσεις η μείωση ήταν τόσο σημαντική, ώστε το φορτίο νόσου να μην ανιχνεύεται (μοριακή “ύφεση”). Τα επίπεδα του γονιδίου JAK2V617F παρέμειναν χαμηλά επί αρκετούς μήνες μετά την διακοπή του φαρμάκου, έπειτα όμως αυξήθηκαν μαζί με την αύξηση του αιματοκρίτη.

## Η σημασία των μεταλλάξεων του γονιδίου της φωσφολαμβάνης στην εκδήλωση διατακτικής μυοκαρδιοπάθειας

Σκοπός: Η διατακτική μυοκαρδιοπάθεια εμφανίζει σε σημαντικό βαθμό οικογενή χαρακτήρα. Μια σειρά μεταλλάξεων σε γονίδια πρωτεϊνών που εμφανίζουν σημαντικό ρόλο στην δομή και στην λειτουργία του μυοκαρδιακού κυττάρου έχει βρεθεί ότι μπορούν να οδηγήσουν στην εκδήλωση της νόσου. Η φωσφολαμβάνη αποτελεί μια πρωτεΐνη που ρυθμίζει την διακίνηση του ασβεστίου του μυοκαρδιακού κυττάρου και έχει ιδιαίτερη σημασία για την φυσιολογική λειτουργία του. Σκοπός της μελέτης ήταν να διερευνηθεί συσχέτιση μεταλλάξεων του γονιδίου της φωσφολαμβάνης με την εκδήλωση διατακτικής μυοκαρδιοπάθειας, και να μελετηθεί η ακριβής φαινοτυπική έκφραση τους. Μέθοδος-Αποτελέσματα: Σε 112 ασθενείς με διατακτική

μυοκαρδιοπάθεια (29 γυναίκες και 83 άνδρες, ηλικία:  $49 \pm 13$  έτη, κλάσμα εξωθήσεως αριστερής κοιλίας:  $29 \pm 8\%$ ) έγινε χαρτογράφηση του γονιδίου της φωσφολαμβάνης. Εντοπίστηκαν 2 μεταλλάξεις η L39stop και η R14del του γονιδίου της φωσφολαμβάνης. Η μετάλλαξη L39stop οδηγεί στο σχηματισμό ενός μικρότερου μή λειτουργικού πεπτιδίου, ενώ η μετάλλαξη R14del (deletion) οδηγεί σε εξάλειψη του αμινοξέος αργινίνη στη θέση 14 της φωσφολαμβάνης, με αποτέλεσμα η παραγόμενη πρωτεΐνη να έχει αυξημένη δραστηριότητα. Η μετάλλαξη L39stop εντοπίστηκε σε 2 ασθενείς (1 ετεροζυγώτης και 1 ομοζυγώτης) και η μετάλλαξη R14del σε 1 ασθενή (ετεροζυγώτης). Σε όσους ασθενείς εντοπίστηκε μετάλλαξη, μελετήθηκαν τα μέλη των αντίστοιχων οικογενειακών δέντρων με διερεύνηση της μετάλλαξης, ηχοκαρδιογραφική μελέτη και 24ωρη καταγραφή ΗΚΓ φήματος. Από τη μελέτη 19 μελών του οικογενειακού δέντρου του L39stop ετεροζυγώτου ασθενούς διαπιστώθηκαν 2 ακόμη ασθενείς με διατακτική μυοκαρδιοπάθεια που βρέθηκαν επίσης ετεροζυγώτες για την μετάλλαξη L39stop του γονιδίου της φωσφολαμβάνης. Από τη μελέτη 30 μελών του οικογενειακού δέντρου της L39stop ομοζυγώτου ασθενούς διαπιστώθηκε 1 ακόμη ασθενής με διατακτική μυοκαρδιοπάθεια που βρέθηκε επίσης ομοζυγώτης για την μετάλλαξη L39stop του γονιδίου της φωσφολαμβάνης. Από τη μελέτη 27 μελών του οικογενειακού δέντρου του R14del ετεροζυγώτου ασθενούς διαπιστώθηκαν 5 ακόμη ασθενείς με διατακτική μυοκαρδιοπάθεια που βρέθηκαν επίσης ετεροζυγώτες για την μετάλλαξη R14del του γονιδίου της φωσφολαμβάνης. Η μέση τιμή της τελοδιαστολικής διαμέτρου και του κλάσματος εξωθήσεως της αριστερής κοιλίας των ασθενών όπου υπεύθυνη ήταν η μετάλλαξη L39stop βρέθηκαν  $65 \pm 2$  mm και  $28 \pm 5\%$  αντίστοιχα. Στους ασθενείς με τη μετάλλαξη R14del η μέση τιμή της τελοδιαστολικής διαμέτρου βρέθηκε  $55 \pm 2$  mm (μικρότερη σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο από τους ασθενείς με L39stop μετάλλαξη  $p < 0.01$ ) και η μέση τιμή του κλάσματος εξωθήσεως της αριστερής κοιλίας βρέθηκε  $42 \pm 10\%$  (μεγαλύτερο σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο από τους ασθενείς με L39stop μετάλλαξη  $p < 0.05$ ). Δύο από τους ασθενείς με R14del μετάλλαξη είχαν εμφανίσει επεισόδια εμμένουσας κοιλιακής ταχυκαρδίας και είχε εμφυτευθεί απινιδωτής, ενώ σε 1 ακόμη ασθενή με R14del μετάλλαξη είχαν καταγραφεί επεισόδια μη εμμένουσας κοιλιακής ταχυκαρδίας, συγκριτικά με την απουσία καταγραφής επεισοδίων κοιλιακής ταχυκαρδίας στους ασθενείς με την μετάλλαξη L39stop του γονιδίου της φωσφολαμβάνης. Συμπεράσματα: Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης τεκμηριώθηκε για πρώτη φορά η συσχέτιση μεταλλάξεων του γονιδίου της φωσφολαμβάνης με την εκδήλωση διατακτικής μυοκαρδιοπάθειας. Διαπιστώθηκε ότι η μετάλλαξη L39stop εκδηλώνεται με σοβαρού βαθμού διάταση και σοβαρού βαθμού ελάττωση του κλάσματος εξωθήσεως της αριστερής κοιλίας χωρίς επεισόδια κοιλιακής ταχυκαρδίας, συγκριτικά με την R14del μετάλλαξη που εκδηλώνεται με μετρίου βαθμού διάταση και μετρίου βαθμού ελάττωση του κλάσματος εξωθήσεως της αριστερής κοιλίας συνοδευμένα από επεισόδια κοιλιακής ταχυκαρδίας.

**ΠΗΓΕΣ**

SCHOOL BIOLOGY

ΒΙΚΙΠΑΙΔΕΙΑ

ΕΓΚΥΚΛΟΠΑΙΔΕΙΑ < ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ >







