

# Εξατομικευμένη Ιατρική

- Εξατομικευμένη Θεραπεία και Μεταμοσχεύσεις
  - Διαγνωστική Μεμονωμένων Κυττάρων
- Παρουσίαση Εργαστηρίου Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας





## ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

### ΕΚΔΟΤΗΣ

**Γεώργιος Π. Πατρinός**

*Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΦΕΘ, Πάτρα*

### ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Γεράσιμος Βουτσινάς**

*Ερευνητής Α', Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών «Δημόκριτος»  
Ινστιτούτο Βιοεπιστημών και Εφαρμογών, Αθήνα*

**Θεοδώρα Κατσιλά**

*Ερευνήτρια Γ', Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Αθήνα*

**Ιωάννα Μαρουλάκου**

*Καθηγήτρια, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Αλεξανδρούπολη*

**Σωτηρία Μπουκουβάλα**

*Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,  
Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Αλεξανδρούπολη*

**Αδαμαντία Παπαχατζοπούλου**

*Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Ιατρικής, Πάτρα*

**Δέσποινα Σανούδου**

*Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Αθήνα*

**Αργυρώ Σγουρού**

*Επίκουρη Καθηγήτρια, Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο, Τμήμα Βιολογίας, Πάτρα*

**Γεώργιος Σπυρούλιας**

*Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πάτρα*

**Μαρία Σύρρου**

*Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Τμήμα Ιατρικής, Ιωάννινα*

**Μαρία Τζέτη**

*Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Αθήνα*

**Ασπασία Τσέζου**

*Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, Λάρισα*

### ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΣΥΝΤΑΞΗΣ

**Μανούσος Ε. Καμπούρης**

*Ερευνητής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πάτρα*



[www.permed.gr](http://www.permed.gr)



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

2 - 3 **ΑΠΟ ΤΟΝ ΕΚΔΟΤΗ**

4 - 5 **ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΝΕΑ**

6 - 10 **ΑΡΘΡΟ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗΣ**

**Εξατομίκευση της θεραπείας στην κλινική πρακτική των μεταμοσχεύσεων**

Ευφροσύνη Μενδρινού, Μανούσος Ε. Καμπούρης, Γεώργιος Π. Πατρινός

11 - 16 **ΑΡΘΡΟ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗΣ**

**Γενετική ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων: Εφαρμογές, Προκλήσεις και Προοπτικές**

Αναστασία Μελισσαράτου, Γεώργιος Μηλίτσης, Αλέξανδρος Περβανίδης, Δημήτριος Προβίδας, Αθανάσιος Χαμζάς, Θεοδώρα Κατσίλα, Γεώργιος Π. Πατρινός

17 - 25 **ΠΡΩΤΟΤΥΠΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Το φορητό Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας 2MoBiL στην εκπαίδευση μαθητών στο πεδίο της Μοριακής Γενετικής και Εξατομικευμένης Ιατρικής**

Σταυρούλα Σιαμόγλου, Γεώργιος Π. Πατρινός

26 - 35 **ΑΦΙΕΡΩΜΑ**

**Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας**

Γεώργιος Π. Πατρινός, εκ μέρους των μελών του Εργαστηρίου Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας

36 - 38 **ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ**

**Παρουσίαση του 3ου Συνεδρίου του Συνδέσμου Ιατρικών Γενετιστών Ελλάδας (ΣΙΓΕ), 2-4 Νοεμβρίου 2018, Αθήνα**

Μανούσος Ε. Καμπούρης

39 - 42 **ΟΔΗΓΙΕΣ ΠΡΟΣ ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ**

Τα άρθρα που δημοσιεύονται στο περιοδικό αποτελούν πνευματική ιδιοκτησία του περιοδικού και δεν επιτρέπεται η ολική ή μερική αναδημοσίευσή τους χωρίς την έγγραφη άδεια του Εκδότη και του Διευθυντή Σύνταξης.

## ΑΠΟ ΤΟΝ ΕΚΔΟΤΗ

**Α**πό τις αρχές του αιώνα που έγινε γνωστή η αλληλουχία του ανθρώπινου γονιδιώματος, είμαστε μάρτυρες μιας πραγματικής επανάστασης στη σύγχρονη ιατρική και βιολογία. Η αποκωδικοποίηση της αλληλουχίας του γονιδιώματος του ανθρώπου αλλά και άλλων θηλαστικών, η συσχέτιση γονιδίων με κληρονομικές νόσους και φυσιολογικά χαρακτηριστικά, αλλά και οι συνεχείς τεχνολογικές βελτιώσεις στις μεθόδους γενετικής ανάλυσης υψηλής απόδοσης, όπως με μικροσυστοιχίες (microarrays) ή αλληλούχηση ολόκληρου του γονιδιώματος, των κωδικών του περιοχών ή συγκεκριμένων γενετικών τόπων -πχ γονιδίων (whole genome / whole exome sequencing και targeted resequencing) αποτελούν σημαντικές κατακτήσεις που συμβάλλουν στην βελτίωση της ποιότητας της ζωής των ασθενών και ταυτόχρονα στη μείωση του κόστους της παρεχόμενης ιατροφαρμακευτικής περίθαλψης. Τα παραπάνω συνοδεύονται από αντίστοιχες προόδους στο πεδίο της βιοπληροφορικής, με την ανάπτυξη λογισμικού και εφαρμογών, βάσεων γενετικών δεδομένων και καινοτόμων τρόπων αποθήκευσης της γενετικής πληροφορίας, γεγονός που συμβάλλει στην ορθή «μετάφραση» της γενετικής πληροφορίας σε μια κλινικά αξιοποιήσιμη μορφή. Έτσι, τα τελευταία χρόνια μιλάμε για την εξατομίκευση της ιατρικής πράξης, όπου κατά τον Ιπποκράτη «... είναι σημαντικότερο να γνωρίζουμε τί είδους άνθρωπος πάσχει από κάποια ασθένεια, παρά να γνωρίζουμε από ποια ασθένεια πάσχει κάποιος άνθρωπος».

Στη χώρα μας το πεδίο της Γονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Ιατρικής τα τελευταία χρόνια παρουσιάζει μια άνθηση με ολοένα αυξανόμενο αριθμό ερευνητικών ομάδων σε ελληνικά Πανεπιστήμια και ερευνητικά κέντρα που ασχολούνται με αντικείμενα του συγκεκριμένου πεδίου. Ερευνητικές εργασίες που πραγματεύονται θέματα σε πεδία όπως πρωτεϊνωματική, φαρμακογονιδιωματική, μεταβολομική, επιγονιδιωματική καθώς και όροι όπως big data, transcriptomics/μεταγραφωματική, κ.α. ακούγονται όλο και περισσότερο

σε ελληνικά επιστημονικά συνέδρια. Δυστυχώς, αν και ολοένα και περισσότερα συνέδρια πραγματοποιούνται εξ' ολοκλήρου ή μερικώς αυτές τις σύγχρονες προσεγγίσεις, δεν υπάρχει κανένα επιστημονικό περιοδικό στο χώρο μας αφιερωμένο στο χώρο αυτό.

Είμαστε στην ευχάριστη θέση να παρουσιάσουμε το επιστημονικό περιοδικό «Εξατομικευμένη Ιατρική» στην ελληνική επιστημονική κοινότητα. Πρόκειται για ελληνόγλωσση κρινόμενη περιοδική έκδοση του Εργαστηρίου Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Πατρών και στοχεύει στην διάδοση της ιδέας και των αρχών, των μορφών και των μέσων της εξατομικευμένης ιατρικής, φαρμακογονιδιωματικής και εξατομικευμένης θεραπείας, και στην επαύξηση και βελτίωση του διεπιστημονικού διαλόγου. Το περιοδικό δέχεται και δημοσιεύει κλινικού και εργαστηριακού ενδιαφέροντος ερευνητικές εργασίες και άρθρα ανασκόπησης στους τομείς την Γονιδιωματικής και της Εξατομικευμένης Ιατρικής, περιλαμβάνοντας ενδεικτικά αλλά όχι αποκλειστικά την Φαρμακογονιδιωματική, τη γονιδιωματική πληροφορική, τη γονιδιωματική σπανίων νόσων και Καρκίνου, την ψυχιατρική γονιδιωματική, την γονιδιωματική Δημόσιας Υγείας, την δεοντολογία στη Γονιδιωματική και την οικονομική αξιολόγηση τεχνολογιών και θεραπειών με γονιδιωματικές συνιστώσες. Επιπρόσθετα, το περιοδικό δημοσιεύει παρουσιάσεις συνεδρίων συναφών με το αντικείμενο της Γενετικής και Γονιδιωματικής του ανθρώπου και της Εξατομικευμένης Ιατρικής, αφιερώματα σε Εργαστήρια Γονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Ιατρικής ελληνικών Πανεπιστημίων και ερευνητικών κέντρων αλλά και σε συναφή εργαστήρια του ιδιωτικού τομέα, ενώ επίσης φιλοξενεί συνεντεύξεις έγκριτων ερευνητών και ιατρών με έμπρακτη ενασχόληση στο πεδίο της Εξατομικευμένης Ιατρικής και θεραπείας. Εξέχουσα θέση στο περιοδικό αυτό έχουν άρθρα με έντονες βιοηθικές προεκτάσεις, όπως γενετικές



εξετάσεις, προστασία γενετικών δεδομένων, προσπάθεια των ασθενών από γενετικό στιγματισμό, κ.α. Τέλος, το περιοδικό δημοσιεύει αφιερώματα σε ερευνητικά διεπιστημονικά προγράμματα στο πεδίο της Εξατομικευμένης Ιατρικής που χρηματοδοτούνται από ελληνικούς αλλά και διεθνείς φορείς.

Οι επιστημονικές εργασίες υποβάλλονται στο περιοδικό μέσα από ένα ηλεκτρονικό σύστημα συντακτικής διαχείρισης, και οι υποβληθείσες εργασίες υπόκεινται σε κρίση από συντακτική επιτροπή που απαρτίζεται από Καθηγητές Πανεπιστημίων και Ερευνητές με πολυετή εμπειρία στο πεδίο της Εξατομικευμένης Ιατρικής για να διασφαλιστεί η υψηλή ποιότητα των εργασιών που τελικά δημοσιεύονται στο περιοδικό.

Ευελπιστούμε ότι το περιοδικό «**Εξατομικευμένη Ιατρική**» με την προσδοκώμενη ύλη και τα υψηλής στάθμης πρωτότυπα επιστημονικά άρθρα και τις εργασίες ανασκόπησης θα αποτελέσει έναν κόμβο για ουσιαστικό επιστημονικό διάλογο μεταξύ επιστημόνων με έμπρακτο ενδιαφέρον στο πεδίο της Εξατομικευμένης Ιατρικής, θα ενθαρρύνει νέες συνεργασίες μεταξύ επιστημόνων από διάφορες περιοχές της Ελλάδας

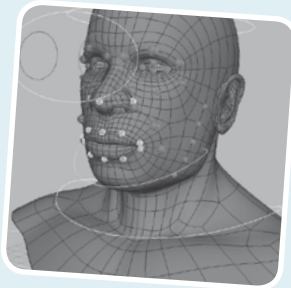
για συνεργατικά ερευνητικά προγράμματα στο πεδίο αυτό και θα συμβάλει στην ενημέρωση της ερευνητικής κοινότητας όχι μόνο για τα πεπραγμένα ελληνικών ερευνητικών ομάδων στο πεδίο αυτό αλλά και για ευκαιρίες εκπαίδευσης και επαγγελματικής αποκατάστασης νέων ερευνητών.

Ευχαριστώ θερμά τους συνεργάτες και συνοδοιπόρους στην εκδοτική αυτή προσπάθεια, και ειδικότερα τον διευθυντή σύνταξης και τα μέλη της συντακτικής επιτροπής που αποδέχθηκαν με ενθουσιασμό να συμμετέχουν αφιλοκερδώς στην προσπάθεια αυτή και την εταιρεία «ΖΙΤΑ» που ανέλαβε την επιμέλεια, εκτύπωση, και διάθεση του περιοδικού στην έντυπη και ηλεκτρονική του μορφή. Επίσης, θερμές ευχαριστίες οφείλω εκ των προτέρων στους συγγραφείς που θα υποβάλλουν επιστημονικά άρθρα στο περιοδικό και στους χορηγούς, η συνδρομή των οποίων διασφαλίζει τη βιωσιμότητα του εγχειρήματος αυτού. Τέλος, ευχαριστώ εκ των προτέρων το αναγνωστικό κοινό και την καλοπροαίρετη κριτική επί της ύλης του περιοδικού που θα βοηθήσει στη συνεχή του βελτίωση και την καθιέρωσή του στο επιστημονικό πεδίο που πραγματεύεται.

**Γεώργιος Π. Πατρinός**  
**Αναπληρωτής Καθηγητής**  
**Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Φαρμακευτικής ΕΦΕΘ.**

## Προσδιορισμός πιθανόν γενετικών συνδρόμων από τα χαρακτηριστικά του προσώπου με εφαρμογή τεχνολογιών ανάλυσης προσώπου

Τα γενετικά σύνδρομα επηρεάζουν περίπου το 8% του γενικού πληθυσμού. Πολλά σύνδρομα έχουν αναγνωρίσιμα χαρακτηριστικά προσώπου και κατόπιν μελέτης αυτών, οι κλινικοί γενετιστές μπορούν να εξάγουν πολλά συμπεράσματα για την κατάσταση υγείας του ασθενούς. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι οι τεχνολογίες ανάλυσης του προσώπου προστίθενται σταδιακά στις δυνατότητες των κλινικών γενετιστών για την ταυτοποίηση του συνδρόμων. Μία αντίστοιχη τεχνολογία ανάλυσης εικόνας του προσώπου είναι το DeepGestalt.



Το DeepGestalt χρησιμοποιώντας αλγόριθμους ηλεκτρονικής όρασης επιτυγχάνει αντιστοίχιση χαρακτηριστικών με γενετικά σύνδρομα. Για την εξακρίβωση της πιστότητας της συγκεκριμένης εφαρμογής πραγματοποιήθηκε μια σειρά πειραμάτων. Τα πρώτα πειράματα αφορούσαν τη διάκριση των υποκειμένων με ένα σύνδρομο-στόχο μεταξύ άλλων συνδρόμων ενώ τα μετέπειτα πειράματα αφορούσαν το διαχωρισμό μεταξύ διαφορετικών γενετικών υποτύπων του συνδρόμου Noonan (Σύνδρομο συνδεδεμένο με νοητική υστέρηση, παραμορφώσεις στο πρόσωπο και σοβαρές διαταραχές της καρδιακής λειτουργίας). Στα τελικά πειράματα, το DeepGestalt πέτυχε 91% ακρίβεια στην ταυτοποίηση του σωστού συνδρόμου σε εξέταση 502 διαφορετικών εικόνων προσώπου. Το μοντέλο επίσης, δοκιμάστηκε σε ένα σύνολο 17.000 εικόνων που αντιπροσώπευαν περισσότερα από 200 διαφορετικά σύνδρομα.

Το DeepGestalt προσδίδει αυξημένη αξιοπιστία στην αξιολόγηση του φαινοτύπου κατά την κλινική πρακτική πράξη από τους επιστήμονες υγείας, στη γενετική εξέταση και στην εξατομικευμένη ιατρική. Είναι μία αξιοσημείωτη προσπάθεια εκ μέρους της ερευνητικής κοινότητας καθώς με αυτό τον τρόπο διευκολύνεται η διάγνωση εκ μέρους των θεραπόντων ιατρών και επιπλέον επιτυγχάνεται σε μικρότερο χρονικό διάστημα η διάγνωση και η θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών. Με το πέρας της εξέτασης, το πρόγραμμα επισημαίνει τις περιοχές του προσώπου που είναι πιο χρήσιμες για τον προσδιορισμό των γενετικών συνδρόμων με τρόπο εύχρηστο για τους επαγγελματίες υγείας. Αυτό μπορεί να βοηθήσει τους ιατρικούς επαγγελματίες να κατανοήσουν τη σχέση μεταξύ γονοτύπου και φαινοτύπου. ●

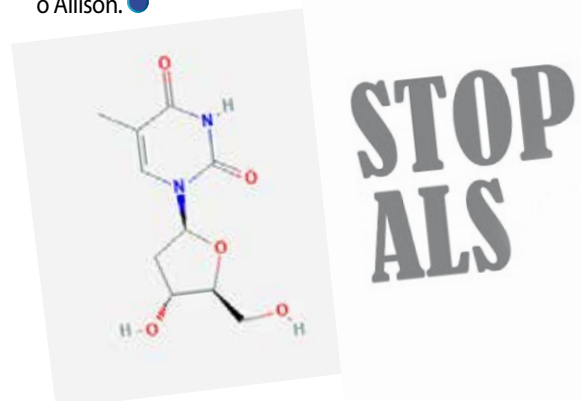
## Φάρμακο κατά της ηπατίτιδας συμβάλλει στην καθυστέρηση της εξέλιξης της ALS

Ένα νέο φάρμακο φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενο για την επιβράδυνση της προόδου της Πλάγιας Μυοτροφικής Σκλήρυνσης (Amyotrophic lateral sclerosis, ALS), γνωστή και ως νόσου του Lou Gehrig, σύμφωνα με νέα έρευνα από τους βιολόγους του Πανεπιστημίου της Αλμπέρτα. Τα ευρήματα αυτά φέρουν επανάσταση στη θεραπεία ασθενών που πάσχουν από ALS, επεκτείνοντας και βελτιώνοντας την ποιότητα ζωής τους καθώς οι τρέχουσες θεραπείες επιβραδύνουν την εξέλιξη της εκφυλιστικής νόσου μόνο για λίγους μήνες.

Η τελμπιβουδίνη (telbivudine) είναι ένα συνθετικό νουκλεοσιδικό ανάλογο της θυμιδίνης με δράση έναντι του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV). Μέχρι σήμερα χρησιμοποιείται για τη θεραπεία ασθενών με ηπατίτιδα. Πρόσφατες πειραματικές ενδείξεις των επιστημόνων του Πανεπιστημίου της Αλμπέρτα δείχνουν ότι συμβάλλει στη σημαντική επιβράδυνση της εξέλιξης της ALS.

Η τελμπιβουδίνη φαίνεται να στοχεύει σε μια πρωτεΐνη η οποία δεν λειτουργεί σωστά σε ασθενείς με ALS. Η SOD1 είναι μια πρωτεΐνη που είναι γνωστό ότι δεν δρα κατά τον ορθό τρόπο στις περισσότερες περιπτώσεις των ασθενών με ALS, εξήγησε ο Ted Allison, αναπληρωτής καθηγητής στο Τμήμα Βιολογικών Επιστημών και συν-συγγραφέας της μελέτης. «Εδειξα ότι η τελμπιβουδίνη μπορεί να μειώσει σημαντικά τις τοξικές ιδιότητες που προκύπτουν από την μη σωστή λειτουργία της πρωτεΐνης SOD1, συμπεριλαμβανομένης της βελτίωσης της υγείας των κινητικών νευρώνων του ασθενούς και της βελτίωσης της κίνησης» εξήγησε ο Ted Allison.

Η ανακάλυψη της τελμπιβουδίνης ως πιθανή θεραπεία είναι ιδιαίτερα συναρπαστική με δεδομένο ότι το συγκεκριμένο φάρμακο είναι δοκιμασμένο και χρησιμοποιείται ήδη για τη θεραπεία ασθενών με ηπατίτιδα. «Έχει ήδη αποδειχθεί ασφαλές για χρήση σε ασθενείς και έχει πολύ καλές προοπτικές για επαναχρησιμοποίηση αυτή τη φορά στοχεύοντας στην ασθένεια ALS», δήλωσε ο Allison. ●





## Μιτοχονδριακό DNA κληρονομείται και από τον πατέρα

**Π**αρά την έως τώρα γνώση, οι επιστήμονες βρήκαν πρόσφατα πως κάποια μιτοχονδριακά DNA μπορεί να κληρονομούνται και από τους πατέρες του παιδιού. Μια μελέτη, που δημοσιεύθηκε πρόσφατα στο έγκριτο περιοδικό της Ακαδημίας Επιστημών των ΗΠΑ (Proc Natl Acad Sci USA), ξεκίνησε στο Ιατρικό Κέντρο του Νοσοκομείου Παιδών του Cincinnati όταν εξετάστηκε ένα παιδί που εμφάνιζε σημάδια κόπωσης και έντονο μυϊκό πόνο για να διαπιστωθεί τυχόν μιτοχονδριακή διαταραχή. Το παιδί έδειξε σημάδια ετεροπλασμίας μιτοχονδριακού DNA, αποτέλεσμα συνεισφοράς μιτοχονδρίων τόσο από τη μητέρα όσο και από τον πατέρα του παιδιού. Μετά από περαιτέρω δοκιμές, η αδελφή του παιδιού έδειξε επίσης τα ίδια αποτελέσματα.

Επιπλέον, με περαιτέρω δοκιμές διαπιστώθηκαν τρεις οικογένειες (που δεν συνδέονταν συγγενικά μεταξύ τους) με υψηλό επίπεδο (από 24% έως 76% ετεροπλασματικού μιτοχονδριακού DNA σε 17 εξεταζόμενα άτομα. Θεωρείται

ότι αυτά τα άτομα αποτελούν σπάνια εξαίρεση του κανόνα, πιθανόν λόγω μεταλλάξεων που διαταράσσουν τον μηχανισμό παρεμπόδισης μετάδοσης των μιτοχονδρίων του πατέρα στους απογόνους.

Πολλοί επιστήμονες πρότειναν ότι το συγκεκριμένο εύρημα θα μπορούσε να χαράξει την πορεία για νέους καινοτόμους ερευνητικούς τομείς και να αλλάξει τον τρόπο με τον οποίο αναζητούνται και εντοπίζονται τα αίτια ορισμένων μιτοχονδριακών παθήσεων. ●



## Θεραπεία της τύφλωσης LCA με ενέσιμο RNA

**Η** συγγενής αμαύρωση του Leber (Leber congenital amaurosis, LCA) είναι μια κληρονομική διαταραχή που προσβάλλει κυρίως τον αμφιβληστροειδή χιτώνα των οφθαλμών. Οι ασθενείς παρουσιάζουν σοβαρές διαταραχές της όρασης, οι οποίες εμφανίζονται στην παιδική ηλικία και επιδεινώνονται με την πάροδο του χρόνου. Συγκεκριμένα, αποτελεί μία από τις πιο συχνές αιτίες παιδικής τύφλωσης.

Η LCA μπορεί να προκύψει από μεταλλάξεις σε τουλάχιστον 13 γονίδια, τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και λειτουργία του αμφιβληστροειδούς χιτώνα. Συγκεκριμένα επηρεάζουν τη λειτουργία

για των κροσσών. Μεταλλάξεις των γονιδίων *CEP290*, *CRB1*, *GUCY2D* και *RPE65* είναι οι πιο κοινές αιτίες της διαταραχής.

Νέα δεδομένα σηματοδοτούν πιθανή μελλοντική επιτυχία μιας νέας θεραπείας για την καταπολέμηση της LCA. Κατά τη διάρκεια της μελέτης, τα άτομα έλαβαν έγχυση στο μάτι ενός ολιγοριβονουκλιοπιδίου. Αυτό το μόριο δημιουργήθηκε για τη μείωση των επιπέδων των μεταλλαγμένων πρωτεϊνών στους φωτοϋποδοχείς, βοηθώντας έτσι στη φυσιολογική λειτουργία του αμφιβληστροειδούς. Τρεις μήνες μετά την πρώτη ένεση των ασθενών διαπιστώθηκε ότι πέντε από τους δέκα ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη εμφάνισαν βελτιώσεις στην όρασή τους.

Ο Dr. Artur Cideciyan, PhD, ερευνητής και καθηγητής οφθαλμολογίας στο Πανεπιστήμιο της Πενσυλβάνια, δήλωσε ότι ως μελλοντικός στόχος τίθεται πλέον η εξέταση ασθενών που φέρουν δύο πανομοιότυπες μεταλλάξεις ώστε να αξιολογηθεί και να κατανοηθεί πλήρως η αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου ενέσιμου RNA και πως αυτή η θεραπευτική προσέγγιση θα μπορούσε να βελτιωθεί περαιτέρω μελλοντικά. ●



των φωτοϋποδοχέων, τροπή του φωτεινού ερεθίσματος σε ηλεκτρικό σήμα που μεταδίδεται στον εγκέφαλο, καθώς και στη λειτουργία

Της Σταυρούλας Σιαμόγλου

# Εξατομίκευση της θεραπείας στην κλινική πρακτική των μεταμοσχεύσεων

Ευφροσύνη Μενδρινού, Μανούσος Ε. Καμπούρης, Γεώργιος Π. Πατρινός \*

Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας, Πάτρα

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η φαρμακογονιδιωματική, υπόσχεται να αποσαφηνίσει την κληρονομική βάση των διαφορών μεταξύ των αποκρίσεων σε φάρμακα, προκειμένου να προσδιοριστεί το σωστό φάρμακο και η δόση για κάθε ασθενή. Η διατομική μεταβλητότητα στις αποκρίσεις των φαρμάκων μπορεί να εξηγηθεί με γενετικές παραλλαγές σε πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη φαρμακοκινητική ή φαρμακοδυναμική αυτών, δηλαδή παραλλαγές σε γονίδια ενζύμων μεταβολισμού και μεταφορικών πρωτεϊνών. Στις μέρες μας, γίνονται προσπάθειες ώστε τα αποτελέσματα των διαφόρων φαρμακογονιδιωματικών μελετών να εφαρμοστούν στην κλινική πράξη σε διάφορους τομείς. Έτσι, η διαθέσιμη πληροφορία που υπάρχει για τη φαρμακογονιδιωματική συσχέτιση απόκρισης μεταμοσχευμένων ατόμων σε ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, έχει μεταφραστεί σε συγκεκριμένες κατευθυντήριες οδηγίες, εφαρμόσιμες στην κλινική πράξη. Συγκεκριμένα, παραλλαγές του γονιδίου *CYP3A5* επιδρούν στη φαρμακοκινητική της τακρολίμης, η οποία χορηγείται σε μεταμοσχευμένους ασθενείς. Σύμφωνα με

τις ισχύουσες κατευθυντήριες οδηγίες, προτείνεται η χρήση του γονοτύπου του *CYP3A5*, εφόσον αυτός είναι γνωστός, σε λήπτες μοσχευμάτων. Άτομα που εκφράζουν το ένζυμο *CYP3A5* (εκτενείς και ενδιάμεσοι μεταβολιστές) εμφανίζουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις της τακρολίμης και συνεπώς απαιτούν αυξημένη δόση αυτής ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό θεραπευτικό αποτέλεσμα. Αντίθετα, άτομα με φαινότυπο «ανεπαρκούς» μεταβολιστή θα πρέπει να λαμβάνουν την τυπική δόση της τακρολίμης. Ωστόσο, η συνδυασμένη χρήση μέτρησης των επιπέδων των φαρμάκων και των φαρμακογονιδιωματικών αναλύσεων είναι απαραίτητη για τη βελτιστοποίηση των δοσολογικών σχημάτων των ανοσοκατασταλτικών σκευασμάτων. Η πραγματοποίηση μεγάλων προοπτικών κλινικών μελετών που να δείχνουν τα οφέλη της φαρμακογονιδιωματικής γονοτύπησης, η ανάπτυξη μεθόδων φαρμακογονιδιωματικών αναλύσεων καθώς και η δημιουργία ενός σαφούς ρυθμιστικού και νομικού πλαισίου, αποτελούν τα κύρια βήματα προς την κλινική εφαρμογή της εξατομικευμένης θεραπείας.

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΥΡΙΑ:** Φαρμακογονιδιωματική, εξατομικευμένη θεραπεία, μεταμοσχεύσεις, τακρολίμη, *CYP3A5*

\* Αντεπιστέλλων Συγγραφέας

Γεώργιος Π. Πατρινός, Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστημιούπολη, Ρίο, 265 04, Πάτρα, Τηλέφωνο Επικοινωνίας: 2610-962339, Fax: 2610-969955, Email: gpatrinos@upatras.gr

## Εισαγωγή

Κατά τη διάρκεια των δύο τελευταίων δεκαετιών, η έρευνα του DNA έχει προχωρήσει από την αλληλουχία του ανθρώπινου γονιδιώματος στη χαρτογράφηση των γενετικών παραλλαγών μεταξύ των ατόμων. Αυτές οι ενδοπληθυσμιακές ή διατομικές γενετικές παραλλαγές έχουν συσχετιστεί με και χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση πιθανών ασθενειών, απόκρισης σε θεραπείες και ανεπιθύμητων ενεργειών [1].

Ως φαρμακογονιδιωματική ορίζεται η γενετική βάση της διαφορικής απόκρισης ενός ατόμου στη φαρμακευτική αγωγή. Οι φαρμακογονιδιωματικές μελέτες παρέχουν πληροφορίες για τις αιτιακές σχέσεις μεταξύ των γονοτύπων και της απόκρισης σε φάρμακα. Η ποικιλομορφία στην αλληλουχία πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη δράση του φαρμάκου, όπως ένζυμα μεταβολισμού και μεταφορικές πρωτεΐνες, μπορεί να αλλάξει την αποτελεσματικότητα ή και τις παρενέργειες του φαρμάκου, μεταβάλλοντας την επιδεκτικότητα μεμονωμένων ασθενών στην φαρμακευτική αυτή αγωγή [2].

Η σύγκλιση της φαρμακογονιδιωματικής, που διερευνούσε κληρονομικά πρότυπα στην επιδεκτικότητα και τη δυσανεξία σε φάρμακα, και της γονιδιωματικής του ανθρώπου, επιτάχυνε δραματικά την ανακάλυψη νέων γενετικών ενεχόμενων ή/και σχετικών παραλλαγών.

Οι τρέχουσες προσπάθειες επικεντρώνονται σε αναπροσαρμογή της φαρμακογονιδιωματικής από την ανακάλυψη στην εφαρμογή, παρέχοντας ένα σημαντικό έρεισμα για την ιατρική ακριβείας [3]. Στις μέρες μας, οι φαρμακογονιδιωματικές εξετάσεις έχουν υιοθετηθεί σε διάφορα επίπεδα σε πολλούς κλινικούς τομείς.

## Φαρμακογονιδιωματική και μεταμοσχεύσεις

Η μεταμόσχευση οργάνων είναι η θεραπεία εκλογής για την τελικού σταδίου και τη μη-αναστρέψιμη οργανική ανεπάρκεια. Τις δύο τελευταίες δεκαετίες, οι μεταμοσχεύσεις οργάνων έχουν βελτιωθεί σταδιακά και συνήθως παρέχουν εξαιρετικά αποτελέσματα. Η δραστηριότητα των προγραμμάτων μεταμόσχευσης συμπαγών οργάνων παρουσιάζει σταθερή αύξηση, αλλά απέχει ακόμη από τις παγκόσμιες ανάγκες. Η κλινική σημασία των μεταμοσχεύσεων συμπαγών οργάνων μπορεί να αξιολογηθεί ανάλογα με την επίπτωσή τους στην επιβίωση των ασθενών, τη μείωση της συνοσηρότητας, τη βελτίωση της εργασιακής ζωής και τη συνολική ποιότητα ζωής του πληθυσμού που έχει λάβει μοσχεύματα [4].

Η τρέχουσα επιτυχία στη μεταμόσχευση οργάνων οφείλεται στη νέα ανοσοκατασταλτική θεραπεία που έχει προκύψει από το 1980 [5]. Τα πιο κοινά ανοσοκατασταλτικά σχήματα που εφαρμόζονται στη μεταμόσχευ-

ση συμπαγών οργάνων αποτελούνται από συνδυασμό αναστολέων καλσινευρίνης (κυκλοσπορίνη ή τακρολίμη) με αντιπολλαπλασιαστικούς παράγοντες όπως το μυκοφαινολικό οξύ. Τα ανοσοκατασταλτικά αποτελούν φάρμακα με στενό θεραπευτικό εύρος και ταυτόχρονα εμφανίζουν σημαντική παραλλακτικότητα μεταξύ των ασθενών. Έτσι, για την επιτυχία της θεραπείας είναι σημαντικό να επιτευχθεί ισορροπία μεταξύ της ανοσοκατασταλτικής αποτελεσματικότητας και της τοξικότητας του φαρμάκου [6].

Η θεραπευτική παρακολούθηση φαρμάκου (TDM-Therapeutic Drug Monitoring) υπήρξε πρακτική ρουτίνας τα τελευταία 30 χρόνια και συνιστάται ιδιαίτερα για πολλά ανοσοκατασταλτικά σκευάσματα και επί του παρόντος βασίζεται στη μέτρηση, σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα, της συγκέντρωσης του φαρμάκου στην κυκλοφορία του αίματος ώστε αυτή να διατηρείται σταθερή [7]. Η θεραπευτική παρακολούθηση μειώνει τη φαρμακοκινητική συνιστώσα της παραλλακτικότητας ελέγχοντας τις συγκεντρώσεις φαρμάκου στο αίμα, αλλά μόνο αναδρομικά, αφού χορηγηθεί το φάρμακο. Κατά συνέπεια, απαιτούνται συμπληρωματικές στρατηγικές [6].

Η Φαρμακογονιδιωματική έχει αναδειχτεί ως ένα επιπρόσθετο εργαλείο για τη βελτίωση της δοσολογίας ή για την εκ των προτέρων επιλογή της πρώτης δόσης χορήγησης [7]. Συνδυάζοντας πληροφορίες σχετικά με τη δόση του φαρμάκου με γονοτυπικά δεδομένα από λήπτες μοσχευμάτων, τα οποία αφορούν μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς σε γονίδια ενζύμων μεταβολισμού και μεταφορικών πρωτεϊνών που αλληλεπιδρούν με το εκάστοτε σκεύασμα, μπορούν να συσχετιστούν οι γονότυποι του λήπτη με τη φαρμακοκινητική των ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων [8]. Τέτοιες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για όλα σχεδόν τα ανοσοκατασταλτικά φάρμακα. Μέχρι στιγμής, η μόνη κλινική σύσταση σε σχέση με τους φαρμακογονιδιωματικούς βιοδείκτες στο πεδίο των μεταμοσχεύσεων, αφορά τη συσχέτιση μεταξύ των παραλλαγών του γονιδίου *CYP3A5* και της δόσης της τακρολίμης.

## Τακρολίμη και μεταμοσχεύσεις

Η τακρολίμη αποτελεί σήμερα την πρώτη επιλογή ανάμεσα στους αναστολείς καλσινευρίνης, στην πλειονότητα των κέντρων μεταμόσχευσης νεφρού στην Ευρώπη και τις ΗΠΑ [8,9]. Έχει στενό θεραπευτικό εύρος και καταδεικνύει ευρεία φαρμακοκινητική παραλλακτικότητα, οδηγώντας σε πιθανή υπο-ανοσοκαταστολή ή τοξικότητα. Το στενό θεραπευτικό εύρος καθιστά δύσκολη την επίτευξη της βέλτιστης συγκέντρωσης στο αίμα. Η

**Table 1. Δοσολογικές συστάσεις για την τακρολίμη βάσει των επιπέδων μεταβολισμού του φαρμάκου με βάση τον φαινότυπο του ενζύμου CYP3A5**

Φαινότυπος	Γονότυπος	Φαρμακολογικές μετρήσεις	Θεραπευτικές συστάσεις
<b>Εκτενής μεταβολιστής (Εκφραστής του ενζύμου CYP3A5)</b>	CYP3A5*1/*1	Χαμηλότερες συγκεντρώσεις τακρολίμης με προσαρμογή στη δόση. Μειωμένη πιθανότητα επίτευξης της συγκέντρωσης-στόχου. 100% αυξημένη κάθαρση	Αύξηση της δόσης έναρξης 1.5-2 φορές. Η ολική αρχική δόση δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0.3 mg/kg ημερησίως. Χρήση θεραπευτικής παρακολούθησης για προσαρμογή της δόσης
<b>Ενδιάμεσος μεταβολιστής (Εκφραστής του ενζύμου CYP3A5)</b>	CYP3A5*1/*3	Χαμηλότερες συγκεντρώσεις τακρολίμης με προσαρμογή στη δόση. Μειωμένη πιθανότητα επίτευξης της συγκέντρωσης-στόχου. 69% αυξημένη κάθαρση	Αύξηση της δόσης έναρξης 1.5-2 φορές. Η ολική αρχική δόση δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0.3 mg/kg ημερησίως. Χρήση θεραπευτικής παρακολούθησης για προσαρμογή της δόσης
<b>«Ανεπαρκής» μεταβολιστής (Μη-εκφραστής του ενζύμου CYP3A5)</b>	CYP3A5*3/*3	Υψηλότερες συγκεντρώσεις τακρολίμης με προσαρμογή στη δόση. Αυξημένη πιθανότητα επίτευξης της συγκέντρωσης-στόχου	Έναρξη θεραπείας σύμφωνα με την καθιερωμένη προτεινόμενη δόση. Χρήση θεραπευτικής παρακολούθησης για προσαρμογή της δόσης

θεραπευτική παρακολούθηση της τακρολίμης, σε πολλές περιπτώσεις δε μπορεί να λύσει το πρόβλημα [10].

Μια σημαντική πηγή ποικιλομορφίας μεταξύ των ατόμων όσον αφορά την απόκριση σε φάρμακο είναι οι παραλλαγές των ενεχόμενων μεταβολικών ενζύμων. Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί για την ανάλυση των επιδράσεων γενετικών πολυμορφισμών στη φαρμακοκινητική της τακρολίμης και πώς αυτοί μπορούν να βοηθήσουν στη βελτίωση της θεραπείας.

Η τακρολίμη αποτελεί υπόστρωμα του κυτοχρώματος P450 3A5 και οι γενετικές παραλλαγές σε αυτό έχουν αποδειχθεί πολύ σημαντικές για τον προσδιορισμό της απαιτούμενης δόσης της [8]. Ο κύριος γενετικός παράγοντας που επηρεάζει τις κατώτατες συγκεντρώσεις της τακρολίμης προσαρμοσμένες στη δόση και τις απαιτούμενες δόσεις σε σταθεροποιημένους ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρού είναι ένας μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός στο εσώνιο 3, CYP3A5\*3 [7]. Πρόκειται για μια σημειακή μετάλλαξη στη θέση 6986 όπου η αντικατάσταση (μετάπτωση) της αδενίνης (A) από γουανίνη (G) οδηγεί σε μια κρυπτική θέση συρραφής στο τρίτο εσώνιο και έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία του εξωνίου 3B στο γονίδιο CYP3A5 [11]. Η παραλλαγή οδηγεί σε μη φυσιολογική συρραφή στα περισσότερα μετάγραφα, η οποία μεταβάλλει το πλαίσιο ανάγνωσης και οδηγεί σε ένα κωδικόνιο πρόωρου τερματισμού. Συνεπώς το ένζυ-

μο CYP3A5 που συντίθεται δεν είναι λειτουργικό [5]. Η παραλλαγή CYP3A5\*3 είναι το μείζον αλληλόμορφο σε πολλούς πληθυσμούς και η πλειοψηφία των Καυκασίων (85%) στερείται της λειτουργικής πρωτεΐνης CYP3A5.

Τα άτομα που φέρουν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο A ορίζονται ως έχοντα το αλληλόμορφο CYP3A5\*1 και είναι γνωστά ως εκφραστές του ενζύμου CYP3A5. Τα άτομα με G στη ομοζυγωτία είναι γνωστά ως CYP3A5\*3/\*3 και θεωρούνται μη-εκφραστές του CYP3A5 (**Πίνακας 1**) [12].

Οι ισχύουσες κατευθυντήριες οδηγίες από το Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) δεν τοποθετούνται υπέρ ή κατά της γονοτυπικής εξέτασης του γονιδίου CYP3A5 στις μεταμοσχεύσεις. Τα σημερινά στοιχεία για τη χρησιμότητα της γονοτύπησης του γονιδίου CYP3A5 για την καθοδήγηση της δοσολογίας της τακρολίμης περιορίζονται στην επίδραση του ενζύμου CYP3A5 στις φαρμακοκινητικές παραμέτρους της τακρολίμης, χωρίς άμεσες ενδείξεις βελτίωσης του κλινικού ανοσοκατασταλτικού αποτελέσματος. Κατά συνέπεια, δεν υπάρχουν συστάσεις για γονοτύπηση ή μη του γονιδίου CYP3A5 σε μεταμοσχεύσεις, αλλά μόνο για τη χρήση του γονοτύπου του γονιδίου CYP3A5, αν είναι γνωστός [12].

Οι λήπτες μοσχευμάτων με φαινότυπο «ανεπαρκούς» μεταβολιστή θα πρέπει να λαμβάνουν την τυπική δόση



του φαρμάκου. Οι λήπτες με φαινότυπο ενδιάμεσου ή φυσιολογικού μεταβολιστή απαιτούν αυξημένη δόση της τακρολίμης για να επιτευχθούν θεραπευτικές συγκεντρώσεις του φαρμάκου. Συνιστάται δόση 1.5-2 φορές υψηλότερη από την τυπική δόση, αλλά αυτή δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0.3 mg/kg/ημέρα. Επιπρόσθετα, τα άτομα με γονότυπο *CYP3A5\*1/\*1* ή *CYP3A5\*1/\*3* εμφανίζουν σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις της τακρολίμης σε σύγκριση με εκείνες των ατόμων με γονότυπο *CYP3A5\*3/\*3*. Η θεραπευτική παρακολούθηση του φαρμάκου είναι απαραίτητο να χρησιμοποιείται πάντα για την καθοδήγηση της προσαρμογής της δόσης (Πίνακας 1).

### Μελλοντικές προοπτικές

Τα ευρήματα της φαρμακογονιδιωματικής έρευνας έχουν ήδη εφαρμοστεί σε διάφορους βαθμούς σε ποικίλα κλινικά πεδία και αναμένεται να ευνοήσουν μια περαιτέρω στροφή προς μια εξατομικευμένη και λιγότερο εμπειρική προσέγγιση της υγειονομικής περιθαλψης. Παρά τις σημαντικές προόδους, πολλά επιστημονικά,

οικονομικά, εκπαιδευτικά, νομικά και εμπορικά εμπόδια, παρακωλύουν τη μετάφραση των ευρημάτων της φαρμακογονιδιωματικής έρευνας στην κλινική πράξη. Συχνά, είναι πολύ δύσκολο να διεξαχθούν προοπτικές μελέτες μεγάλης κλίμακας για τον προσδιορισμό των αιτιακών συσχετίσεων μεταξύ των γενετικών παραλλαγών και της απόκρισης στα φάρμακα. Επίσης, είναι δύσκολο να πραγματοποιηθούν μελέτες για τη σύνδεση των γενετικών παραλλαγών που προκύπτουν από την αλληλούχιση του γονιδιώματος με κλινικούς φαινότυπους.

Για να ξεπεραστούν τα εμπόδια, απαραίτητο είναι να επιτευχθεί ο τελικός στόχος- μια μεμονωμένη γενετική εξέταση να μπορεί να παρέχει πληροφορίες σχετικά με την πιθανή αποτελεσματικότητα ή τοξικότητα ενός φαρμάκου, επιτρέποντας στους κλινικούς ιατρούς να επιλέγουν ασφαλέστερες και αποτελεσματικότερες θεραπείες. Αυτό θα βοηθήσει επίσης στην σύνταξη συστάσεων για την κλινική πράξη και κατευθυντήριων οδηγιών για την κλινική ερμηνεία των δεδομένων της φαρμακογονιδιωματικής για την επίτευξη εξατομικευσης της θεραπείας. ●

## ABSTRACT

# Individualizing treatment modalities in the clinical practice of transplantations

Efrosini Mendrinou, Manousos E. Kambouris, George P. Patrinos

University of Patras, School of Health Sciences, Department of Pharmacy, Laboratory of Pharmacogenomics and Individualized Therapy, Patras, Greece

Personalized therapy, or pharmacogenomics, promises to elucidate the hereditary basis of the differences in drug response in order to determine the right drug and the right dose for each patient. Interindividual variability in drug responses can be explained by genetic variations in proteins that are involved in drug pharmacokinetics or pharmacodynamics, i.e. variations in genes encoding for enzymes involved in drug metabolism and transport. Nowadays, efforts are being made to make the results of various pharmacogenomics studies applicable to the clinical practice in various areas. The available information on the genomic etiology of the response of transplanted individuals to immunosuppressive drugs has been translated into specific guidelines applicable to clinical practice. In particular, genetic

variations in the *CYP3A5* gene influence the pharmacokinetics of tacrolimus, which is administered to transplanted patients. In line with the current guidelines, it is recommended to exploit the genotype of *CYP3A5*, if known, in transplant recipients to rationalize the tacrolimus dose. Individuals expressing the *CYP3A5* enzyme (extensive and intermediate metabolites) exhibit lower concentrations of tacrolimus and therefore require an increased dose of this drug to achieve the desired therapeutic effect. In contrast, people with a “poor” metabolizer status should receive the standard dose of tacrolimus. However, the combined use of measurement of drug levels and pharmacogenomic tests is necessary to optimize the dosage regimens of immunosuppressive drug treatment. The implementation of large pro-



spective clinical studies demonstrating the benefits of pharmacogenomic testing, the development of pharmacogenomic tests and the establishment of a clear

regulatory and legal framework are the main steps towards the clinical implementation of individualized therapy.

**KEY WORDS:** Pharmacogenomics; individualized Therapy; transplantations; tacrolimus; CYP3A5

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ventola CL. Pharmacogenomics in Clinical Practice Pharmacy and Therapeutics, 2011; 36(7): 412-416, 419-422, 450
2. Ma Q, Lu AY. Pharmacogenetics, pharmacogenomics, and individualized medicine. Pharmacol Rev, 2011;63(2):437-59.
3. Relling MV and Evans WE. Pharmacogenomics in the clinic Nature, 2015; 526(7573): 343–350
4. Grinyó JM. Why Is Organ Transplantation Clinically Important? Cold Spring Harb Perspect Med. 2013; 3(6): a014985
5. Burckart GJ. Pharmacogenomics: The Key to Improved Drug Therapy in Transplant Patients Clin Lab Med, 2008 28:3 411–422
6. Herrero MJ, Megías JE, Bosó V, et al. Pharmacogenetics of Immunosuppressants in Solid Organ Transplantation: Time to Implement in the Clinic Frontiers in Transplantation, 2016 5:99-131
7. Picard N, Bergan S, Marquet P et al Pharmacogenetic Biomarkers Predictive of the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Immunosuppressive Drugs. Ther Drug Monit, 2016;38 Suppl 1:S57-69
8. van Gelder T, van Schaik RH, Hesselink DA. Pharmacogenetics and immunosuppressive drugs in solid organ transplantation. Nat Rev Nephrol, 2014;10(12):725-31
9. Chen L and Prasad G V. CYP3A5 polymorphisms in renal transplant recipients: influence on tacrolimus treatment Pharmgenomics Pers Med, 2018; 11: 23–33
10. Hendijani F, Azarpira N, Kaviani M. Effect of CYP3A5\*1 expression on tacrolimus required dose for transplant pediatrics: A systematic review and meta-analysis. Pediatr Transplant, 2018 19:e13248
11. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression Nat Genet, 2001;27(4):383-91.
12. Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. Clin Pharmacol Ther, 2015;98(1):19-24

## ΑΡΘΡΟ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗΣ

# Γενετική ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων: Εφαρμογές, Προκλήσεις και Προοπτικές

Αναστασία Μελισσαράτου, Γεώργιος Μηλίτσης, Αλέξανδρος Περβανίδης, Δημήτριος Προβίδας, Αθανάσιος Χαμζάς, Θεοδώρα Κατσίλα, Γεώργιος Π. Πατρινός\*  
Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πάτρα

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων υπόσχεται την ενδελεχή ανάλυση της ετερογένειας μεταξύ κυττάρων, ακόμη και του ίδιου ιστού. Πρόκειται για μια καινοτόμο προσέγγιση, η οποία μπορεί να συμβάλει στην κατανόηση της κυτταρικής και μοριακής συμπεριφοράς, σε σχέση με άλλες προϋπάρχουσες μεθόδους. Με τη μελέτη του γονιδιώματος, των πρωτεϊνών, των ορμονών και των μεταβολιτών ανα-

πτύσσονται πολλά νέα πεδία στο χώρο της κυτταρικής βιολογίας με προεκτάσεις στους κλάδους της πρόληψης, διάγνωσης και θεραπείας. Συμπερασματικά, η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων και ο ρόλος της στις μελλοντικές ερευνητικές και θεραπευτικές προοπτικές θεωρούν καίρια, μολονότι οι κλινικές εφαρμογές είναι σήμερα ακόμη περιορισμένες.

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΥΡΗΤΗΡΙΟΥ:** Μεμονωμένα κύτταρα, γενετική διάγνωση, γονιδίωμα, κυτταρική και μοριακή συμπεριφορά, εξατομικευμένη ιατρική

## Εισαγωγή

Η ανθρώπινη ζωή ξεκινά με την ύπαρξη ενός μοναδικού κυττάρου, του ζυγωτού. Αρχικά, αυτό υπόκειται σε πολλαπλές μιτωτικές διαιρέσεις από τις οποίες προκύπτουν τρισεκατομμύρια κύτταρα, τα οποία περνούν από διάφορα στάδια διαφοροποίησης και ανάπτυξης, σχηματίζοντας τους κυτταρικούς τύπους από τους οποίους θα προκύψουν οι ιστοί και τα όργανα.

Ωστόσο, κατά τη διάρκεια των μιτωτικών διαιρέσεων το γενετικό υλικό δεν αντιγράφεται με απόλυτη ακρί-

βεια, οδηγώντας στην ύπαρξη σωματικών μεταλλάξεων. Μέχρι τον πλήρη σχηματισμό του ανθρώπινου οργανισμού, αυτές οι μεταλλάξεις συσσωρεύονται. Έτσι, προκύπτει ένας οργανισμός που τα κύτταρα του δεν αποτελούνται από ένα μοναδικό γονιδίωμα, αλλά από πολλές διαφορετικές εκδοχές του αρχικού. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται «μωσαϊκισμός». [1].

Είναι σημαντικό το ότι η πλειοψηφία των μεθόδων που εφαρμόζονται στην ανάλυση του γονιδιώματος αγνοούν την ύπαρξη του μωσαϊκισμού και κατά συνέ-

### \* Αντεπιστέλλων Συγγραφέας

Γεώργιος Π. Πατρινός, Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστημιούπολη, Ρίο, 265 04, Πάτρα, Τηλέφωνο Επικοινωνίας: 2610-962339, Fax: 2610-969955, Email: gpatrinos@upatras.gr

πεια, λαμβάνεται ένας μέσος όρος πληροφοριών από τα υπό μελέτη κύτταρα. Στο πεδίο της κυτταρικής βιολογίας, η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων αναφέρεται στη μελέτη κυττάρων απομονωμένων από ιστούς πολυκύτταρων οργανισμών [2]. Μελετώντας ένα κύτταρο τη φορά, το αποτέλεσμα είναι σίγουρο ότι προέρχεται από εκείνο το συγκεκριμένο κύτταρο. Ένα κύτταρο μπορεί, ενδεικτικά, να παρακολουθηθεί καθώς διπλασιάζεται, να βρεθεί ο αριθμός των διαιρέσεων στη μονάδα του χρόνου. Το ενδιαφέρον σε αυτούς τους υπολογισμούς εστιάζεται στη συσχέτιση των καρκινικών κυττάρων με τα φυσιολογικά. Είναι ήδη γνωστό ότι η μελέτη των κυττάρων εν ζωή μπορεί να αυξήσει δραματικά την κατανόηση της συσχέτισης μοριακών γεγονότων που πραγματοποιούνται αδιάλειπτα σε κάθε κύτταρο. Κάθε κύτταρο είναι περισσότερο ή λιγότερο διαφορετικό από κάποιο άλλο, ακόμα και αν ανήκει στον ίδιο κυτταρικό τύπο. Η κυτταρική ετερογένεια είναι ευρέως γνωστή στα βακτήρια και πλέον γίνεται ραγδαία αντιληπτή και στα ευκαρυωτικά κύτταρα.

Η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων προσφέρει ένα μέσο για την ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό διαφορετικών τύπων κυττάρων και δύναται να αποδείξει την ετερογένεια μεταξύ κυττάρων ίδιου τύπου [2, 3]. Επιπλέον, η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων επιτρέπει την ταυτοποίηση σπάνιων κυττάρων με διαγνωστική σημασία, όπως τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα. Τέλος, εκτιμάται ότι έχει τη δυνατότητα να προσφέρει πληροφορίες για την εν τω βάθει κατανόηση της παθοβιολογίας της ανθρώπινης ασθένειας, αλλά και της διαδικασίας της γήρανσης. Στο άρθρο αυτό, περιγράφονται οι εφαρμογές και προοπτικές της ανάλυσης μεμονωμένων κυττάρων.

### **Σύγχρονες εφαρμογές της ανάλυσης μεμονωμένων κυττάρων**

Η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ευρέως, τόσο για ερευνητικούς σκοπούς, όσο και για διαγνωστικούς, ή και θεραπευτικούς [4]. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι καθώς στο σύνολό της, η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων και οι αντίστοιχες τεχνικές είναι σχετικά πρόσφατες, και μεγάλο μέρος από αυτές είναι σε στάδιο ανάπτυξης και βελτιστοποίησης, η κλινική εφαρμογή των περισσότερων απέχει ακόμα αρκετά [2, 3, 5, 6].

Ίσως η σημαντικότερη από τις εφαρμογές της ανάλυσης μεμονωμένων κυττάρων αφορά την αντιμετώπιση του καρκίνου. Η πολυπλοκότητα αυτής της ασθένειας δρα αποτρεπτικά στην ανακάλυψη μιας αποτελεσματικής διαγνωστικής τεχνικής. Η ανάλυση μεμονωμένων

κυττάρων μπορεί να προσφέρει σημαντική βοήθεια στην κατανόηση της ασθένειας με αναλύσεις μεμονωμένων κυττάρων καρκινικών όγκων. Αναλύσεις τέτοιων κυττάρων σε διάφορα στάδια της ανάπτυξής τους μας βοηθούν στην παρακολούθηση της προόδου της ασθένειας, πριν και μετά την θεραπεία, αλλά και στον εντοπισμό ή/και στην ταυτοποίηση των καρκινικών βλαστικών κυττάρων. Επίσης, η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων προσδιορίζει την ετερογένεια των κυττάρων ενός όγκου.

Επιπρόσθετα, οι τεχνικές της ανάλυσης μεμονωμένων κυττάρων βοηθούν στο συσχέτισμό της πρωτεϊνικής έκφρασης με την κυτταρική μορφολογία, μια σύνδεση που χάνεται, όταν αποκωδικοποιείται το γενετικό προφίλ από κλασικά δείγματα. Σε αντίθεση με τις κλασικές τεχνικές, οι οποίες έχουν περιορισμούς στον αριθμό των πληροφοριών που μπορούν να εξαχθούν από ένα κύτταρο, με την ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων, πλέον, μπορούν να εξαχθούν πληροφορίες σχετικά με την πρωτεϊνική έκφραση, τη μορφολογία και την ιστολογία υπό μελέτη [6].

Η αναγεννητική ιατρική είναι ένας ακόμη τομέας που ωφελείται από την ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων. Η αναγεννητική ιατρική έχει ως στόχο τη θεραπεία πλήθους παθήσεων ή τραυματισμών με αναγέννηση/ αντικατάσταση κυττάρων ιστών ή οργάνων, χρησιμοποιώντας ως βασικά εργαλεία τα βλαστικά κύτταρα. Εδώ, η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων μπορεί να έχει μεγάλη συμβολή στον χαρακτηρισμό των κυττάρων (προσδιορισμός χαρακτηριστικών, τα οποία διαφοροποιούν κάθε κυτταρική σειρά), καθώς πολλές έρευνες σχετικά με τα βλαστικά κύτταρα έχουν δείξει μεγάλη ετερογένεια σε κυτταρικό επίπεδο, μεταξύ διαφοροποιημένων και αδιαφοροποίητων βλαστικών κυττάρων. Επιπλέον, η κατανόηση των μηχανισμών της μεταγραφής των βλαστικών κυττάρων σε συγκεκριμένα στάδια της ανάπτυξής τους αποτελεί πολύ σημαντική γνώση για το πώς τα βλαστικά κύτταρα αντιδρούν στις μεταβολές του περιβάλλοντός τους (π.χ. σε τραυματισμούς), καθώς και για την ίδια τη διαφοροποίησή τους.

Η γενετική ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων, επίσης, μπορεί να αποδειχτεί ένα ανεκτίμητο εργαλείο για την καλύτερη μελέτη μονοκύτταρων μικροοργανισμών. Αναλύσεις μεμονωμένων κυττάρων με ειδικές τεχνικές μπορούν να περιγράψουν σχετικά αγνώστους πληθυσμούς μικροοργανισμών, να διευκολύνουν τη μελέτη κυττάρων που είναι δύσκολο να καλλιεργηθούν *in vitro*, καθώς και πληροφορίες για τον τρόπο ανάπτυξης μονοκύτταρων μικροοργανισμών στα πλαίσια μιας αποικίας. Επίσης, η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων αναμένε-

ται να προσφέρει μεγάλη βοήθεια στην καταπολέμηση παθογόνων μικροοργανισμών παρέχοντας αναλυτικές εξατομικευμένες πληροφορίες για στελέχη ανθεκτικά σε αντιβιοτικά, αλλά και τον εντοπισμό και τη μελέτη επιδημικών μικροβίων ή τοξικογόνων επιμολυντών στα τρόφιμα.

Συγκεκριμένοι κυτταρικοί τύποι είναι φορείς έως και 300-400 γονιδίων-στόχων άκρως εξειδικευμένων φαρμάκων. Επομένως, η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων για τον προσδιορισμό τέτοιων γονιδίων βελτιώνει την ακρίβεια και το εύρος δράσης των φαρμάκων αυτών, ενώ είναι και σημαντικό εργαλείο για την απλοποίηση βιολογικών συστημάτων, επιτρέποντας, έτσι, την ευκολότερη προσομοίωση της δράσης των φαρμάκων αυτών.

### **Σύγχρονες τεχνικές προσεγγίσεις πριν και κατά την γενετική ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων**

Η ανάπτυξη τεχνικών ανάλυσης του περιεχομένου στοχευμένων κυττάρων αποτελεί μια σημαντική κατεύθυνση στο πεδίο της βιοαναλυτικής χημείας. Αρχικά, η παρατήρηση των χρωμοσωμάτων, των οργανιδίων ή ο εντοπισμός συγκεκριμένων πρωτεϊνών λάμβανε χώρα με το μικροσκόπιο. Σήμερα, οι τεχνικές αναλυτικής μεγέθυνσης, όπως η μικροσκοπία έχουν τη δυνατότητα για διάκριση και εντοπισμό μακρομορίων μέσα στο υπό εξέταση κύτταρο, καθώς επίσης και τον εντοπισμό ακόμη μικρότερων μορίων, όπως ορμόνες και μεταβολίτες.

Αρχικά, κάθε χημική ανάλυση ξεκινά με την προετοιμασία του δείγματος και η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων δεν αποτελεί εξαίρεση. Ελεύθερα κύτταρα, όπως οι ζύμες, τα βακτήρια ή τα κύτταρα του αίματος μπορούν να απομονωθούν και να χρησιμοποιηθούν άμεσα, ωστόσο, τα κύτταρα από ιστούς πρέπει πρώτα να απομονωθούν, ενζυμικά, χημικά ή μηχανικά από το στρώμα και άλλα, προσαρτημένα ομοειδή ή ετεροειδή κύτταρα, με τα οποία συγκρατούνται με ισχυρούς διακυτταρικούς δεσμούς [7]. Η πρόσφατη ανάπτυξη της νανομηχανικής τεχνολογίας μπορεί να προσφέρει οργανολογία μηχανικής πρόσληψης κυττάρων από ιστούς. Αφού κατεργαστούν σωστά, καθίστανται δυνατές μελέτες με μικροσκόπιο ή διαδικασίες διαχωρισμού του κυτταρικού πληθυσμού πριν από την ανάλυση. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η μέθοδος Laser Capture Microdissection (LCM, Μικροεκτομή με Συλλογή κυττάρων με Laser) [8]. Η μέθοδος LCM προσφέρει την δυνατότητα απομόνωσης υποπληθυσμών κυττάρων από ιστούς με τη χρήση μικροσκοπίου. Καθιστά δυνατή την άμεση συλλογή κυττάρων ενδιαφέροντος

ή την απομόνωση συγκεκριμένων κυττάρων, από ποικιλία δειγμάτων, αποκόποντας τα ανεπιθύμητα ώστε να προκύψει καθαρός ιστός εμπλουτισμένος σε συγκεκριμένους κυτταρικούς πληθυσμούς. Η μέθοδος αυτή δε βλάπτει ή μεταβάλλει την μορφολογία και τη χημεία του δείγματος που συλλέγεται, ούτε τα περιβάλλοντα κύτταρα. Παράλληλα, η μέθοδος LCM μπορεί να εφαρμοστεί σε ποικιλία δειγμάτων ιστών. Στη συνέχεια λαμβάνουν χώρα οι διαδικασίες διαχωρισμού. Η ευρύτερα διαδεδομένη διαδικασία διαχωρισμού κυττάρων είναι η κυτταρομετρία ροής (flow cytometry). Σύμφωνα με αυτή, ένα φθορίζον αντίσωμα συνδέεται με τα αντιγόνα της κυτταρικής μεμβράνης επισημαίνοντας τα επιθυμητά κύτταρα.

Οι τεχνικές ανάλυσης μεμονωμένων κυττάρων διακρίνονται σε δύο (2) κατηγορίες, την ανάλυση πυρηνικών οξέων και την ανάλυση πρωτεϊνών/μεταβολιτών [3, 4, 9]. Οι ερευνητές μπορούν να μελετήσουν τη διαδικασία της μεταγραφής για να αποκαλύψουν νέους μηχανισμούς κυτταρικής ανάπτυξης, μεταβολισμού και ανωμαλιών, πραγματοποιώντας αλληλούχιση mRNA [10, 11]. Καθίσταται, λοιπόν, εφικτό να προσδιοριστεί η απόκριση και συμπεριφορά κυτταρικών υποπληθυσμών σε βιοχημικά σήματα και άλλα ερεθίσματα σε κρίσιμα στάδια της ανάπτυξής τους ή όταν παρουσιάζουν ανώμαλους φαινότυπους. Επιπλέον, τα microRNA (miRNAs) ρυθμίζουν την έκφραση των mRNA και εμπλέκονται σε βιολογικές διαδικασίες όπως η διαφοροποίηση και ο κυτταρικός κύκλος, καθώς επίσης και σε ασθένειες, όπως ο καρκίνος και οι καρδιοαγγειοπάθειες. Λόγω των παραπάνω, η μελέτη των miRNA προσφέρει γνώση για τις διαφορές μεταξύ παρεμφερών κυττάρων.

Οι αναλύσεις μεμονωμένων κυττάρων που βασίζονται στη χρήση αντισωμάτων ως κυρίαρχη τεχνολογία ανίχνευσης έχουν εξαιρετική πιστότητα και ακρίβεια. Με την αλληλούχιση, σήμερα, του συνόλου των εξωνίων συγκεκριμένων/μοναδικών κυττάρων μπορούμε να αποκαλύψουμε την πραγματική ανομοιογένεια ενός δείγματος [11]. Μάλιστα, κατά την αλληλούχιση στοχευμένων περιοχών DNA, δίδεται η δυνατότητα να αναγνωρίζονται σε κυτταρικούς πληθυσμούς σωματικές μεταλλάξεις σε ήδη γνωστά γονίδια που είναι μη ανιχνεύσιμες σε ομοειδή δείγματα. Παρόλο που η ανάλυση των πρωτεϊνών και των μεταβολιτών είναι πιο δύσκολη από εκείνη των πυρηνικών οξέων, η ανάλυση μεμονωμένων κυτταρικών πρωτεϊνών με φασματομετρία μάζας δίνει μια πιο κατανοητή εικόνα της κυτταρικής επιφάνειας και των ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών-δεικτών [12]. Με την παραπάνω μέθοδο μπορούμε να πάρουμε δεδομένα σχετικά με την κλινική εικόνα τον φαινότυπο, τους

μεταγραφικούς παράγοντες, την κυτταρική αύξηση και τον κυτταρικό κύκλο. Με τη φασματομετρία μάζας μπορούμε να ποσοτικοποιήσουμε χιλιάδες πρωτεΐνες και τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις τους [13-16].

### Σύγχρονες προκλήσεις κατά την ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων

Οι μεθοδολογίες ανάλυσης μεμονωμένων κυττάρων αναπτύχθηκαν και εξελίχθηκαν ραγδαία τα τελευταία 5 χρόνια, όχι μόνο παρέχοντας μια ενδελεχέστερη βιολογική εικόνα σε σχέση με τις τρέχουσες μεθοδολογίες, αλλά και εισάγοντας μια εντελώς νέα αντίληψη, αυτή που δεν θεωρεί την ετερογένεια ενός κυτταρικού πληθυσμού ως αποτρεπτικό στοιχείο για την ενδελεχή μελέτη του [2].

Εντούτοις, η πλειοψηφία των μεθοδολογιών ανάλυσης μεμονωμένων κυττάρων προέρχονται από ακαδημαϊκά περιβάλλοντα και συνεπώς, απαιτούν συγκεκριμένες εργαστηριακές δεξιότητες και ενίοτε διεπιστημονικές υποδομές, που δυσχεραίνουν την κλινική τους εφαρμογή. Επιπλέον, οι αλγόριθμοι που απαιτούνται για την εν τω βάθει ανάλυση των δεδομένων είναι λιγότερο ώριμοι, συγκριτικά με εκείνους που χρησιμοποιούνται στα υπόλοιπα πεδία της Ωμικής, όταν εξετάζεται ένας ολόκληρος κυτταρικός πληθυσμός, δίχως εστίαση στη φυσική κυτταρική μονάδα. Σε αυτό το σημείο προκύπτει και η άμεση ανάγκη για προτυποποίηση, η οποία μόλις έχει ξεκινήσει για την πολυχρωματική κυτταρομετρία ροής, την κυτταρομετρία μάζας και την RNA αλληλούχιση μεμονωμένων κυττάρων [2].

Η ορθή πρακτική και εφαρμογή της ανάλυσης μεμονωμένων κυττάρων έχει επιφέρει ελάχιστο προβληματισμό, γεγονός που απαιτείται άμεσα να γίνει αντιληπτό. Η Βιοηθική διερευνά τις ηθικές προκλήσεις που εμφανίζουν οι σύγχρονες εξελίξεις στη Βιολογία και την Ιατρική και ως εκ τούτου, η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων δε θα μπορούσε να αποτελεί εξαίρεση. Ειδικότερα, αν αναλογιστούμε την αναγεννητική ιατρική, καθίσταται σαφές πως εστιάζει σε καινοτόμες κυτταρικές προσεγγίσεις ή μεθοδολογίες μοριακής θεραπείας, στις οποίες τα βλαστικά κύτταρα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο και φυσικά, το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στο κύτταρο

ως μονάδα. Υπό αυτό το πρίσμα, οποιαδήποτε εφαρμογή της ανάλυσης μεμονωμένων κυττάρων σχετίζεται με την αναγεννητική ιατρική, εγείρει τους ίδιους ηθικούς προβληματισμούς με αυτούς περί βλαστικών κυττάρων [17, 18].

### Μελλοντικές προοπτικές της ανάλυσης μεμονωμένων κυττάρων

Αδιαμφισβήτητος στόχος για το μέλλον είναι η ελαχιστοποίηση του επεμβατικού μεγέθους, του χρόνου και των επαναλήψεων της βιοψίας στον ασθενή με ταυτόχρονη συλλογή μεγάλου αριθμού κυττάρων. Ακόμη, θα είναι σημαντικό τα κύτταρα να διατηρούνται στον μέγιστο αριθμό τους και να μην χάνονται ή υποβαθμίζονται κατά την προετοιμασία και τη διάρκεια των εργαστηριακών δοκιμών, και να παραμένουν όλα πληροφοριακά ακέραια. Επίσης, απαιτείται υποδομή αποθήκευσης μεγάλου όγκου πληροφοριών.

Η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων έχει να προσφέρει πολλά, τόσο στον τομέα της κλινικής ιατρικής, όσο και στον τομέα της βιολογίας και της φαρμακευτικής [2, 3, 5, 6]. Με την ανάπτυξη των προσεγγίσεων της ανάλυσης μεμονωμένων κυττάρων θα βελτιωθεί η αντίληψή μας αναφορικά με την κυτταρική ποικιλομορφία, και με τις βιολογικές επιπτώσεις που συσχετίζονται με την ευαισθησία σε ασθένειες και τη γήρανση. Παράλληλα, η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων θα συνεισφέρει στον καλύτερο προσδιορισμό των κυτταρικών τύπων, αφού μέχρι στιγμής δεν υπάρχει κοινή άποψη για το τι πραγματικά καθορίζει έναν κυτταρικό τύπο. Η σύγχρονη αντίληψη βασίζεται σε χαρακτηριστικά, όπως η κλινική εικόνα, ο μορφότυπος, ο γονότυπος, ο συνολικός φαινότυπος ή η προέλευση των κυττάρων. Μεγάλης κλίμακας αναλύσεις θα βοηθήσουν την χαρτογράφηση των γνωστών κυτταρικών τύπων, αλλά και την ταυτοποίηση σπάνιων ή ακόμη και νέων. Επιπλέον, υπάρχει δυνατότητα ανάλυσης σπάνιων κυτταρικών γεγονότων. Τέλος, η ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων μπορεί να οδηγήσει στην πλήρη κατανόηση του σωματικού μωσαϊσμού και στον προσδιορισμό της κυτταρικής γενεολογίας και προέλευσης [19]. ●



## ABSTRACT

# Genetic analysis of single cells: Applications, challenges and perspectives

**Anastasia Melissaritou, Georgios Militsis, Alexandros Pervanidis, Dimitrios Providas, Athanasios Hamzas, Theodora Katsila, George P. Patrinos**

University of Patras, School of Health Sciences, Department of Pharmacy, Patras, Greece

Single-cell analysis holds the promise to delineate cell heterogeneity, even among cells of the same tissue. This is a novel approach that can provide a deeper understanding of the cellular and molecular behavior in comparison to other existing methods. No doubt, the “unravelling” of the genome, the study of proteins, hormones and other metabolites leads

to the development of many new paths in the scientific area of cell biology with benefits regarding to prevention, diagnosis and treatment. Thus, single-cell analysis and its prospect for the hold near future promise for both scientific research and treatment, even though clinical applications are currently limited.

**KEY WORDS:** Single cells; genetic diagnosis; genome; cellular and molecular behavior; personalized medicine

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Schuster, K.C., E. Urlaub, and J. Gapes, Single-cell analysis of bacteria by Raman microscopy: spectral information on the chemical composition of cells and on the heterogeneity in a culture. *Journal of Microbiological Methods*, 2000. 42(1): p. 29-38.
2. Heath, J.R., A. Ribas, and P.S. Mischel, Single-cell analysis tools for drug discovery and development. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2016. 15(3): p. 204-216.
3. Wang, D. and S. Bodovitz, Single cell analysis: the new frontier in 'omics'. *Trends in biotechnology*, 2010. 28(6): p. 281-290.
4. Shirai, M., T. Taniguchi, and H. Kambara, Emerging applications of single-cell diagnostics, in *Chemical Diagnostics*. 2012, Springer. p. 99-116.
5. Speicher, M.R., Single-cell analysis: toward the clinic. *Genome medicine*, 2013. 5(8): p. 1.
6. Carlo, D.D. and L.P. Lee, Dynamic single-cell analysis for quantitative biology. *Analytical chemistry*, 2006. 78(23): p. 7918-7925.
7. Schmid, A., et al., Chemical and biological single cell analysis. *Current opinion in biotechnology*, 2010. 21(1): p. 12-20.
8. Espina, V., et al., Laser-capture microdissection. *Nature protocols*, 2006. 1(2): p. 586-603.
9. Van der Aa, N., et al., Preimplantation genetic diagnosis guided by single-cell genomics. *Genome medicine*, 2013. 5(8): p. 1.
10. Tang, F., et al., mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell. *Nature methods*, 2009. 6(5): p. 377-382.
11. Ståhlberg, A., M. Kubista, and P. Åman, Single-cell gene-expression profiling and its potential diagnostic applications. *Expert review of molecular diagnostics*, 2011. 11(7): p. 735-740.
12. Bendall, S.C., et al., Single-cell mass cytometry of differential immune and drug responses across a human hematopoietic continuum. *Science*, 2011. 332(6030): p. 687-696.
13. Naik, A., et al., Towards single-molecule nanomechanical mass spectrometry. *Nature nanotechnology*, 2009. 4(7): p. 445-450.
14. Hofstadler, S.A., et al., Analysis of single cells with

- capillary electrophoresis electrospray ionization fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry*, 1996. 10(8): p. 919-922.
15. Jimenez, C., et al., Rapid Communication: Neuropeptide Expression and Processing as Revealed by Direct Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry of Single Neurons. *Journal of neurochemistry*, 1994. 62(1): p. 404-407.
  16. Dell, A. and H.R. Morris, Glycoprotein structure determination by mass spectrometry. *Science*, 2001. 291(5512): p. 2351-2356.
  17. Merviel, P., et al., [The bioethics law revision: comparative analysis of contributions from different public and professional offices. Assisted Reproductive Technology, embryo and stem cells research, umbilical cord blood bank]. *Gynecologie, obstetrique & fertilité*, 2009. 37(9): p. 733-741.
  18. Green, R.M., Benefiting from 'evil': an incipient moral problem in human stem cell research. *Bioethics*, 2002. 16(6): p. 544-556.
  19. Frumkin, D., et al., Genomic variability within an organism exposes its cell lineage tree. *PLoS Comput Biol*, 2005. 1(5): p. e50.

## ΠΡΩΤΟΤΥΠΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

# Το φορητό Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας 2MoBiL στην εκπαίδευση μαθητών στο πεδίο της Μοριακής Γενετικής και Εξατομικευμένης Ιατρικής

Σταυρούλα Σιαμόγλου, Γεώργιος Π. Πατρινός \*

Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας, Πάτρα

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι τομείς της Μοριακής Βιολογίας, Γενετικής και Εξατομικευμένης Ιατρικής χαρακτηρίζονται από δυναμική και ταχεία ανάπτυξη και προτρέπουν σε διαρκή μαθησιακή εγρήγορση με δια βίου εκπαίδευση από τα μαθητικά κιάλια χρόνια. Το φορητό εργαστήριο μοριακής βιολογίας 2MoBiL (Mobile Molecular Biology Laboratory) αναπτύχθηκε από το Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Πατρών και περιλαμβάνει ένα πλήρες εργαστήριο μοριακής βιολογίας που μπορεί να μεταφερθεί σε όλα τα σημεία της χώρας μέσα σε μια μικρή βαλίτσα. Το φορητό εργαστήριο μοριακής βιολογίας 2MoBiL έχει ως στόχο την εξοικείωση των μαθητών της δευτερο-

βάθμιας, αλλά και πρωτοβάθμιας, εκπαίδευσης, με έννοιες και πειραματικές διαδικασίες σχετικές με το πεδίο της Μοριακής Γενετικής και Εξατομικευμένης Ιατρικής και παράλληλα την ενημέρωση του ευρύτερου κοινού για τη σημασία της ανάλυσης του ανθρώπινου γονιδιώματος και των πλεονεκτημάτων της εφαρμογής της εξατομικευμένης ιατρικής τόσο για τον άνθρωπο ως μονάδα όσο και για το εθνικό σύστημα υγείας συνολικότερα. Με εκπαιδευτικές δράσεις από το 2016, το φορητό εργαστήριο μοριακής βιολογίας 2MoBiL φιλοδοξεί να συμβάλει στην καλύτερη εκπαίδευση των μαθητών αλλά και την εξοικείωση του κοινού στα επιστημονικά πεδία της Μοριακής Γενετικής και εξατομικευμένης ιατρικής.

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΥΡΕΤΗΡΙΟΥ:** Φορητό εργαστήριο, Μοριακή Βιολογία, γενετική διάγνωση, εξατομικευμένη ιατρική, εκπαίδευση, μαθητές

### \* Αντεπιστέλλων Συγγραφέας

Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας, Πανεπιστημιούπολη, Ρίο, 265 04, Πάτρα  
Τηλέφωνο Επικοινωνίας: 2610-962339, Fax: 2610-969955, Email: gpatrinos@upatras.gr

## Εισαγωγή

Οι τομείς της Μοριακής Βιολογίας, Γενετικής και Εξατομικευμένης Ιατρικής χαρακτηρίζονται από δυναμική και ταχεία ανάπτυξη και προτρέπουν σε διαρκή μαθησιακή εγρήγορση με δια βίου εκπαίδευση από τα μαθητικά κιόλας χρόνια. Στη χώρα μας, η εκπαίδευση των μαθητών δημοτικού, γυμνασίου και λυκείου ακόμη, στα πεδία αυτά περιορίζεται, στις περισσότερες περιπτώσεις, στην στείρα παράθεση θεωρητικών γνώσεων, γεγονός που δεν επιτρέπει την ενεργό συμμετοχή και διαδραστική μάθηση στα σύγχρονα αυτά αντικείμενα. Για τον λόγο αυτό, είναι αναγκαίος ο συνδυασμός θεωρητικής και πρακτικής εκπαίδευσης, ώστε η κατάρτιση των μαθητών να είναι ορθότερη, πληρέστερη και σφαιρικότερη.

Το Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Πατρών καθιέρωσε, από το 2016, το Φορητό Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας 2MoBiL (Mobile Molecular Biology Laboratory). Απώτερος στόχος του φορητού εργαστηρίου μοριακής βιολογίας 2MoBiL είναι η εξοικείωση των μαθητών της δευτεροβάθμιας, αλλά και πρωτοβάθμιας, εκπαίδευσης, με έννοιες και πειραματικές διαδικασίες δυσνόητες με τα μέσα της παραδοσιακής συμβατικής μελέτης και παράλληλα η ενημέρωση του ευρύτερου κοινού για τη σημασία της ανάλυσης του ανθρώπινου γονιδιώματος και των πλεονεκτημάτων της εφαρμογής της εξατομικευμένης ιατρικής τόσο για τον άνθρωπο ως μονάδα όσο και για το εθνικό σύστημα υγείας συνολικότερα. Πρόκειται για ένα φορητό εργαστήριο του οποίου η μεταφορά και η διεξαγωγή των πειραμάτων είναι δυνατή σε κάθε σχολική μονάδα της επικράτειας. Η μεταφορά του είναι εύκολη καθώς πρόκειται για ένα εργαστήριο μοριακής βιολογίας που χωράει σε μία μόνο μικρή βαλίτσα!

Το φορητό εργαστήριο μοριακής βιολογίας συνοδεύεται από ένα θεωρητικό πλαίσιο, στο οποίο περιγράφονται με λεπτομέρεια τα πρωτόκολλα των πειραμάτων πέντε εργαστηριακών φάσεων. Επιπλέον, το συνολικό θεωρητικό πλαίσιο συμπληρώνεται με comics, που καταφέρνουν με τη βοήθεια σκίτσων και σύντομων ιστοριών να μετατρέπουν επιστημονικές δυσνόητες έννοιες σε βασικούς πρωταγωνιστές σύντομων σεναρίων. Έννοιες όπως μοριακή βιολογία, κύτταρο, πυρήνας, πυρηνικά οξέα, γονιδίωμα, γονίδιο, μετάλλαξη, γονιδιακός έλεγχος και φαρμακογονιδιωματική αποδίδονται με τρόπο προσαρμοσμένο, ανάλογα με το εκάστοτε υπόβαθρο γνώσεων. Η εισαγωγική φάση περιλαμβάνει αρχικά comics και συνα-

φείς δράσεις, προσαρμοσμένες για την περίπτωση μαθητών όλων των βαθμίδων δευτεροβάθμιας, αλλά και πρωτοβάθμιας, εκπαίδευσης και άλλων χωρίς βιολογική προπαίδεια (π.χ. με κατασκευές με πλαστελίνη) πριν από την επίδειξη των πειραματικών διαδικασιών, οι οποίες καταλήγουν σε ασκήσεις εμπέδωσης των εννοιών που προηγήθηκαν. Με αυτό το τρόπο γίνεται δυνατή και η εκπαιδευτική προσέγγιση μαθητών Γυμνασίου και Λυκείου αλλά και μεγάλων τάξεων δημοτικού.

Για παράδειγμα, στα πλαίσια της διδασκαλίας του μαθήματος της Βιολογίας στη Β' και Γ' Λυκείου, διδάσκεται ότι το γονιδίωμα του ανθρώπου έχει μήκος περίπου 2m και συσπειρώνεται σε τέτοιο βαθμό, ώστε να χωράει στον πυρήνα, που έχει διάμετρο δέκα εκατομμυριοστά του μέτρου. Θα ήταν εξαιρετικά ενδιαφέρον αν οι μαθητές είχαν τη δυνατότητα να δουν έμπρακτα αυτό που περιγράφεται παραπάνω. Με αυτό τον τρόπο οι μαθητές παρακινούνται για περαιτέρω γνώση και πληροφόρηση. Με την πραγματοποίηση πειραμάτων μοριακής βιολογίας σε πραγματικό χρόνο, παρουσία των μαθητών και των εκπαιδευτικών παρέχεται η δυνατότητα αφ' ενός να κατανοηθεί η σημασία της τήρησης συγκεκριμένων κανόνων και πρωτοκόλλων κατά τη διάρκεια διεξαγωγής ενός πειράματος.

## Σκοπός του φορητού εργαστηρίου μοριακής βιολογίας 2MoBiL

Σκοπός του φορητού εργαστηρίου μοριακής βιολογίας 2MoBiL είναι η εξοικείωση των μαθητών με το πεδίο της μοριακής γενετικής και της εξατομικευμένης ιατρικής. Το DNA, για το οποίο λαμβάνουν πολυάριθμες πληροφορίες στα πλαίσια της σχολικής εκπαίδευσης και εκτός αυτής, στην ουσία απομυθοποιείται. Οι μαθητές έχουν τη δυνατότητα πλέον να δουν το DNA με γυμνό μάτι, ως μια λευκή ίνα. Επιπλέον, οι μαθητές καλούνται να συσχετίσουν χαρακτηριστικά τους με το γενετικό τους περιεχόμενο. Συγκεκριμένα, καλούνται να δοκιμάσουν λάχανο και να απαντήσουν στην ερώτηση «Τι γεύση έχει το λάχανο σε εσένα;» βαθμολογώντας την πικρή γεύση που αντιλαμβάνονται. Το κύριο όργανο αντίληψης της γεύσης είναι η γλώσσα που φέρει τους γευστικούς υποδοχείς *TAS2R*, που είναι υπεύθυνοι για την αντίληψη του πικρού. Το 1932 ο Arthur Fox διαπίστωσε τυχαία πως οι άνθρωποι διαχωρίζονται στους «γεύστες» και «μη γεύστες» της πικρής γεύσης του φαινυλοθειοκαρβαμιδίου PTC [1-3]. Το γονίδιο *TAS2R38* συνδέεται με την ικανότητα αντίληψης της πικρής γεύσης του PTC και οδηγεί σε

διαφορετική εκτίμηση πικρών λαχανικών και φρούτων από τους «γεύστες» και τους «μη γεύστες», όπως για παράδειγμα τα μπρόκολα, το σπανάκι, το λάχανο και το γκρέιφρουτ. Με τη συγκεκριμένη εκπαιδευτική διαδικασία, η έννοια του γονιδίου γίνεται οικεία μέσω εστίασης στη συσχέτιση ενός φυσιολογικού χαρακτηριστικού που συναντούν στην καθημερινότητά τους και στο γονίδιο *TAS2R38*, επιτρέποντας στους μαθητές να εμπεδώσουν σε βάθος τη δυνατότητα γονιδιακού ελέγχου ενός χαρακτηριστικού και της συσχέτισης ενός χαρακτηριστικού του ατόμου με το γονότυπό του. Επιπλέον, έννοιες όπως μετάλλαξη, άτομο ομόζυγο ή ετερόζυγο και η σημασία της ποικιλομορφίας των ατόμων ως προς ένα χαρακτηριστικό, όπως η αντίληψη της πικρής γεύσης θα αποδοθούν με τρόπο κατανοητό, αφού προηγηθεί η εργαστηριακή φάση γονοτύπησης με περιοριστικό ένζυμο και ηλεκτροφόρηση.

Τέλος τονίζεται η προέκταση σε ανάλογη συσχέτιση γονιδίων και απόκρισης ατόμων σε φαρμακευτική αγωγή, εισάγοντας το κοινό στις έννοιες της φαρμακογονιδιωμιατικής και της εξατομικευμένης θεραπείας.

### **Περιγραφή του φορητού εργαστηρίου και υλοποίηση των εργαστηριακών φάσεων**

Το φορητό εργαστήριο μοριακής βιολογίας 2MoBiL μεταφέρεται σε μία μικρή βαλίτσα και περιλαμβάνει θερμικό κυκλοποιητή, φυγόκεντρο, στροβιλοαναδευτήρα, συσκευή ηλεκτροφόρησης και τράπεζα διερχόμενης υπεριώδους ακτινοβολίας (**Εικ. 1**). Παράλληλα διαθέτει επιτραπέζια εστία θέρμανσης, μικροπιπέτες, ποτήρι ζέσεως, κωνική φιάλη, πλαστικό ογκομετρικό σωλήνα καθώς και όλα τα αναλώσιμα (πλαστικά ακρορύγχια μιας χρήσης, αυτοπωματιζόμενα σωληνάρια πολυπροπυλενίου, βιδωτού πωματισμού ακρυλικούς δοκιμαστικούς σωλήνες, κ.α.) και τα αντιδραστήρια που απαιτούνται για τη διεξαγωγή των εκάστοτε πειραμάτων ανά εργαστηριακή φάση.

Οι πειραματικές μέθοδοι που παρουσιάζονται στους μαθητές είναι:

- I. Απομόνωση DNA από επιθηλιακά κύτταρα της έσω παρειάς.
- II. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR).
- III. Ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης.
- IV. Γονοτύπηση και επανηλεκτροφόρηση με τη μέθοδο της επώασης με περιοριστικά ένζυμα.

Το πρωτόκολλο απομόνωσης του DNA από επιθηλιακά κύτταρα έσω παρειάς (Εργαστηριακή Φάση I) αποτελεί προσαρμογή του πρωτοκόλλου χαμηλού

κόστους για εκπαιδευτική χρήση που αναπτύχθηκε το 2010 από τους Hearn και Arblaster [4]. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιείται ισοτονικό αναψυκτικό του εμπορίου για λόγους ασφαλείας και περιέχει χρωστική που καθιστά το ίζημα ορατό. Η χρήση του αναψυκτικού δεν φαίνεται να επηρεάζει την καθαρότητα του DNA και τη διεξαγωγή πειραμάτων με αυτό. Το DNA που εξάγεται χρησιμοποιείται σε πειράματα α) αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης, β) πέψης με περιοριστικό ένζυμο για γονοτύπηση και γ) ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα αγαρόζης. Στόχος είναι ο πολλαπλασιασμός μιας περιοχής του γονιδίου *TAS2R38* που περιέχει τον πολυμορφισμό rs1726866 που συσχετίζεται με την αντίληψη της πικρής γεύσης του φαινυλοθειοκαρβαμιδίου.

Με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Εργαστηριακή Φάση II) πραγματοποιείται πολλαπλασιασμός επιλεγμένων τμημάτων του γονιδίου *TAS2R38* που εδράζεται στο χρωμόσωμα 7 και περιέχει τον πολυμορφισμό rs1726866. Αυτός συνίσταται στη αντικατάσταση μιας θυμίνης (T) σε κυτοσίνη (C), που έχει ως αποτέλεσμα την αντικατάσταση του αμινοξέος βαλίνη (V) από αλανίνη (A) στην αλληλουχία της πρωτεΐνης. Πιο συγκεκριμένα, η θυμίνη εμφανίζεται σε άτομα που δεν αντιλαμβάνονται την πικρή γεύση της ένωσης του φαινυλοθειοκαρβαμιδίου (phenylthiocarbamide, PTC) («μη γεύστες»), ενώ η κυτοσίνη εμφανίζεται στα άτομα που την αντιλαμβάνονται («γεύστες»).

Οι μαθητές στην εργαστηριακή φάση II, καλούνται να δοκιμάσουν λάχανο και έπειτα να απαντήσουν στην ερώτηση «Τι γεύση έχει το λάχανο σε εσένα;» βαθμολογώντας την πικρή γεύση που αντιλαμβάνονται από το 1 έως το 3 (το 1 υποδηλώνει λίγη, το 2 υποδηλώνει μέτρια και το 3 υποδηλώνει έντονα πικρή γεύση). Σε αυτό το σημείο τονίζεται ότι η διαφορετική αντίληψη της πικρής γεύσης από το κάθε άτομο, οφείλεται σε συνδυασμό τουλάχιστον τριών γενετικών παραλλαγών της οικογένειας των γευστικών υποδοχέων, με αποτέλεσμα να θεωρείται πιθανή η απόκλιση συσχέτισης γονοτύπου με αναμενόμενο φαινότυπο στα πλαίσια της εκπαιδευτικής δραστηριότητας, η οποία εστιάζει σε μία μόνο γενετική παραλλαγή. Ωστόσο επισημαίνεται ότι η πρωτοβουλία της διαμόρφωσης του 2MoBiL έχει εκπαιδευτικό και ενημερωτικό χαρακτήρα και όχι ερευνητικό, έτσι η πιθανή απόκλιση δεν θα αποτελεί πρόβλημα στον τελικό εκπαιδευτικό στόχο.

Κατά την Εργαστηριακή Φάση III, πραγματοποιείται ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης ενώ κατά την





**Εικόνα 1:** Το φορητό εργαστήριο μοριακής βιολογίας 2MoBiL. Η συσκευή περιλαμβάνει θερμικό κυκλοποιητή, φυγόκεντρο, συσκευή ηλεκτροφόρησης, καθώς και τράπεζα οπτικοποίησης του τελικού αποτελέσματος. Τη συσκευή συνοδεύουν ρυθμιζόμενες πιπέττες ακριβή όγκου, πλαστικός ογκομετρικός σωλήνας, κωνική φιάλη, ποτήρι ζέσεως, στροβιλοαναδευτήρας, εστία θέρμανσης και τράπεζα διερχόμενης υπεριώδους ακτινοβολίας, πλαστικά ακρορύγχια μιας χρήσης, αυτοπωματιζόμενα σωληνάρια πολυπροπυλενίου, βιδωτού πωματισμού ακρυλικού δοκιμαστικού σωλήνες και όλα τα απαραίτητα αναλώσιμα για τη διεξαγωγή των πειραμάτων των πέντε εργαστηριακών φάσεων. Το φορητό εργαστήριο είναι κατάλληλα σχεδιασμένο για εύκολη και γρήγορη μεταφορά.

Εργαστηριακή Φάση IV, πραγματοποιείται πέψη των προϊόντων PCR της Εργαστηριακής Φάσης II με το περιοριστικό ένζυμο Fnu4H1 [5-6]. Συγκεκριμένα, το ένζυμο αναγνωρίζει και πέπτει το DNA όταν στην πολυμορφική θέση υπάρχει η κυτοσίνη, και η ηλεκτροφόρηση του αποκαλύπτει γονότυπο από το περιοριστικό πρότυπο [7-8].

Αξιοσημείωτο είναι ότι στα πλαίσια της εκπαίδευσης και της παιδαγωγικής προσέγγισης, τονίζεται το γεγονός πως το σύνολο της γενετικής πληροφορίας που είναι αποθηκευμένη στο ανθρώπινο γονιδίωμα, αποτελεί αδιάσειστο προσωπικό δεδομένο. Γι' αυτό το λόγο τονίζεται ότι απαιτείται η ενυπόγραφη συγκατάθεση των ατόμων μετά από πλήρη ενημέρωση και διαβεβαίωσή τους πως το DNA δεν θα χρησιμοποιηθεί για οποιοδήποτε άλλο σκοπό πέρα από αυτόν για τον οποίο ενημερώθηκαν. Στην περίπτωση που το άτομο-δότης δεν είναι σε θέση να υπογράψει, τότε

κρίνεται αναγκαία η συγκατάθεση από τον κηδεμόνα ή συγγενή.

Το θεωρητικό πλαίσιο, αποστέλλεται νωρίτερα στον υπεύθυνο διδάσκοντα μετά από εκδήλωση ενδιαφέροντος. Έτσι υπάρχει ο κατάλληλος χρόνος κατανόησης εκ μέρους του διδάσκοντα της συνολικής εκπαιδευτικής διαδικασίας και για διανομή υλικού στους μαθητές. Οι μαθητές μέσω ανάγνωσης, τόσο των βασικών γνώσεων υποβάθρου, όπως αυτό παρέχεται στο θεωρητικό πλαίσιο, όσο και των comics που το συνοδεύουν θα μπορούν να αποκτήσουν μια σφαιρική αντίληψη της μοριακής βιολογίας και γενετικής γενικότερα και των πειραμάτων που θα πραγματοποιηθούν.

### Συνοδές ασκήσεις

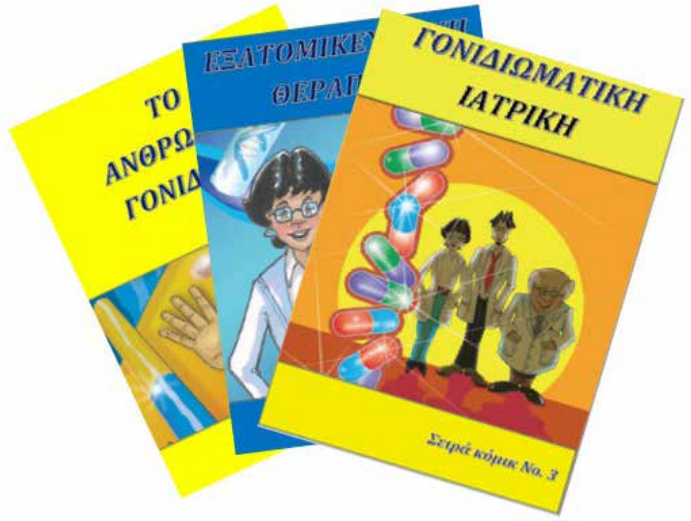
Με το πέρας όλων των επιθυμητών πειραματικών διαδικασιών και της επίλυσης τυχόν αποριών εκ μέρους

των παρευρισκομένων, ακολουθούν διαδραστικές ασκήσεις εμπέδωσης με μορφή κρυπτόλεξου, ερωτήσεων πολλαπλής επιλογής και ασκήσεων αντιστοίχισης. Στόχος του φορητού εργαστηρίου μοριακής βιολογίας 2ΜοBiL δεν είναι απλά η επανάληψη εννοιών που παρατίθενται και τη διάρκεια των σχολικών μαθημάτων αλλά η εμπέδωση και πλήρης κατανόηση με τρόπο που θα κεντρίσει το ενδιαφέρον του κοινού και θα το κρατήσει αμείωτο καθ'όλη τη διάρκεια των εργαστηριακών φάσεων.

Στην περίπτωση που οι μαθητές είναι ακόμη νεότεροι ηλικιακά από ότι οι μαθητές Γυμνασίου και Λυκείου, τότε προβλέπονται επιπλέον δράσεις με πλαστελίνη όπως για παράδειγμα κατασκευή δίκλωνου DNA, αντιστοίχιση των βάσεων με τον ορθό τρόπο και με τον κατάλληλο αριθμό δεσμών υδρογόνου μεταξύ αυτών. Επίσης, για τις ανάγκες της εκπαίδευσης μαθητών Δημοτικού, υπάρχει ειδική σειρά comics τα οποία περιγράφουν με απλό τρόπο έννοιες σχετικές με τα πεδία της Μοριακής Γενετικής και Εξατομικευμένης Ιατρικής (**Εικ. 2**). Για την ώρα, η σειρά περιλαμβάνει 3 comics με προοπτική ο αριθμός τους να αυξηθεί με σχετική θεματολογία στο άμεσο μέλλον. Παράλληλα, σειρά από διαδικτυακά παιχνίδια για κινητά τηλέφωνα για παιδιά λυκείου είναι ήδη υπό προετοιμασία με σκοπό την κατανόηση των αρχών της Μοριακής Γενετικής και Εξατομικευμένης Ιατρικής με έναν περισσότερο διαδραστικό τρόπο.

### Αναμενόμενα αποτελέσματα

Η δημιουργία του φορητού εργαστηρίου μοριακής βιολογίας 2ΜοBiL και του προτεινόμενου συνοδευτικού υλικού προσφέρει αυτόματα τη δυνατότητα εξοικείωσης των μαθητών της δευτεροβάθμιας αλλά και πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης με τον τομέα της μοριακής βιολογίας, καθώς και με πειραματικές τεχνικές και πρωτόκολλα που διέπουν τη διεξαγωγή ενός πειράματος καθώς και την ενημέρωση του ευρύτερου κοινού ανεξαρτήτως ηλικίας. Το φορητό εργαστήριο μοριακής βιολογίας 2ΜοBiL μεταφέρεται εύκολα καθώς μπορεί να μεταφερθεί μέσα σε μία μικρή μόνο βαλίτσα! Όλος ο εργαστηριακός εξοπλισμός καθώς και όλα τα αναλώσιμα και τα αντιδραστήρια είναι τοποθετημένα μέσα στην ίδια βαλίτσα. Η ευκολία στη μετακίνηση παρέχει τη δυνατότητα εκπαίδευσης και εξοικείωσης μαθητών δευτεροβάθμιας, αλλά και πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης με τη μοριακή βιολογία και γενετική στα σχολεία όλης της επικράτειας, ακόμη και σε σχολικά συγκροτήματα απομακρυσμένων περιοχών.



**Εικόνα 2:** Η σειρά comics Εξατομικευμένης Ιατρικής που συνοδεύουν το φορητό εργαστήριο μοριακής βιολογίας 2ΜοBiL για μαθητές Δημοτικού. Η θεματολογία αφορά θεματολογία σχετική με το ανθρώπινο γονιδίωμα (comic 1), την εξατομικευμένη θεραπεία (comic 2) και την γονιδιωματική ιατρική (comic 3).

Οι μαθητές της δευτεροβάθμιας εκπαίδευσης όλων των τάξεων με το πέρας της εκπαιδευτικής διαδικασίας, αναμένεται να έχουν αποκτήσει μία ολοκληρωμένη αντίληψη του τρόπου διεξαγωγής πειραμάτων μοριακής βιολογίας. Έννοιες που είχαν διδαχθεί στα πλαίσια της σχολικής τους εκπαίδευσης θα γίνουν πιο οικείες. Επιπλέον με τη βοήθεια του θεωρητικού πλαισίου καθώς και της ενότητας των comics, οι μαθητές της πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης έχουν τη δυνατότητα να περιηγηθούν σε έναν καινοτόμο αλλά πολλά υποσχόμενο τομέα της έρευνας, αυτόν της εξατομικευμένης θεραπείας.

Με την ολοκλήρωση της πειραματικής διαδικασίας, οι μαθητές αναμένεται να κατανοήσουν σε βάθος πως τα διαφορετικά γνωρίσματα (όπως η διαφορετική αντίληψη της πικρής γεύσης της ένωσης του φαινυλοθειοκαρβαμιδίου) και η ποικιλία των φαινοτύπων που παρατηρείται μεταξύ των ανθρώπων, αντιστοιχούν σε διαφορετικούς γονότυπους. Επιπρόσθετα, οι μαθητές αναμένεται να αναρωτηθούν ποια είναι τα πιθανά οφέλη του γενετικού ελέγχου. Θα καταστεί απόλυτα σαφές πως ο γενετικός έλεγχος μπορεί να παρέχει πληροφορίες για τη γενετική σύσταση των ανθρώπων. Δίνει μία διέξοδο από την αβεβαιότητα

η οποία μπορεί από τη μία να φανεί ανακουφιστική και ευχάριστη, αλλά από την άλλη να επιφέρει άγχος και δυσαρέσκεια. Με το γενετικό έλεγχο υπάρχει δυνατότητα διάγνωσης μιας γενετικής πάθησης, όπως είναι κάποια μονογονιδιακή ασθένεια. Όταν κάποιος διαγνωσθεί σωστά και έγκαιρα μπορεί να δεχθεί την κατάλληλη θεραπεία. Θα καταστεί σαφές, πως εάν ο γενετικός έλεγχος δείχνει ότι μία γυναίκα έχει αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξει μια ασθένεια αργότερα στη ζωή της (όπως για παράδειγμα καρκίνο του μαστού), συνιστάται να επισκέπτεται πιο συχνά το γιατρό για εξετάσεις.

Επειδή αρκετές οικογένειες εμφανίζουν προδιάθεση για κάποια γενετική πάθηση, οι πληροφορίες για το γενετικό υπόβαθρο ενός ανθρώπου μπορεί να είναι χρήσιμες και για τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειάς του. Εάν οι συγγενείς είναι ενήμεροι για τη γενετική ασθένεια που εμφανίζεται στην οικογένεια, μπορούν να αποφύγουν μια λάθος διάγνωση. Επίσης μια τέτοια πληροφορία είναι σημαντική όταν θελήσουν να τεκνοποιήσουν.

Επίσης, αναμενόμενο αποτέλεσμα είναι η καλύτερη κατανόηση της συσχέτισης του γενετικού ελέγχου όχι απλώς με την εμφάνιση κάποιας ασθένειας και τη δυνατότητα πρόληψης αυτής, αλλά και με την απόκριση ασθενών σε κάποιο χορηγούμενο φάρμακο. Ασθενείς που πάσχουν από την ίδια πάθηση δεν ανταποκρίνονται με τον ίδιο τρόπο στο ίδιο χορηγούμενο φάρμακο. Υπάρχουν ασθενείς που αποκρίνονται καλά και σύμφωνα με τα αναμενόμενα στη θεραπεία. Παράλληλα όμως, υπάρχουν ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στον ίδιο βαθμό ή δεν αποκρίνονται καθόλου. Έτσι, οι μαθητές θα ξεναγηθούν στο πεδίο της εξατομικευμένης θεραπείας. Θα κατανοήσουν τη σημασία του γενετικού ελέγχου στην πρόληψη της ασθένειας, στη χορήγηση του κατάλληλου φαρμάκου και στη σωστή δοσολογία για αποφυγή ανεπιθύμητων ενεργειών, με βάση τη γενετική σύσταση του εκάστοτε ανθρώπου.

Η γενετική χαρακτηρίζεται από ταχύτατη εξέλιξη κατά τη διάρκεια των τελευταίων χρόνων και οι έλεγχοι με γενετικά τεστ προσφέρουν στην ιατρική καινοτόμα όπλα για τη μάχη κατά των κληρονομικών ασθενειών. Ωστόσο, ο εκάστοτε ενδιαφερόμενος οφείλει να γνωρίζει πως μια γενετική ανάλυση είναι αξιόπιστη μόνο υπό προϋποθέσεις και εφόσον γίνεται με τον κατάλληλο τρόπο. Εν κατακλείδι, η όλη πειραματική διαδικασία θα τονίζει ότι απαιτείται ώριμη σκέψη και ενημέρωση περί των εφαρμογών της εξατομικευμένης ιατρικής, ώστε να αποφεύγεται ενδεχόμενη πα-

ραπληροφόρηση και διάδοση ιδεών, που δεν έχουν επιστημονικά ορθό υπόβαθρο.

### **Ενδεικτικά παραδείγματα χρήσης του φορητού εργαστηρίου μοριακής βιολογίας 2MoBiL**

Ο βασικός γνώμονας του αρχικού σχεδιασμού του φορητού εργαστηρίου μοριακής βιολογίας 2MoBiL ήταν η εύκολη και ανεμπόδιστη μεταφορά του σε όλα τα σχολικά συγκροτήματα της επικράτειας, ώστε όλοι οι μαθητές ανεξαιρέτως και οι εκπαιδευτικοί να έχουν τη δυνατότητα συμμετοχής στην ενδιαφέρουσα διαδικασία της συμπλήρωσης των εφαρμοζόμενων εκπαιδευτικών διαδικασιών στο μάθημα της Βιολογίας με τη διεξαγωγή των πειραμάτων σε πραγματικό χρόνο.

Παραδείγματα χρήσης του φορητού εργαστηρίου αποτελούν οι οργανωμένες και ανοικτές προς το ευρύ κοινό δράσεις όπως είναι η «Βραδιά του Ερευνητή» και το «Patras Science Festival», όπου τα μέλη του εργαστηρίου Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας, έχοντας στη διάθεσή τους το πλήρως εξοπλισμένο φορητό εργαστήριο μοριακής βιολογίας 2MoBiL, παρουσιάζουν πειράματα μοριακής βιολογίας ενώπιον μαθητών, κηδεμόνων, εκπαιδευτικών και πολυάριθμων παρευρισκομένων εμπλεκόμενων στα επαγγέλματα υγείας ή μη. Με σύντομες παρουσιάσεις που προηγούνται των πειραμάτων εξηγούνται με κατανοητό τρόπο τόσο το αναμενόμενο αποτέλεσμα όσο και η ερμηνεία του.

Αναφέρεται ενδεικτικά η δυναμική συμμετοχή ομάδων από μέλη του Εργαστηρίου Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας στο Patras Science Festival τον Μάιο του 2017, στη Βραδιά του Ερευνητή τον Σεπτέμβριο του 2017 και στο Patras Science Festival τον Μάιο του 2018. Επιπρόσθετα, τον Δεκέμβριο του 2018, και στα πλαίσια του διαγωνισμού δημιουργίας ενός φορητού εργαστηρίου για τη μοριακή βιολογία με τίτλο «Φώτης Καφάτος Labbox» που διοργανώθηκε από την Πανελλήνια Ένωση Βιοεπιστημόνων, το φορητό εργαστήριο μοριακής βιολογίας 2MoBiL απέσπασε το βραβείο με θέμα της πρότασης «Τι γεύση έχει το λάχανο σε εσένα;».

### **Συζήτηση και προοπτικές**

Το Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας δίνει ιδιαίτερη έμφαση στην εκπαίδευση φοιτητών προπτυχιακού επιπέδου, ενώ παράλληλα στοχεύει και στην εξοικείωση μαθητών όλων των βαθμίδων (Δημοτικού, Γυμνασίου και Λυκείου), εκπαιδευτικών και παράλληλα του ευρύτερου



κοινού με τον συναρπαστικό κλάδο της μοριακής βιολογίας και με τον καινοτόμο τομέα της εξατομικευμένης ιατρικής. Στόχος δεν είναι απλά μια πρώτη γνωριμία του κοινού με τον τομέα και τις εφαρμογές της μοριακής βιολογίας και γενετικής, αλλά η σε βάθος κατανόηση της σημασίας της εξατομικευμένης θεραπείας και των πλεονεκτημάτων τόσο για τους ασθενείς σε προσωπικό επίπεδο, όσο και για το σύστημα υγείας συνολικότερα. Η προσέγγιση των πεδίων της Μοριακής Γενετικής και εξατομικευμένης ιατρικής που περιλαμβάνουν αρχικά δυσνόητες έννοιες με τις παρούσες μεθόδους, καθιστά αυτόματα στα μάτια των μαθητών τη Μοριακή Γενετική έναν απόμακρο επιστημονικό κλάδο με εκτενή ορολογία και απαιτητική αποστήθιση εννοιών. Για τον λόγο αυτό, μια πιθανή λύση είναι η διαδραστική διδασκαλία και οπτικοποίηση θεωρητικών εννοιών που διδάσκονται σε πραγματικό χρόνο. Με μελλοντική ένταξη του φορητού εργαστηρίου μοριακής βιολογίας 2ΜοBiL στην συνολική εκπαιδευτική διαδικασία θα παρέχεται η δυνατότητα προσέγγισης του τομέα της μοριακής γενετικής και εξατομικευμένης ιατρικής με άμεσο τρόπο. Αυτή θα επιτυγχάνεται με πολλαπλούς και διαφορετικούς τρόπους, ώστε αρχικά να κεντρίζει το ενδιαφέρον των μαθητών και κατόπιν να το κρατά αμείωτο καθ' όλη τη διάρκεια της συνολικής εκπαιδευτικής διαδικασίας. Η προσέγγισή μας ομοιάζει με εκείνη που ακολουθήθηκε από την διεθνή επιτροπή για τη διαμόρφωση του εκπαιδευτικού προγράμματος Κλινικής Μοριακής Βιολογίας της Διεθνούς Ομοσπονδίας Κλινικής Χημείας (Committee on Clinical Molecular Biology Curriculum, C-CMBC, International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) με στόχο την καλύτερη διάδοση των δεξιοτήτων μοριακών γενετικών δοκιμασιών σε χώρες που ξεκινούν τις αντίστοιχες τεχνικές [9].

Η μοριακή βιολογία και οι μοριακές τεχνικές συνιστούν το υπόβαθρο και το βασικό εργαλείο των πειραματικών διαδικασιών αντίστοιχα. Παράλληλα η λειτουργία των διαγνωστικών εργαστηρίων για τη ανίχνευση τυχόν προδιάθεσης, εντοπισμό γενετικού κινδύνου, πρόγνωση, διάγνωση και θεραπεία μιας ασθένειας βασίζεται στις μοριακές τεχνικές. Ωστόσο απαιτούνται τόσο οι κατάλληλες δεξιότητες για την τεχνική διαδικασία, όσο και ένα επαρκές επίπεδο αναλυτικών και διαγνωστικών γνώσεων, που είναι αναγκαίες για τις μοριακές γενετικές εξετάσεις. Εκτός όμως από την αναγκαία εκπαίδευση των ανθρώπων που είναι ήδη ενταγμένοι στο πεδίο της μοριακής βιολογίας, ως προτεραιότητα πλέον τίθεται η ορθά δο-

μημένη και ολοκληρωμένη εκπαίδευση του ευρύτερου συνόλου στη Βιολογία, τη Μοριακή Γενετική και την εξατομικευμένη ιατρική, ώστε να διευκολυνθεί η βέλτιστη κατανόηση των ωφελειών της εφαρμογής της Εξατομικευμένης Θεραπείας στο συνολικό σύστημα υγείας.

Κατόπιν αυτών, η γνωριμία των μαθητών με τις πειραματικές διαδικασίες και μοριακές τεχνικές ήδη από τις πρώτες τάξεις της δευτεροβάθμιας εκπαίδευσης, ή ακόμη και τις τελευταίες τάξεις τη πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης θα μπορούσε να αποτελέσει έναν τρόπο αναπροσαρμογής και εκσυγχρονισμού του παρόντος εκπαιδευτικού συστήματος με βάση τις σύγχρονες εκπαιδευτικές απαιτήσεις. Η πραγματοποίηση πειραμάτων σε πραγματικό χρόνο εκ μέρους των μαθητών στα πλαίσια του μαθήματος της Βιολογίας, θα μπορούσε να κεντρίσει ακόμη περισσότερο το ενδιαφέρον τους καθώς με αυτό τον τρόπο γίνονται οι πρωταγωνιστές και παράλληλα οι θεατές στο ίδιο σενάριο. Θα κατανοήσουν ότι η επιστήμη της Βιολογίας δεν είναι απλά ένα μάθημα του ωρολογίου προγράμματος αλλά ένα μονοπάτι προς εξερεύνηση με τις όποιες δυσκολίες και εκπλήξεις μπορεί να κρύβει. Η ένταξη του φορητού εργαστηρίου μοριακής βιολογίας 2ΜοBiL στη δευτεροβάθμια εκπαίδευση, στα πλαίσια της διδασκαλίας του μαθήματος της Βιολογίας, αποτελεί μια μελλοντική προσέγγιση που είναι καθ' όλα εφικτή, με δεδομένο ότι το φορητό εργαστήριο έχει σχεδιαστεί με τρόπο κατάλληλο για γρήγορη και εύκολη μεταφορά σε κάθε σχολικό συγκρότημα της χώρας, όσο απομακρυσμένο και αν είναι.

Συμπερασματικά, το φορητό εργαστήριο μοριακής βιολογίας 2ΜοBiL θα μπορούσε να αποτελέσει ένα σημαντικό και πρωτότυπο μέσο επικοινωνίας προς το κοινό της επιστήμης της Βιολογίας, της Μοριακής Γενετικής και της εξατομικευμένης ιατρικής και των ωφελειών της εφαρμογής της Εξατομικευμένης Θεραπείας για το σύστημα υγείας και τον άνθρωπο. Παράλληλα, τίθεται το κατάλληλο υπόβαθρο ώστε το κοινό να είναι σε θέση να αντιλαμβάνεται την πληροφόρηση και να εμπιστεύεται τα ορθά επιστημονικά δεδομένα. Τα μέλη μιας κοινωνίας οφείλουν να έχουν ώριμη σκέψη ώστε να είναι σε θέση να κρίνουν οποιαδήποτε νέα υπηρεσία προσφέρεται με το «περιτύλιγμα» της επιστήμης και να την εμπιστεύονται υπό προϋποθέσεις. Για παράδειγμα θα είναι δυνατό να διακρίνουν τα οφέλη γενετικών εξετάσεων για την απόκριση στη θεραπεία έναντι γενετικών αναλύσεων για την πρόγνωση υψηλών αθλητικών επιδόσεων, αναλύσεις οι οποίες στερούνται, μέχρι στιγμής,

επιστημονικότητας και παραπλανούν το κοινό [10]. Θα γίνεται αντιληπτό πως απαιτείται κριτική σκέψη και ενημέρωση για τις εφαρμογές της εξατομικευμένης ιατρικής, ώστε να γίνεται δυνατή η διάκριση και η αποφυγή της ενδεχόμενης παραπληροφόρησης και διάδοσης ιδεών, που δεν έχουν επιστημονικά ορθό υπόβαθρο.

### Ευχαριστίες

Το φορητό εργαστήριο μοριακής βιολογίας 2MoBiL χρηματοδοτείται από πόρους του Εργαστηρίου Φαρ-

μακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Πατρών. Οι συγγραφείς ευχαριστούν θερμά τον Δρ. Παναγιώτη Στασινάκη για τη συμμετοχή του στην ομάδα που κέρδισε το βραβείο «Φώτης Καφάτος Labbox», τους προπτυχιακούς φοιτητές και φοιτήτριες Μαρία Οπλοποιού, Κωνσταντίνα Τζιώλια, και Ευθύμιο Σκούφα, και τους μεταπτυχιακούς φοιτητές και φοιτήτριες Θεανώ Σταμοπούλου και Ανδρέα Σταθούλια για τη συμμετοχή τους στις εκπαιδευτικές ομάδες του φορητού εργαστηρίου μοριακής βιολογίας 2MoBiL. ●

## ABSTRACT

# Role of the Mobile Molecular Biology Laboratory (2MoBiL) in raising awareness of school students in the field of Molecular Genetics and Personalized Medicine

Stavroula Siamoglou, George P. Patrinos

University of Patras, School of Health Sciences, Department of Pharmacy, Laboratory of Pharmacogenomics and Individualized Therapy, Patras, Greece

The fields of Molecular Biology, Genetics and Personalized Medicine are characterized by dynamic and rapid growth, dictating a continuous learning process starting from as early as school years. The Mobile Molecular Biology Laboratory (2MoBiL) was developed by the Laboratory of Pharmacogenomics and Individualized Therapy of the Department of Pharmacy of the University of Patras and includes a complete molecular biology laboratory that can be transported all over

Greece in a small suitcase. The 2MoBiL Mobile Molecular Biology Laboratory aims to familiarize students of secondary and even primary education with concepts and experimental procedures relevant to the field of Molecular Genetics and Personalized Medicine and to raise the general public's awareness about the importance of human genome analysis and the benefits of applying personalized medicine approaches both at individual as well as nationwide scale since 2016.

**KEY WORDS:** Mobile laboratory; Molecular Biology; genetic diagnosis; personalized medicine; training; high school students



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Fox AL. (1932). The relationship between chemical constitution and taste. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 18: 115-120.
2. Wooding S. (2006). Phenylthiocarbamide: A 75-Year Adventure in Genetics and Natural Selection. *Genetics*. 172(4): 2015-2023.
3. Merritt RB, Bierwert LA, Slatko B, Weiner MP, Ingram J, Sciarra K, Weiner E. (2008). Tasting phenylthiocarbamide (ptc): a new integrative genetics lab with an old flavor. *The American Biology Teacher*, 5(70): e23-e28 [Online]. Available: [http://www.bioone.org/doi/full/10.1662/00027685\(2008\)70\[23:TPANI\]2.0.CO;2](http://www.bioone.org/doi/full/10.1662/00027685(2008)70[23:TPANI]2.0.CO;2).
4. Hearn RP, Arblaster KE. (2010). DNA extraction techniques for use in education. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 38: 161-166.
5. Bloch KD, Grossmann B. (2001). Digestion of DNA with restriction endonucleases. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* 3: Unit3.1.
6. Pingoud A, Jeltsch A. (2001). Structure and function of type II restriction endonucleases. *Nucleic Acids Res.* 29:3705-3727.
7. Helling RB, Goodman HM, Boyer HW. (1974). Analysis of endonuclease R-EcoRI fragments of DNA from lambdoid bacteriophages and other viruses by agarose-gel electrophoresis. *J. Virol.* 14: 1235-1244.
8. Voytas D. (2001). Agarose gel electrophoresis. In *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons, Inc.
9. Lianidou E, Ahmad-Nejad P, Ferreira-Gonzalez A, Izuhara K, Cremonesi L, Schroeder ME, Richter K, Ferrari M, Neumaier M. (2014). Advancing the education in molecular diagnostics: the IFCC-Initiative "Clinical Molecular Biology Curriculum" (C-CMBC); a ten-year experience. *Clin. Chim. Acta.* 436: 5-8.
10. Patrinos GP, Baker DJ, Al-Mulla F, Vasiliou V, Cooper DN. (2013). Genetic tests obtainable through pharmacies: the good, the bad, and the ugly. *Hum. Genomics.* 7: 17.

## ΑΦΙΕΡΩΜΑ

# Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας

Γεώργιος Π. Πατρινός, εκ μέρους των μελών του Εργαστηρίου  
Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας (Ε.Φ.Ε.Θ.) του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Πατρών είναι το πρώτο Πανεπιστημιακό Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας στην Ελλάδα και δραστηριοποιείται ενεργά στην έρευνα, σε κλινικές μελέτες, στην εκπαίδευση και στην παροχή υπηρεσιών στο πεδίο της Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας. Αποτελεί την μετεξέλιξη από τον Ιούνιο του 2018 της Ομάδας Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας η οποία σχηματίστηκε στο Τμήμα Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Πατρών τον Ιανουάριο του 2009.

Το Εργαστήριο είναι εξοπλισμένο με τις πλέον σύγχρονες εργαστηριακές υποδομές και όργανα και στε-

λεχωμένο με πάνω από 25 ερευνητές, τεχνικούς, υποψήφιους διδάκτορες και μεταπτυχιακούς φοιτητές και διοικητικό προσωπικό. Το Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας είναι παγκοσμίως γνωστό για την τεχνογνωσία και το υψηλό επίπεδο έρευνας που διεξάγει σε επίπεδο εργαστηρίου, βιοπληροφορικής και δημόσιας υγείας, όλα εστιασμένα κυρίως στο πεδίο της Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας αλλά και σε άλλες κατευθύνσεις στο πεδίο της Μοριακής Γενετικής και Γονιδιωματικής και συμμετέχει με επιτυχία σε πολλές διεθνείς κοινοπραξίες και ερευνητικά προγράμματα, έχοντας στο ενεργητικό του αξιοζήλευτο δημοσιευμένο έργο σε διεθνούς κύρους και υψηλής στάθμης έγκριτα επιστημονικά περιοδικά.

**ΛΕΞΕΙΣ ΕΥΡΕΤΗΡΙΟΥ:** Φαρμακογονιδιωματική, εξατομικευμένη θεραπεία, γονιδιωματική πληροφορική, γονιδιωματική και δημόσια υγεία, κλινικές μελέτες

## Εισαγωγή

Το Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας (Ε.Φ.Ε.Θ.) του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Πατρών ([www.permed.upatras.gr](http://www.permed.upatras.gr)) είναι το πρώτο Πανεπιστημιακό Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας στην Ελλάδα (Εικ. 1). Στις μέρες μας, το γνωστικό

αντικείμενο της Φαρμακογονιδιωματικής «θεραπεύεται» από ελάχιστα μέλη ΔΕΠ ελληνικών Πανεπιστημίων, ενώ το ερευνητικό και διδακτικό έργο στο πεδίο είναι περιορισμένα, παρόλο που η Φαρμακογονιδιωματική θεωρείται ως μια από τις πιο πολλά υποσχόμενες κατευθύνσεις στο πεδίο της εξατομικευμένης ιατρικής. Το κενό αυτό φιλοδοξεί να καλύψει το Ε.Φ.Ε.Θ., αποτελώ-

### \* Αντεπιστέλλων Συγγραφέας

Γεώργιος Π. Πατρινός, Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστημιούπολη, Ρίο, 265 04, Πάτρα, Τηλέφωνο Επικοινωνίας: 2610-962339, Fax: 2610-969955, Email: [gpatrinos@upatras.gr](mailto:gpatrinos@upatras.gr)



**Εικόνα 1:** Οι εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας στο Τμήμα Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Πατρών.



**Εικόνα 2:** Το λογότυπο του Εργαστηρίου Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας καταδεικνύει τη σχέση γενετικού υλικού και απόκριση στην φαρμακευτική αγωγή.

ντας παράλληλα παράδειγμα για την ίδρυση αντίστοιχων εργαστηρίων και σε άλλα Πανεπιστήμια και Ερευνητικά κέντρα στην χώρα.

Το εργαστήριο ιδρύθηκε και επίσημα τον Ιούνιο του 2018 (Φ.Ε.Κ. τ.Β'/2300/18-6-2018) και δραστηριοποιείται ενεργά στους τομείς της έρευνας, (περιλαμβανομένων των κλινικών μελετών), της εκπαίδευσης και της παροχής υπηρεσιών στο πεδίο της Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας. Αποτελεί δε, την μετεξέλιξη της Ομάδας Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας η οποία δραστηριοποιείται ενεργά στο Τμήμα Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Πατρών από τον Ιανουάριο του 2009 (**Εικ. 2**, [1]).

Το Εργαστήριο είναι εξοπλισμένο με τις πλέον σύγχρονες εργαστηριακές υποδομές και όργανα και στελεχωμένο με πάνω από 25 ερευνητές, τεχνικούς, διοικητικό προσωπικό υποψήφιους διδάκτορες και μεταπτυχιακούς φοιτητές. Το Ε.Φ.Ε.Θ. είναι παγκοσμίως γνωστό για την τεχνογνωσία και το υψηλό επίπεδο έρευνας (εργαστηριακή/πειραματικής, υπολογιστικής/βιοπληροφορικής και κοινωνικοπληθυσμιακής/δημόσιας υγείας) που διεξάγει, εστιασμένα κυρίως στο πεδίο της Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας αλλά και σε άλλες κατευθύνσεις στα πεδία της Μοριακής Γενετικής και Γονιδιωματικής. Συμμετέχει με επιτυχία σε πολλές διεθνείς κοινοπραξίες και ερευνητι-

κά προγράμματα, έχοντας στο ενεργητικό του ένα αξιολόγητο δημοσιευμένο έργο σε διεθνούς κύρους και υψηλής στάθμης έγκριτα επιστημονικά περιοδικά.

### Ερευνητικό έργο

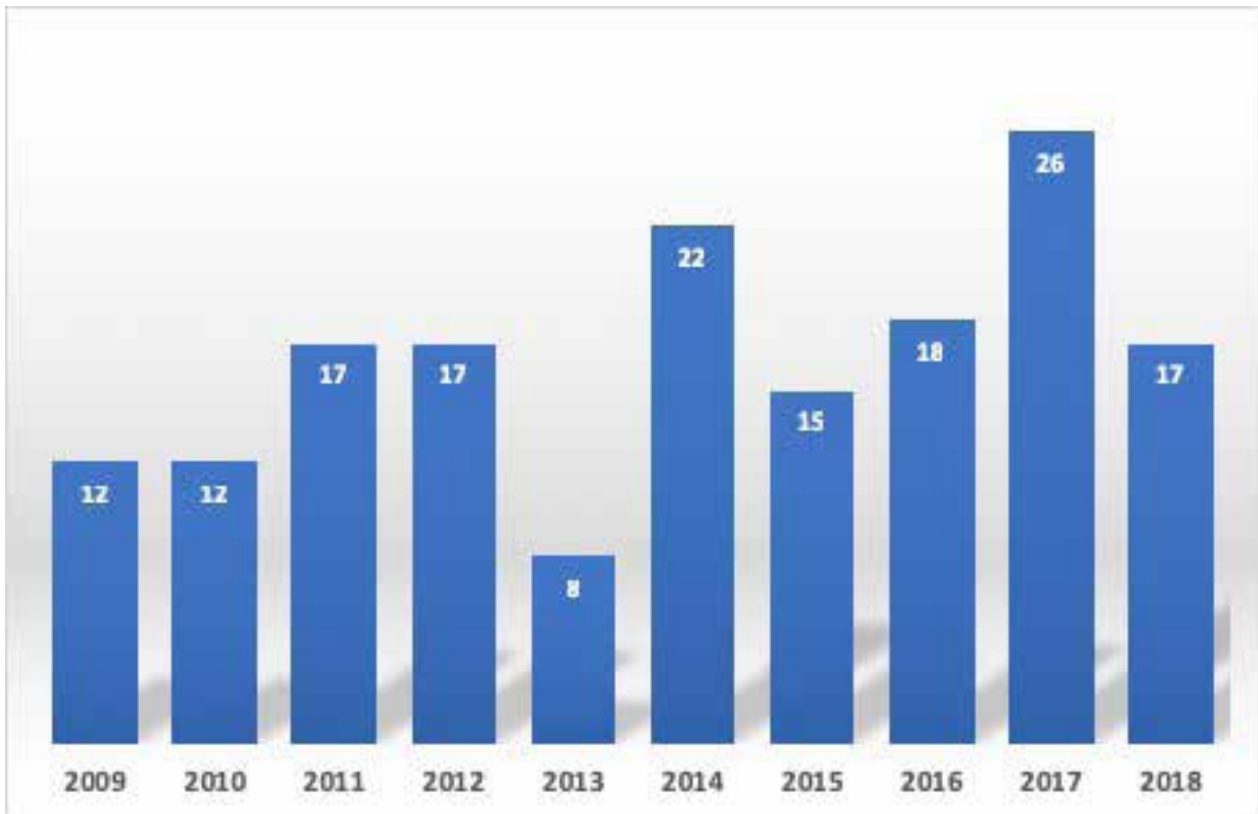
Το Ε.Φ.Ε.Θ. αποτελεί ένα από τα λίγα εργαστήρια παγκοσμίως το οποίο προσεγγίζει ερευνητικά το αντικείμενο της Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας με έναν ολιστικό τρόπο, δηλαδή με εργαστηριακές μεθόδους (wet-lab), με μεθόδους βιοπληροφορικής (dry-lab) και μεθόδους κοινωνικής έρευνας - δημόσιας υγείας (public health), έχοντας και στις τρεις αυτές κατευθύνσεις να επιδείξει υψηλής στάθμης δημοσιευμένο ερευνητικό έργο και μεγάλης κλίμακας ανταγωνιστικά χρηματοδοτούμενα Ευρωπαϊκά προγράμματα. Έτσι, τα κύρια ερευνητικά ενδιαφέροντα του Ε.Φ.Ε.Θ. αφορούν:

Σε επίπεδο εργαστηριακής έρευνας:

(α) μελέτες ανακάλυψης νέων γενετικών βιοδεικτών για την εξατομίκευση της θεραπείας σε ψυχιατρικά, καρδιολογικά, ογκολογικά και ανοσοκατασταλτικά, κυρίως, φάρμακα,

(β) κλινική εφαρμογή της εξατομίκευσης της θεραπείας, με την χρήση μεθοδολογιών ταυτόχρονης γενετικής ανάλυσης πολλών βιοδεικτών,

(γ) διαλεύκανση του μηχανισμού της ενεργοποίησης της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης σε ενήλικες με μεθόδους



**Εικόνα 3:** Αριθμός επιστημονικών άρθρων σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά με κριτές σε ετήσια βάση, στα οποία συμμετέχουν μέλη του Ε.Φ.Ε.Θ.

βιοτεχνολογίας για την θεραπευτική αντιμετώπιση των αιμοσφαιρινοπαθειών β-τύπου, όπως β-μεσογειακής και δρεπανοκυτταρικής αναιμίας,

*Σε επίπεδο βιοπληροφορικής έρευνας:*

**(δ)** ανάπτυξη και διατήρηση βάσεων δεδομένων για την καταγραφή της γενετικής ποικιλομορφίας πληθυσμών, με κυριότερες τις καθιερωμένες βάσεις δεδομένων HbVar (<http://globin.bx.psu.edu/hbvar>, [2]) και FINDbase ([www.findbase.org](http://www.findbase.org), [3])

**(ε)** ανάπτυξη ηλεκτρονικών εργαλείων για την μετάφραση της γενετικής πληροφορίας σε κλινικώς κατανοητή μορφή,

*Σε επίπεδο έρευνας στον χώρο της δημόσιας υγείας:*

**(στ)** καταγραφή του επιπέδου (i) ενημέρωσης του κοινού και (ii) της εξοικείωσης των επαγγελματιών υγείας στο πεδίο της γενετικής και γονιδιωματικής,

**(ζ)** οικονομική αξιολόγηση καινοτόμων παρεμβάσεων στο αντικείμενο της εξατομικευμένης θεραπείας,

**(η)** μελέτη των ηθικών και νομικών προεκτάσεων από παρεμβάσεις εξατομικευμένης ιατρικής, συμπεριλαμβανομένου και του ορθού τρόπου προώθησης γενετικών αναλύσεων στο κοινό.

Η συγκομιδή του Ε.Φ.Ε.Θ., σε ότι αφορά ακαδημαϊκά

πεπραγμένα, περιλαμβάνει, σε ετήσια βάση, 15-20 (από 8 έως 26, **Εικ. 3**) δημοσιεύσεις σε διεθνή έγκριτα επιστημονικά περιοδικά, μερικά από τα οποία είναι κορυφαία παγκοσμίως με πολύ ψηλούς συντελεστές απήχησης, όπως Nature Genetics, Nature Rev. Genetics, Nucleic Acids Research, EBioMedicine, κ.α., συμμετοχή με 10-15 προφορικές ή αναρτημένες ανακοινώσεις σε ελληνικά και διεθνή συνέδρια με τα στελέχη του να μετέχουν στις συντακτικές επιτροπές πάνω από 15 διεθνών επιστημονικών περιοδικών, να αναλαμβάνουν χρέη κριτή εργασιών σε πάνω από 100 διεθνή κρινόμενα επιστημονικά περιοδικά και να συμμετέχουν στη συγγραφή ή/και επιμέλεια πάνω από 10 δημοσιευμένων ή υπό συγγραφή ξενόγλωσσων επιστημονικών βιβλίων με διεθνείς εκδοτικούς οίκους. Ειδικότερα, τη διετία 2017-2018 μέλη του Ε.Φ.Ε.Θ. έχουν συμμετέχει σε 43 δημοσιεύσεις σε έγκριτα διεθνή επιστημονικά περιοδικά, έχοντας τον κύριο συντονιστικό ρόλο σε 29 από αυτές. Μεγάλος αριθμός από παλαιότερα μέλη (alumni) του Ε.Φ.Ε.Θ. συνεχίζουν τις σπουδές τους σε κορυφαία πανεπιστήμια του εξωτερικού, όπως London School of Economics, Barts and The London School of Medicine, Karolinska Institutet, Erasmus University, University of Lausanne, κ.α., ενώ 4

**A**



**B**



**Εικόνα 4:** Αριθμός εγγεγραμμένων και αποφοιτησάντων υποψηφίων διδασκόντων (A) και μεταπτυχιακών φοιτητών (B) στο Ε.Φ.Ε.Θ.

από τα παλαιότερα μέλη του εργαστηρίου έχουν εκλεγεί και υπηρετούν ως Καθηγητές/τριες και Ερευνήτριες σε πανεπιστήμια και ερευνητικά ιδρύματα της Ελλάδας και του εξωτερικού, γεγονός που έρχεται να επιβεβαιώσει το υψηλής στάθμης παραγόμενο ακαδημαϊκό έργο.

Ακόμη, στα πλαίσια ανταγωνιστικών χρηματοδοτούμενων ερευνητικών προγραμμάτων σε Ελλάδα και εξωτερικό, το Ε.Φ.Ε.Θ. εμφανίζει εξαιρετική εξωστρέφεια καθώς πρωτοστατεί σε 3 συμπράξεις και συνεργασίες με επιχειρήσεις και φορείς του ιδιωτικού και δημόσιου τομέα στην Ελλάδα (π.χ. GoGreece, INSPIRED, ELIXIR-GR, OMICENGINE), σε 6 συμπράξεις με ερευνητικούς και επιστημονικούς φορείς του εξωτερικού [π.χ. U-PGx [4], G2MC, RD-Connect [5], CHIP\_ME, Euro-PGx [6], 100PGgene), σε πάνω από 20 χώρες και στις 5 Ηπείρους.

Για παράδειγμα, μεταξύ αυτών είναι το ερευνητικό πρόγραμμα U-PGx, που αποτελεί την πρώτη Πανευρωπαϊκή μελέτη που επικεντρώνεται στην άμεση προληπτική φαρμακογονιδιωματική ανάλυση, χωρίς να διαταραχθεί η συνήθης κλινική φροντίδα, και το ερευνητικό πρόγραμμα Genome of Greece (GoGreece), το οποίο είναι ένα μακροχρόνιο ερευνητικό πρόγραμμα που αποσκοπεί στην καταγραφή της γενετικής ποικιλομορφίας των Ελλήνων.

#### Το πρόγραμμα Ubiquitous Pharmacogenomics (U-PGx)

Το ερευνητικό πρόγραμμα U-PGx ([www.upgx.eu](http://www.upgx.eu)) αποτελεί την πρώτη Πανευρωπαϊκή κλινική μελέτη που επικεντρώνεται στην άμεση εφαρμογή της προληπτι-





**Εικόνα 5:** Το φορητό εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας 2MoBiL του Ε.Φ.Ε.Θ.

κής φαρμακογονιδιωματικής ανάλυσης, χωρίς να διαταραχθεί η συνήθης κλινική φροντίδα [4]. Στο πρόγραμμα, που είναι πενταετές και χρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή (πρόγραμμα Horizon 2020), συμμετέχουν 15 φορείς (Πανεπιστήμια, νοσοκομεία και ερευνητικά κέντρα) από 10 χώρες, από τους οποίους οι 7 αποτελούν κλινικές που συμμετέχουν στην πρόσληψη περίπου 8,000 ασθενών που παρακολουθούνται από τις κύριες ιατρικές ειδικότητες όπου βρίσκεται εφαρμογή η φαρμακογονιδιωματικώς προσαρμόσιμη εξατομικευμένη θεραπεία, όπως ογκολογία, καρδιολογία, ψυχιατρική, νευρολογία, κ.α. Το Ε.Φ.Ε.Θ. έχει ήδη συγκεντρώσει και γονοτυπήσει με επιτυχία πάνω από 780 ψυχιατρικούς ασθενείς με απώτερο στόχο τους 1500 ψυχιατρικούς ασθενείς μέχρι το τέλος της μελέτης, κάτι που αποτελεί ήδη τη μεγαλύτερη πρόδρομη κλινική μελέτη φαρμακογονιδιωματικής στο πεδίο της Ψυχιατρικής παγκοσμίως.

#### Το πρόγραμμα «Genome of Greece (GoGreece)»

Το Ε.Φ.Ε.Θ. είναι το μοναδικό, μέχρι σήμερα, εργαστήριο στην Ελλάδα που διαθέτει δεδομένα από ανάλυση

ολόκληρου του γονιδιώματος Ελλήνων ασθενών αλλά και υγιών ατόμων. Στο πλαίσιο αυτό, έχει ήδη συλλέξει με ενήμερη συγκατάθεση γενετικό υλικό από πάνω από 300 ασθενείς που πάσχουν από πολυπαραγοντικές κληρονομικές ασθένειες, το οποίο θα αναλυθεί δωρεάν, για τους ασθενείς, για την διαλεύκανση της γενετικής αιτιολογίας της ασθένειας σε επίπεδο ολόκληρου του γονιδιώματος. Το πρόγραμμα GoGreece ([www.gogreece.org.gr](http://www.gogreece.org.gr)), το οποίο έχει ορίζοντα τουλάχιστον δεκαετίας, αποσκοπεί στην πρόσληψη χιλιάδων Ελλήνων ασθενών αλλά και υγιών ατόμων από όλη την επικράτεια για τον προσδιορισμό της γενετικής ποικιλομορφίας του ελληνικού πληθυσμού.

#### Βιοασφάλεια

Εκτός από τα παραπάνω, το ΕΦΕΘ ασχολείται με την προαγωγή της λογικής της βιοασφάλειας και την βελτιστοποίηση, διάδοση και εμπέδωση των πρακτικών της. Η βιοασφάλεια είναι μια διευρυμένη έννοια που αφορά την πρόνοια για την αποτροπή μετάδοσης επικίνδυνων βιοπαραγόντων είτε ατυχηματικά είτε εσκεμμένα [7]. Καθώς όλα σχεδόν τα φαρμακευτικά σκευάσματα είναι

δυσνητικώς επικίνδυνα σε υπερδοσολογία, και με δεδομένο το ότι η λειτουργική υπερδοσολογία πλέον δεν είναι αντικειμενική ή στατιστική, αλλά εξαρτάται από το γενετικό υπόβαθρο του καθενός, η έννοια της βιοασφάλειας εισέρχεται ως παράμετρος στην εξατομικευμένη θεραπεία, και με την ίδια λογική, αν ληφθούν υπόψη οι αλλεργίες και οι δυσανεξίες, και στην διατροφή.

Η όλη λογική της βιοασφάλειας καθίσταται καθημερινά περισσότερο περίπλοκη απ' όσο φαίνεται εκ πρώτης όψεως: οι υποβέλτιστες πρακτικές χρήσης αντιβιοτικών από τη μια μεριά και η βιοτεχνολογική πρόοδος από την άλλη που ήδη επιτρέπει κατασκευή τόσο ενισχυμένων όσο και τελειώς νέων μολυσματικών παραγόντων συνθέτουν ένα νέο περιβάλλον γεμάτο προκλήσεις. Σε αυτό το πλαίσιο, οι μη φαρμακευτικές θεραπείες, όπως τα ηλεκτροσκευάσματα πιθανόν να προσφέρουν μια καινοτόμο και αειφόρο λύση μικρού σχετικά κόστους και αποτελούν τον νεότερο άξονα έρευνας του Ε.Φ.Ε.Θ., τόσο αφ' εαυτών όσο και στην πιθανή γονιδιωματική τους διάσταση, που αφορά το πεδίο της ηλεκτρογονιδιωματικής.

### Εκπαιδευτικό έργο

Το Ε.Φ.Ε.Θ. συμμετέχει στην εκπαίδευση προπτυχιακών και μεταπτυχιακών φοιτητών και υποψηφίων διδασκόντων. Συγκεκριμένα, στις εγκαταστάσεις του εκπονούνται κάθε χρόνο πάνω από 20 ερευνητικές διπλωματικές εργασίες από προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές, κύρια το Τμήμα Φαρμακευτικής και Βιολογίας του Πανεπιστημίου Πατρών αλλά και ορισμένες διπλωματικές εργασίες άλλων ελληνικών Πανεπιστημίων. Επιπλέον, στο Ε.Φ.Ε.Θ. εκπαιδεύονται στο πεδίο της εξατομικευμένης θεραπείας πάνω από 5 φοιτητές βιοεπιστημών από Πανεπιστήμια του εξωτερικού σε ετήσια βάση, αλλά και έμπειροι ερευνητές [8]. Συγκεκριμένα, τα τελευταία 10 χρόνια, έχουν εκπονηθεί και εκπονούνται στο Ε.Φ.Ε.Θ. (και παλαιότερα στην Ομάδα Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας), διπλωματικές εργασίες από 44 μεταπτυχιακούς και από πάνω από 150 προπτυχιακούς φοιτητές, ενώ έχουν ολοκληρωθεί επιτυχώς 8 διδακτορικές διατριβές, ενώ άλλες 5 διατριβές βρίσκονται στη φάση της ολοκλήρωσης και συγγραφής (**Εικ. 4**).

### Mobile Molecular Biology Laboratory (2MoBiL)

Στα πλαίσια της ενημέρωσης του κοινού αλλά και της εκπαίδευσης μαθητών δευτεροβάθμιας και μετα-δευτεροβάθμιας μη τριτοβάθμιας εκπαίδευσης στο πεδίο της Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, το Ε.Φ.Ε.Θ. έχει δημιουργήσει το φορητό εργαστήριο Μοριακής Βιολο-

γίας (2MoBiL). Πρόκειται για ένα εργαστήριο μοριακής βιολογίας-μινιατούρα, αυτοφερόμενο σε ειδική μικρή βαλίτσα, και ως εκ τούτου ικανό προς μεταφορά σε οποιοδήποτε σημείο ή σχολείο της Ελλάδας, ακόμη και στο πιο απομακρυσμένο, για να φέρει μαθητές γυμνασίου και λυκείου, ακόμη και δημοτικού, ή καταρτιζόμενους μετα-δευτεροβάθμιας εκπαίδευσης/ΔΙΕΚ, πιο κοντά στον χώρο της Γενετικής και Γονιδιωματικής. Στο πλαίσιο αυτό, το φορητό εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας 2MoBiL του Ε.Φ.Ε.Θ. έχει ήδη συμμετάσχει σε δράσεις ενημέρωσης, όπως το Patras Science Festival το 2016 και το 2017 και στη βραδιά του Ερευνητή το 2017 με πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Επίσης, τον Δεκέμβριο του 2018, κέρδισε το βραβείο «Φώτης Καφάτος» για φορητό εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας που αθλοθετήθηκε από την Πανελλήνια Ένωση Βιοεπιστημόνων. Παράλληλα με την δημιουργία κόμικ για μαθητές και ηλεκτρονικών διαδραστικών παιχνιδιών και κινουμένων σχεδίων, το φορητό εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας 2MoBiL του Ε.Φ.Ε.Θ. φιλοδοξεί να συμβάλει στην περαιτέρω εκπαίδευση μαθητών όλων των βαθμίδων και την ενημέρωση του κοινού με δράσεις εκπαίδευσης/επίδειξης σε σχολεία και άλλους χώρους.

### Εξ'αποστάσεως εκπαίδευση

Εκτός από την συμμετοχή του Ε.Φ.Ε.Θ. στην εκπαίδευση φοιτητών, το εργαστήριο δραστηριοποιείται και στη συνεχιζόμενη εξ' αποστάσεως εκπαίδευση (με πλατφόρμες e-learning) στα πεδία της Εξατομικευσης της Θεραπείας, Γονιδιωματικής Πληροφορικής και άλλων συναφών πεδίων. Με τον τρόπο αυτό φιλοδοξεί να συμβάλει στην εκπαίδευση ιατρών αλλά και άλλων βιοεπιστημόνων που επιθυμούν να διευρύνουν τις γνώσεις τους στα πολλά υποσχόμενα αυτά πεδία της σύγχρονης ιατρικής.

### Παροχή υπηρεσιών

Στόχος του Ε.Φ.Ε.Θ. είναι η προληπτική εξέταση μιας ομάδας κλινικά σημαντικών φαρμακογονιδιωματικών βιοδεικτών με σκοπό να παρέχεται το κατάλληλο σκεύασμα στον εκάστοτε ασθενή για την νόσο του και για τον βιοχημικό του μηχανισμό, από μια πιθανώς μεγάλη σειρά θεραπευτικών προτάσεων. Έτσι, αυτός ανακουφίζεται ή θεραπεύεται πολύ ταχύτερα και ξαναρχίζει κανονικά τη ζωή του, χωρίς να απαιτούνται πολλαπλοί κύκλοι ανάδρασης για την εμπειρική του «ρύθμιση». Παράλληλα, οι παρενέργειες, ελαχιστοποιούνται τόσο ως πιθανότητα όσο και ως επίπτωση, αφού τα σκεύασματά δίνονται απολύτως στοχευμένα και με βάση τις κληρονομικά καθορισμένες βιοχημικές ιδιαιτερότητες

του κάθε ασθενούς, συντελώντας έτσι σε μια συνολική μείωση του αριθμού των ανεπιθύμητων ενεργειών, που οφείλονται στην σχέση γενετικού υποβάθρου και φαρμάκου και αποτελούν σημαντική επιβάρυνση στους προϋπολογισμούς δημόσιας υγείας και περίθαλψης.

### Φαρμακογονιδιωματικές αναλύσεις

Το Ε.Φ.Ε.Θ. συμμετέχει ενεργά στην παροχή υπηρεσιών προληπτικής φαρμακογονιδιωματικής ανάλυσης. Συγκεκριμένα, το εργαστήριο παρέχει τη δυνατότητα αναλύσεων μεγάλου αριθμού φαρμακογονιδιωματικών βιοδεικτών με αποδεδειγμένη κλινική εφαρμογή και αναγνωρισμένων από μεγάλους ρυθμιστικούς οργανισμούς, όπως η Ευρωπαϊκή Υπηρεσία Φαρμάκων και ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. Οι φαρμακογονιδιωματικοί βιοδείκτες που αναλύονται στο Ε.Φ.Ε.Θ. αφορούν φάρμακα που συνταγογραφούνται συχνά από ιατρούς διαφόρων ειδικοτήτων.

Η ανάλυση των φαρμακογονιδιωματικών βιοδεικτών γίνεται διαγνωστικά κατόπιν παραπομπής από τον θεράποντα ιατρό και διενεργείται μεμονωμένα ανά φάρμακο ή ως μέρος μιας συνολικότερης ανάλυσης, πάντα κατά την κρίση του θεράποντος ιατρού. Για τον λόγο αυτόν υπάρχουν ειδικά «πακέτα» φαρμακογονιδιωματικών αναλύσεων ανά ιατρική ειδικότητα, για παράδειγμα για καρδιολογικές, ψυχιατρικές, αιματολογικές παθήσεις, για ογκολογικούς ασθενείς, για λοιμώξεις, μεταμοσχεύσεις, κ.α. Επίσης, παρέχεται η δυνατότητα ενός ενδεδειγμένου και ταυτόχρονου προσδιορισμού μεγάλου αριθμού φαρμακογονιδιωματικών βιοδεικτών που περιλαμβάνει όλα τα παραπάνω και πραγματοποιείται πριν παραστεί ανάγκη λήψης κάποιου φαρμάκου (προληπτικά), επιτρέποντας την άμεση συνταγογράφηση, όταν παραστεί ανάγκη, του σωστού φαρμάκου στη σωστή δόση χωρίς την αναμονή για τη διενέργεια των φαρμακογονιδιωματικών αναλύσεων.

Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων γίνεται με τη χρήση εξειδικευμένου λογισμικού με βάση τις διεθνώς αναγνωρισμένες κατευθυντήριες οδηγίες από την Ευρώπη και τις Η.Π.Α.

### Εκδοτικές πρωτοβουλίες

Εκτός από τα παραπάνω, το Ε.Φ.Ε.Θ. εκδίδει το επιστημονικό περιοδικό «Εξατομικευμένη Ιατρική», το οποίο περιλαμβάνει θεματολογία σχετική με το αντικείμενο της Γονιδιωματικής, Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Ιατρικής. Το περιοδικό απευθύνεται σε ιατρούς και βιοεπιστήμονες με ενδιαφέρον στα προαναφερθέντα επιστημονικά πεδία. Η ύλη του περιοδικού

είναι στα ελληνικά και τα άρθρα του υπόκεινται σε κρίση από τη συντακτική επιτροπή που απαρτίζεται από καθηγητές και ερευνητές ελληνικών πανεπιστημίων με στοιχειοθετημένη ερευνητική ενασχόληση στο αντικείμενο της Γενετικής Ανθρώπου και Φαρμακογονιδιωματικής. Η ύλη περιλαμβάνει άρθρα ανασκόπησης, πρωτότυπες εργασίες, αλλά και αφιερώματα, συνεντεύξεις, παρουσιάσεις βιβλίων, συνεδρίων, εργαστηρίων και νέα από τον χώρο σε Ελλάδα και εξωτερικό.

Επιπρόσθετα, το Ε.Φ.Ε.Θ. σχεδιάζει την έκδοση και άλλων έντυπων μέσων για την ταχύτερη διάχυση της γνώσης της γονιδιωματικής ιατρικής και εξατομικευμένης θεραπείας στην ιατρική κοινότητα αλλά και την ενημέρωση του κοινού, όπως για παράδειγμα ειδικών κόμικ και κινουμένων σχεδίων για παιδιά δημοτικού και διαδραστικών παιχνιδιών για μαθητές γυμνασίου και λυκείου (βλ. παραπάνω).

### Κοινωνική προσφορά

Αναπόσπαστο κομμάτι των ακαδημαϊκών δραστηριοτήτων του Ε.Φ.Ε.Θ. είναι η δωρεάν παροχή υπηρεσιών γενετικής ανάλυσης σε ασθενείς οι οποίοι πάσχουν από συγκεκριμένες κληρονομικές νόσους, και οι οποίοι αδυνατούν να τις καλύψουν οικονομικά.

### Ελληνικό Δίκτυο για την Αμυοτροφική Πλευρική Σκλήρυνση «ALS Hellas»

Η αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση (Amyotrophic Lateral Sclerosis, ή ALS) ή νόσος του κινητικού νευρώνα είναι μια θανατηφόρος νευροεκφυλιστική νόσος, η οποία χαρακτηρίζεται από σπαστικότητα και προοδευτική μυϊκή αδυναμία, γεγονός που προκαλεί δυσκολία στην ομιλία, κατάποση και εν τέλει οδηγεί στον θάνατο από τη διακοπή της αναπνοής. Από τον Ιούλιο του 2010 το Ε.Φ.Ε.Θ. (ως Ομάδα Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας) παρέχει δωρεάν υπηρεσίες μοριακής διάγνωσης σε Έλληνες ασθενείς με ALS για τις σημαντικότερες γενετικές παραλλαγές που οδηγούν σε κληρονομική μορφή της ALS.

Επιπρόσθετα, το Ε.Φ.Ε.Θ. πρωτοστάτησε στη δημιουργία ενός δικτύου για την Αμυοτροφική Πλευρική Σκλήρυνση [9]. Το δίκτυο «ALS Hellas» αποτελεί μια ακαδημαϊκή ομάδα που απαρτίζεται από κλινικούς, εργαστηριακούς και άλλους επιστήμονες, μέλη ΔΕΠ ελληνικών πανεπιστημίων ή προσωπικό ερευνητικών κέντρων, με σκοπό την παραγωγή γνώσης, την διεξαγωγή συνεργατικών μελετών, την υποβολή πειραματικών πρωτοκόλλων, την ενημέρωση ασθενών με ALS και των συνοδών τους κ.α. με εστίαση στην νόσο ALS, με απώτερο στόχο τον συντονισμό των προσπάθειών για

την αντιμετώπιση της νόσου, και ιδανικά τη θεραπεία, Ελλήνων ασθενών.

### **Διοργάνωση συνεδρίων και κύκλων ομιλιών**

Τέλος, στα πλαίσια των εκπαιδευτικών δραστηριοτήτων του, το Ε.Φ.Ε.Θ. διοργανώνει ημερίδες και συνέδρια στο πεδίο της Εξατομικευμένης Ιατρικής, με σκοπό την εκπαίδευση και ενημέρωση της ιατρικής κοινότητας επάνω στα πιο πρόσφατα δεδομένα και επιτεύγματα της Εξατομικευμένης Ιατρικής. Το επόμενο συνέδριο πρόκειται να διοργανωθεί στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος U-PGx (βλ. παραπάνω) τον Σεπτέμβριο του 2019 στην Αθήνα, στο οποίο θα συμμετέχουν ξένοι ομιλητές από όλον τον κόσμο.

Παράλληλα, το Ε.Φ.Ε.Θ. διοργανώνει κύκλους ομιλιών στους οποίους συμμετέχουν διαπρεπείς επιστήμονες ως προσκεκλημένοι ομιλητές από όλον τον κόσμο, όπως για παράδειγμα ο καθηγητής Magnus Ingelman-Sunberg, καθηγητής του Πανεπιστημίου Karolinska της Σουηδίας και μέλος, από το 2006, της επιτροπής βραβείων Νόμπελ (Nobel Assembly). Οι ομιλίες πραγματοποιούνται στο αμφιθέατρο εκδηλώσεων του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Πατρών και είναι ανοικτές στην επιστημονική κοινότητα.

### **Μελλοντικοί στόχοι**

Όπως προαναφέρθηκε, το Ε.Φ.Ε.Θ. αποτελεί το πρώτο ακαδημαϊκό εργαστήριο στην Ελλάδα που αποσκοπεί

στην έρευνα και εκπαίδευση στο πεδίο της Φαρμακογονιδιωματικής, Γονιδιωματικής Ιατρικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας, και επιδεικνύει πολύπλευρη δραστηριότητα, όχι μόνο σε ερευνητικό και εκπαιδευτικό αλλά και σε κοινωνικό επίπεδο.

Στόχος για τα επόμενα χρόνια είναι η κατοχύρωση της αειφορίας του, τόσο με τη συμμετοχή σε επιπλέον κοινοπραξίες και ερευνητικά προγράμματα με το εξωτερικό όσο και με την καθιέρωσή του ως ένα από τα σημαντικότερα κέντρα φαρμακογονιδιωματικής ανάλυσης στην περιοχή, στην υπηρεσία της ιατρικής κοινότητας αλλά και της φαρμακοβιομηχανίας, στο πεδίο της συνοδευτικής διαγνωστικής (companion diagnostics, 10).

Επιπλέον, το Ε.Φ.Ε.Θ. φιλοδοξεί να ενθαρρύνει αντίστοιχες πρωτοβουλίες από άλλα πανεπιστημιακά και ερευνητικά ιδρύματα στην χώρα μας, ώστε να ιδρυθούν επιπλέον αντίστοιχα εργαστήρια ανά την Ελλάδα, γεγονός που θα επιταχύνει τη διάδοση της Φαρμακογονιδιωματικής ως ακαδημαϊκού και γνωστικού πεδίου και της Εξατομικευμένης Θεραπείας ως πρακτικής στη χώρα μας.

### **Ευχαριστίες**

Το Ε.Φ.Ε.Θ. ευχαριστεί θερμά όλα τα παλαιότερα μέλη του και φοιτητές που συνέβαλλαν στην επιτυχημένη πορεία του και εκφράζει την ευγνωμοσύνη του σε όλους τους φορείς δημοσίου και ιδιωτικού τομέα στην Ελλάδα και το εξωτερικό που χρηματοδότησαν τις ερευνητικές και εκπαιδευτικές του δραστηριότητες. ●

## ABSTRACT

## Highlight: The Laboratory of Pharmacogenomics and Individualized Therapy

George P. Patrinos; on behalf of the members of the Laboratory of Pharmacogenomics and Individualized Therapy

The Laboratory of Pharmacogenomics and Individualized Therapy of the Department of Pharmacy, University of Patras is the first laboratory of pharmacogenomics and individualized therapy in Greek Academia and is actively involved in research, clinical studies, training and provision of services in the field of Pharmacogenomics and Individualized Therapy. The laboratory is the successor, since June 2018, of the Pharmacogenomics and Personalized Medicine group that has been active in the Department of Pharmacy of the University of Patras since January 2009.

The laboratory is equipped with the state-of-the-art

infrastructure and instrumentation and staffed by more than 25 researchers, technicians, doctoral PhD, candidates and postgraduate students and administrative staff. The Laboratory of Pharmacogenomics and Individualized Therapy is world-renowned for its expertise and high level of wet-lab, dry-lab as well as public health research, all mainly focused on the field of pharmacogenomics and individualized therapy and also in other Molecular Genetics and Genomics disciplines and has successfully participated in many international consortia and research programs, having a significant publication track-record in high-quality scientific journals.

**KEY WORDS:** Pharmacogenomics; Individualized Therapy; genome informatics; public health genomics; clinical studies

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Patrinos GP, Katsila T (2016). Pharmacogenomics education and research at the Department of Pharmacy, University of Patras, Greece. *Pharmacogenomics* 17(17): 1865-1872.
2. Giardine B, Borg J, Viennas E, Pavlidis C, Moradkhani K, Joly P, Bartsakoulia M, Riemer C, Miller W, Tzimas G, Wajcman H, Hardison RC, Patrinos GP. (2014). Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations. *Nucleic Acids Res*, 42(Database issue): D1063-D1069.
3. Viennas E, Komianou A, Mizzi C, Stojiljkovic M, Mitropoulou C, Muilu J, Vihinen M, Grypioti P, Papadaki S, Pavlidis C, Zukic B, Katsila T, van der Spek PJ, Pavlovic S, Tzimas G, Patrinos GP. (2017). Expanded national database collection and data coverage in the FINDbase worldwide database for clinically relevant genomic variation allele frequencies. *Nucleic Acids Res* 45(D1): D846-D853.
4. van der Wouden CH, Cambon-Thomsen A, Cecchin E, Cheung KC, Dávila-Fajardo CL, Deneer VH, Dolžan V, Ingelman-Sundberg M, Jönsson S, Karlsson MO, Kriek M, Mitropoulou C, Patrinos GP, Pirmohamed M, Samwald M, Schaeffeler E, Schwab M, Steinberger D, Stingl J, Sunder-Plassmann G, Toffoli G, Turner RM, van Rhenen MH, Swen JJ, Guchelaar HJ; Ubiquitous Pharmacogenomics Consortium. (2017). Implementing Pharmacogenomics in Europe: Design and Implementation Strategy of the Ubiquitous Pharmacogenomics Consortium. *Clin Pharmacol Ther*. 101(3): 341-358.
5. Thompson R, Johnston L, Taruscio D, Monaco L, Bérout C, Gut IG, Hansson MG, 't Hoen PB, Patrinos GP, Dawkins H, Ensini M, Zatloukal K, Koubi D, Heslop E, Paschall JE, Posada M, Robinson PN, Bushby



- K, Lochmüller H. (2014). RD-Connect: An integrated platform connecting databases, registries, biobanks and clinical bioinformatics for rare disease research. *J Gen Intern Med*, 29(Suppl 3): 780-787.
6. Mizzi C, Dalabira E, Kumuthini J, Dzimiri N, Balogh I, Başak N, Böhm R, Borg J, Borgiani P, Bozina N, Bruckmueller H, Burzynska B, Carracedo A, Cascorbi I, Delatas C, Dolzan V, Fenech A, Grech G, Kasiulevicius V, Kádaši L, Kučinskas V, Khusnutdinova E, Loukas YL, Macek M Jr, Makukh H, Mathijssen R, Mitropoulos K, Mitropoulou C, Novelli G, Papantoni I, Pavlovic S, Saglio G, Setric J, Stojiljkovic M, Stubbs AP, Squassina A, Torres M, Turnovec M, van Schaik RH, Voskarides K, Wakil SM, Werk A, Del Zompo M, Zukic B, Katsila T, Lee MT, Motsinger-Rief A, McLeod HL, van der Spek PJ, Patrinos GP. (2016). A European spectrum of pharmacogenomic biomarkers: Implications for clinical pharmacogenomics. *PLoS One*. 11(9): e0162866.
  7. Kambouris ME, Gaitanis G, Manoussopoulos Y, Arabatzis M, Kantzanou M, Kostis GD, Velegraki A, Patrinos GP. (2018). Humanome Versus Microbiome: Games of dominance and pan-biosurveillance in the Omics universe. *OMICS*. 22(8): 528-538.
  8. Forero DA, Lopez-Leon S, Patrinos GP. (2017). Ten simple rules for international short-term research stays. *PLoS Comput Biol*. 13(12): e1005832.
  9. Pampalakis G, Mitropoulos K, Xeromerisiou G, Dardiotis E, Deretzi G, Anagnostouli M, Katsila T, Rentzos M, Patrinos GP. (2019). New molecular diagnostic trends and biomarkers for Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Hum Mutat*. υπό δημοσίευση.
  10. Patrinos GP. (2018). Population pharmacogenomics: impact on public health and drug development. *Pharmacogenomics*. 19(1): 3-6.

## ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ

# Παρουσίαση του 3ου Συνεδρίου του Συνδέσμου Ιατρικών Γενετιστών Ελλά- δας (ΣΙΓΕ), 2-4 Νοεμβρίου 2018, Αθήνα

**Μανούσος Ε. Καμπούρης**

Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εργαστήριο  
Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας, Πανεπιστημιούπολη, Ρίο, 265 04, Πάτρα

Το 3ο Συνέδριο του Συνδέσμου Ιατρικών Γενετιστών Ελλάδας (ΣΙΓΕ) πραγματοποιήθηκε στην Αθήνα, στο Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών (ΕΙΕ) μεταξύ 2 και 4 Νοεμβρίου 2018 με τίτλο «ΔΙΕΡΕΥΝΩΝΤΑΣ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ, ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΖΟΝΤΑΣ ΤΑ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ».

Στόχοι του ήταν η ανάδειξη των προβλημάτων, ευκαιριών και ζυμώσεων που αφορούν ζητήματα βιοϊατρικής έρευνας, εφαρμογών και παρεχόμενων υπηρεσιών από την άποψη της Γενετικής και Γονιδιωματικής του Ανθρώπου, η αλληλεπίδραση μεταξύ ομάδων επιστημόνων που ασχολούνται με διάφορους επιμέρους τομείς και εφαρμογές, η παροχή ευκαιρίας σε καταξιωμένους Έλληνες και Ευρωπαίους ομιλητές να αναπτύξουν το ερευνητικό τους έργο ενώπιον ειδικού κοινού όπου μπορεί να σηματοδοτήσει γόνιμες αλληλεπιδράσεις και συνεργασίες και η δημοσιοποίηση των προσπαθειών και των αποτελεσμάτων νέων επιστημόνων σε ένα φιλικό περιβάλλον που θα συνεισφέρει στην επώαση μιας νέας γενιάς Γενετιστών που θα προωθήσει τον κλάδο εν μέσω της γονιδιωματικής εποχής, παρέχοντάς τους διεπαφές με αναγνωρισμένους επιστήμονες και φορείς του χώρου.

Στη θεματολογία του Συνεδρίου περιλαμβάνονταν οι εξής ενότητες: γενετικά νοσήματα, γενετική καρκίνου, αναπαραγωγική γενετική/ γονιδιωματική, γενετική νευρολογικών και ψυχιατρικών νοσημάτων, βιοπληροφορική και δικτύωση, φαρμακογονιδιωματική,



γονιδιακή και κυτταρική θεραπεία, δικανική γενετική, Νέες μέθοδοι και τεχνολογίες στην Γενετική Διάγνωση, Μακροστρατηγική έρευνας, καινοτομίας και ρύθμισης, γονιδιωματική διακριτικότητα και προστασία προσωπικών και γενετικών δεδομένων. Εντός τριών ημερών διεξήχθησαν 9 συνεδρίες με 32 θεματικές ανακοινώσεις, μία με 6 ελεύθερες προφορικές παρουσιάσεις και προβλήθηκαν 63 ψηφιακές αναρτημένες ανακοινώσεις (e-poster).

Την Παρασκευή 2 Νοεμβρίου 2018 έλαβε χώρα μόνο

\* Αντεπιστέλλων Συγγραφέας

Μανούσος Ε. Καμπούρης, Τηλέφωνο Επικοινωνίας: 2610-962368, Fax: 2610-969955, Email: permed@upatras.gr

η πρώτη συνεδρία με τίτλο ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑΣ ΓΓΕΤ - ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΝΕΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΥ (GDPR) και Προεδρείο τους κ.κ. Γεωργίου και Τσέζου όπου παρουσιάστηκαν η στρατηγική της Γενικής Γραμματείας Έρευνας και Τεχνολογίας για την Έρευνα και την καινοτομία (από τον κ Χατζηπαραδείση), το ρυθμιστικό πλαίσιο για την επεξεργασία γενετικών και γονιδιωματικών δεδομένων (από τον κ. Ζωγραφόπουλο) και ο άξονας από την Γονιδιωματική στην εξατομικευμένη θεραπεία μέσω της Ιατρικής ακριβείας (από τον κ. Huntington).

Ο κύριος όγκος των συνεδριών διεξήχθη το Σάββατο 3 Νοεμβρίου 2018. Η δεύτερη συνεδρία, με τίτλο ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ και προεδρείο τις κ.κ. Traeger-Συνοδινού και Σύρρου ήταν μια εποπτική ανασκόπηση παθογενετικών οντοτήτων και περιλάμβανε παρουσιάσεις για μία αναδρομή 45 ετών στο θέμα της απενεργοποίησης του ενός Χ χρωμοσώματος, από τον κ. Huntington, την γενετική διάσταση της αρτηριακής πίεσης (κος Ευαγγέλου), την μονογονιδιακή μορφή του σακχαρώδους διαβήτη (κα Σερτεδάκη) και την ημι-ξενογονιδιωματική συνιστώσα της νόσου Crohn, δηλαδή τη συσχέτισή της με το μικροβίωμα (κα Γαζούλη). Η τρίτη συνεδρία, με τίτλο ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΨΥΧΙΑΤΡΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ και προεδρείο τους κ.κ. Καναβάκη και Μαύρου εστιαζόταν στην γενετική διάσταση της κλινικής ψυχιατρικής και περιλάμβανε παρουσιάσεις για τα νέα θεραπευτικά δεδομένα στα νευρολογικά νοσήματα δυναμικής μεταλλακτικής αιτιολογίας (κα Καραδήμα), για τα νεότερα νοσολογικά δεδομένα της Γενετικής των κληρονομικών αταξιών (κος Κούτσης) και τη γενετική βάση της διαταραχής ελλειμματικής προσοχής (κος Βάσος) και των Ψυχιατρικών νοσημάτων γενικότερα (κος Δικαίος).

Η τέταρτη συνεδρία ΝΕΕΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ήταν εστιασμένη στις τεχνολογικές λύσεις αντιδραστηρίων, οργανολογίας και διασύνδεσης και διεπαφών καθώς και σε προτάσεις για εξοπλισμό αιχμής για την κλινική γενετική ανάλυση. Ο κος Katzir παρουσίασε τη πρόταση της MENARINI Diagnostics για την εν τω βάθει ψηφιοποίηση και ολοκλήρωση απεικονιστικού εξοπλισμού. Ο κ Garcia παρουσίασε την ολοκληρωμένη βιοπληροφορική πλατφόρμα GeneSystems© για αλληλούχιση νέας γενιάς (NGS) της Sistemas Genomicos, ενώ ο κ Πατσαλής την πρόταση της NIPD GENETICS για μια ενιαία πλατφόρμα ανίχνευσης τόσο σημειακών μεταλλαγών όσο και μοναδιαίων μεταλλαγών γονιδιώματος (ανευπλοϊδίες). Στο ίδιο πεδίο της αλληλούχισης νέας γενιάς κινήθηκε και η κα Ζυγούρη με την πρότα-

ση της Agilent Technologies για συνέργεια στο πλαίσιο της συμπληρωματικότητας μεταξύ NGS και συστοιχιών Συγκριτικού Γονιδιωματικού Υβριδισμού (aCGH). Ο κ Σταμούλης παρουσίασε την πρόταση της SOPHIA GENETICS για την κλινική γονιδιωματική ανάλυση με την πλατφόρμα εκφραζόμενου γονιδιώματος κλινικής συσχέτισης. Τέλος, ο κ. Παπανικολάου των ANTIΣΕΛ – ThermoFisher Scientific εστίασε σε μια λογική προσαρμογής μερικών τεχνικών λύσεων και προϊόντων σε μια περισσότερο ολοκληρωμένη και πλήρως σύγχρονη προσέγγιση, με βάση τις προτάσεις των Affymetrix και Ion.

Η πέμπτη συνεδρία με τίτλο ΓΕΝΕΤΙΚΗ/ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ και προεδρείο τις κ.κ. Κίτσιου-Τζέλη και Βελισσαρίου. Στο πλαίσιο αυτό παρουσιάστηκαν οι ομιλίες «Ανασυνδυασμός και γονιδιωματική αστάθεια στα αναπαραγωγικά κύτταρα» από τον κ. Γεωργίου, «Προεμφυτευτική Γενετική Ανάλυση» από την κα Traeger – Συνοδινού και μια κριτική ανάλυση της aCGH υψηλής ευκρίνειας στη προγεννητική διάγνωση από την κα Τζέτη. Η έκτη συνεδρία, με προεδρείο τους κ.κ. Μαρουλάκου και Λαμπρόπουλο με θέμα της ΔΙΚΑΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ απτόταν μιας παραμέτρου με εξαιρετική κοινωνική βαρύτητα, που έχει γίνει γνωστή και στο μη ειδικό κοινό μέσω τηλεοπτικής προβολής. Σε αυτό το πλαίσιο, η κα Σπηλιοπούλου μίλησε για την ειδική εφαρμογή της Ιατρικής Γενετικής στην ιατροδικαστική διερεύνηση του αιφνίδιου καρδιακού θανάτου, που περιλαμβάνεται στην πληθώρα περιπτώσεων ιατροδικαστικών εφαρμογών, ενώ η κα Σκίτσα για την ταυτοποίηση ανθρώπινων υποκειμένων με μεθόδους μοριακής βιολογίας και γενετική ανάλυση.

Τέλος, η έβδομη και τελευταία συνεδρία της ημέρας, με προεδρείο τους κ.κ. Αθανασιάδου και Γιανουκάκου και με τίτλο ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ/ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ περιέλαβε ομιλίες για Γονιδιακή θεραπεία τόσο σε νευρολογικά νοσήματα (κ. Κλεόπα) όσο και για την Αντιμετώπιση των Αιμοσφαιρινοπαθειών (κ. Παπανικολάου), αλλά και για την καταπολέμηση καρκίνων με βάση τροποποιημένα ανοσοκύτταρα (κα Ελευθεριάδου).

Την Κυριακή 4 Νοεμβρίου 2018 πραγματοποιήθηκαν οι δύο τελευταίες συνεδρίες, η συνεδρία ελευθέρων παρουσιάσεων και η ομιλία-φόρος τιμής στον Γεώργιο Σταματογιαννόπουλο «Από την Γενετική Ανθρώπων μέσω Μοριακή Βιολογίας, στην αποτελεσματική αντιμετώπιση της Θαλασσαιμίας από τον κ. Higgs, ενώ παρέμεναν προσβάσιμες σε ψηφιακούς πόρους οι ηλεκτρονικές αναρτημένες εργασίες.

Συγκεκριμένα, η όγδοη συνεδρία ήταν απόλυτα εξειδικευμένη και αφορούσε ΝΕΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ, με προεδρείο τους κ.κ. Δημητριάδη και Γκάγκο και ομιλητές τους κ.κ. Μπαξεβάνη, Δήμα και Γκάγκο. Οι αντίστοιχες παρουσιάσεις αφορούσαν το ρόλο των HLA αλληλομόρφων στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου του προστάτη μέσω του εμβολίου ΑΕ37, τις ανοσοθεραπευτικές προσεγγίσεις σε ζωικά πρότυπα καρκίνου και την γενικευμένη και στοχευμένη ογκοθεραπευτική προοπτική της τελομερικής έρευνας και των τεχνικών επιδιόρθωσης του DNA. Τέλος, η ένατη και τελευταία συνεδρία με τίτλο ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΜΕΓΑΛΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ / ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ και προεδρείο τις κ.κ. Στεφάνου και Φλωρεντίν περιέλαβε ομιλίες για την εξέλιξη της Προληπτικής Φαρμακογονιδιωματικής στην κλινική πράξη για την εξατο-

μίκευση της θεραπείας ψυχιατρικών νοσημάτων (κος Πατρinός), για την συσχέτιση της ανάπτυξης χρήσης και συντήρησης βάσεων δεδομένων με την ερμηνεία γενετικών παραλλαγών (κος Μακρυθανάσης) και την εξέλιξη ευφυών και (αυτό) προσαρμοσίμων τεχνικών για την ανάλυση και επεξεργασία μεγάλου όγκου γονιδιωματικών δεδομένων (κος Φωτιάδης).

Στις ελεύθερες προφορικές παρουσιάσεις προεδρείο αποτελούσαν οι κ.κ. Τζέτη και Πάμπανος, όπου έγινε παρουσίαση 6 εργασιών, ενώ όπως προαναφέρθηκε υπήρχαν και 63 ηλεκτρονικά αναρτημένες εργασίες.

Συνολικά, το 3ο Συνέδριο του ΣΙΓΕ στέφθηκε από απόλυτη επιτυχία με τη συμμετοχή καταξιωμένων ομιλητών από την Ελλάδα και το εξωτερικό στο πεδίο της Γενετικής και Γονιδιωματικής του ανθρώπου. ●

## ABSTRACT

# Meeting report of the 3rd Conference of the Hellenic Association of Medical Geneticists, 2-4 November 2018, Athens, Greece

**Manousos E. Kambouris**

University of Patras, School of Health Sciences, Department of Pharmacy, Laboratory of Pharmacogenomics and Individualized Therapy, Patras, Greece

## ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

1. Σύνδεσμος Ιατρικών Γενετιστών Ελλάδα (ΣΙΓΕ) – [www.sige.gr](http://www.sige.gr)
2. 3ο Συνέδριο Συνδέσμου Ιατρικών Γενετιστών Ελλάδα (ΣΙΓΕ) – [http://www.mdcongress.gr/en\\_upload/htmlarea/fin\\_Prog\\_SIGE.pdf](http://www.mdcongress.gr/en_upload/htmlarea/fin_Prog_SIGE.pdf)

## ΟΔΗΓΙΕΣ ΠΡΟΣ ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ

### 1. Θεματολογία και αναγνωστικό κοινό

Το περιοδικό «Εξατομικευμένη Ιατρική» είναι ελληνόγλωσση κρινόμενη επιστημονική περιοδική έκδοση που στοχεύει στην διάδοση της ιδέας και των αρχών, των μορφών και των μέσων της Εξατομικευμένης Ιατρικής, Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας, και στην επαύξηση και βελτίωση του διεπιστημονικού διαλόγου. Δέχεται και δημοσιεύει κλινικά σημαντικές ερευνητικές εργασίες και άρθρα ανασκόπησης στους τομείς την Γονιδιωματικής και της Εξατομικευμένης Ιατρικής, περιλαμβάνοντας ενδεικτικά αλλά όχι αποκλειστικά την Φαρμακογονιδιωματική, τη γονιδιωματική πληροφορική, τη γονιδιωματική σπανίων νόσων και Καρκίνου, τη ψυχιατρική γονιδιωματική, την γονιδιωματική Δημόσιας Υγείας, την δεοντολογία στη Γονιδιωματική και την οικονομική αξιολόγηση τεχνολογιών και θεραπειών με γονιδιωματικές συνιστώσες.

### 2. Γλώσσα

Δημοτική Ελληνική, στην οποία πρέπει να είναι συγγραμμένες όλες οι υποβαλλόμενες εργασίες, συνοδευόμενες από τίτλο, συγγραφική ομάδα και φορείς προέλευσης, περίληψη και λέξεις ευρητηρίου και στα Αγγλικά.

### 3. Τρόπος υποβολής

Η υποβολή γίνεται αποκλειστικά ηλεκτρονικά μέσω του οικείου ιστοτόπου [www.permed.gr](http://www.permed.gr).

Η συντακτική επιτροπή και ο Διευθυντής Σύνταξης πραγματοποιούν την αρχική εξέταση της εργασίας και αν αυτή είναι κατάλληλη για το περιοδικό και η υποβολή έχει γίνει πλήρως και ορθά, το δοκίμιο αποστέλλεται στους αντίστοιχους κριτές. Κατά την υποβολή οι συγγραφείς μπορούν να ζητήσουν εξαίρεση κριτών. Η διαδικασία κρίσης ολοκληρώνεται σε 2-3 εβδομάδες με την υποβολή της εισήγησης των κριτών, με βάση την οποία ο Διευθυντής Σύνταξης αποφασίζει περί της δημοσίευσης της εργασίας. Τα σχόλια, η εισήγηση των κριτών και η τελική απόφαση κοινοποιούνται από τη Διεύθυνση Σύνταξης στους Συγγραφείς.

### 4. Πρωτοτυπία της εργασίας και πνευματικά δικαιώματα

Οι υποβληθείσες εργασίες πρέπει να είναι πρωτότυπες στο όλον τους, χωρίς τμήματα προηγούμενων δημοσιεύσεων και κατά την υποβολή τους δεν πρέπει να είναι υπό κρίση σε άλλο φορέα δημοσίευσης/περιοδικό. Η υποβολή πρέπει να έχει εγκριθεί από όλους τους συγγραφείς.

Ο αντεπιστέλλον συγγραφέας είναι συνήθως το αρχαιότερο μέλος της συγγραφικής ομάδας που αναλαμβάνει τη γενική ευθύνη για όλες τις απόψεις της εργασίας (δεοντολογία, πρωτοτυπία, συναίνεση, διαχείριση δεδομένων και όλες τις διαστάσεις της Ορθής Ιατρικής Πρακτικής). Το περιοδικό αποποιείται κάθε ευθύνης σε περιπτώσεις αιτημάτων αποζημίωσης/επανορθώσεων. Όλοι οι συγγραφείς πρέπει να υπογράψουν τη δήλωση παραχώρησης πνευματικών δικαιωμάτων και επίσης πρέπει να έχουν συνεισφέρει στη εργασία σύμφωνα με τα καθοριζόμενα από την ICMJE (<http://www.icmje.org>).

### 5. Δήλωση αντικρουόμενων συμφερόντων

Κάθε συγγραφέας οφείλει να δηλώσει όλα εκείνα τα οικονομικά στοιχεία και ενδιαφέροντα που τον αφορούν και που σχετίζονται με την μελέτη καθώς μπορούν να οδηγήσουν σε σύγκρουση συμφερόντων. Η προέλευση της χρηματοδότησης/χορηγίας της μελέτης πρέπει να γνωστοποιείται.

Αν δεν υφίσταται θέμα αντικρουόμενων συμφερόντων, αυτό πρέπει να δηλώνεται σαφώς στην υποβαλλόμενη εργασία πριν από τις Αναφορές ως ακολούθως: "Οι συγγραφείς δηλώνουν απουσία αντικρουόμενων συμφερόντων".

### 6. Δεοντολογία έρευνας και συμμόρφωση

Η Εξατομικευμένη Ιατρική ακολουθεί τις οδηγίες της Διεθνούς Επιτροπής Συντακτών Ιατρικών Περιοδικών ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)). Για όλα τα πρωτότυπα ερευνητικά άρθρα απαιτούνται δηλώσεις (i) για έγκριση της έρευνας από την εκάστοτε επιβλέπουσα επιτροπή δεοντολογίας, (ii) για τη διεξαγωγή της έρευνας σύμφωνα με τα δεοντολογικά πρότυπα τα προβλεπόμενα από τη Διακήρυξη του Ελσίνκι και (iii) για την απόκτηση έγγραφης ενημέρης συγκατάθεσης από τους μετέχοντες ασθενείς. Για μελέτες με πειραματόζωα απαιτείται και η ακόλουθη δήλωση: «Τηρήθηκαν όλες οι διεθνείς, εθνικές ή/και εταιρικές ισχύουσες προβλέψεις για τη φροντίδα και μεταχείριση ζώων».

### 7. Άδειες και Λογοκλοπή

Για τη χρήση απεικονιστικού υλικού ήδη δημοσιευμένου απαιτείται η προσκόμιση από τους συγγραφείς γραπτής άδειας από τον/τους κατόχους των πνευματικών δικαιωμάτων και η παρουσίασή της κατά το στάδιο της υποβολής. Η λογοκλοπή δεν γίνεται ανεκτή σε καμία περίπτωση. Εξειδικευμένο λογισμικό χρησιμοποιείται για την ανίχνευσή της και δοκίμια που εμφανίζουν τέτοια φαι-



νόμμενα επιστρέφονται χωρίς κρίση στον αντεπιστέλλοντα συγγραφέα.

## 8. Τύποι εργασιών

Το περιοδικό «Εξατομικευμένη Ιατρική» δημοσιεύει τις κάτωθι κατηγορίες εργασιών:

**Πρωτότυπα ερευνητικά άρθρα:** Οι πρωτότυπες δημοσιεύσεις πρέπει να συνεισφέρουν στη διεύρυνση της Γνώσης στο πεδίο της φαρμακογονιδιωματικής και της γονιδιωματικής και εξατομικευμένης θεραπείας. Τα συμπεράσματα πρέπει να είναι λογικά και να υποστηρίζονται από στατιστική ανάλυση. Όταν εξετάζεται η ακρίβεια διαγνωστικού δοκιμίου, ενθαρρύνεται η συμμόρφωση με τα Πρότυπα Αναφοράς Διαγνωστικής Ακρίβειας / Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy (STARD) και με το αντίστοιχο ροϊκό διάγραμμα. (<http://www.stard-statement.org>). Οι προδιαγραφές του άρθρου είναι: απλή περίληψη ως 250 λέξεων, 3-5 λέξεις ευρετηρίου, κείμενο ως 10,000 λέξεις, ως έξι εικόνες και ως έξι πίνακες και βιβλιογραφία ως 70 αναφορές.

**Άρθρα ανασκόπησης:** Το περιοδικό αποδέχεται συστηματικές ανασκοπήσεις, βιβλιογραφικές ανασκοπήσεις επί ενός θέματος και μετααναλύσεις.

**Οι προδιαγραφές της Ανασκόπησης είναι:** απλή περίληψη ως 250 λέξεων, 3-5 λέξεις ευρετηρίου, κείμενο ως 12,000 λέξεις, ως οκτώ εικόνες και ως έξι πίνακες και βιβλιογραφία ως 120 αναφορές.

**Επιστολές στην σύνταξη:** Η επικοινωνία με την διεύθυνση σύνταξης είναι ευπρόσδεκτη και δημοσιεύεται αν προφέρει εποικοδομητική και συνεκτική κριτική σε δημοσιευμένα άρθρα του περιοδικού με βάση της διακριτική ευχέρεια της Σύνταξης. Πρέπει να υποβάλλονται το αργότερο τρεις μήνες μετά από την ψηφιακή δημοσίευση του άρθρου ενδιαφέροντος. Μετά την αποδοχή, η υποβολή τίθεται υπόψη της συγγραφικής ομάδας του άρθρου ενδιαφέροντος για απάντηση. Οι προδιαγραφές είναι κείμενο ως 800 λέξεις, ως δύο εικόνες και βιβλιογραφία ως 10 αναφορές. Επιτρέπονται ως 5 συγγραφείς και δεν απαιτούνται περίληψη και λέξεις ευρετηρίου.

**Σχόλια/Άρθρα γνώμης/Συνεντεύξεις/Βιβλιοπαρουσιάσεις/Ανασκοπήσεις συνεδρίων/Παρουσιάσεις ιδρυμάτων:** Τα άρθρα αυτά έχουν σαν σκοπό τη γνωστοποίηση της άποψης διεθνούς φήμης ακαδημαϊκών και ερευνητών σε θέματα επιστημονικής επικαιρότητας, δημοσίου διαλόγου ή μείζονος σημασίας τρεχουσών ανακαλύψεων στους τομείς της φαρμακογονιδιωματικής και την γονιδιωματικής και εξατομικευμένης Ιατρικής. Συγγράφονται μόνο κατόπιν πρόσκλησης και οι προδιαγραφές είναι κείμενο ως 1,500 λέξεις, ως δύο εικόνες και βιβλιο-

γραφία ως 10 αναφορές. Επιτρέπονται ως 3 συγγραφείς και δεν απαιτούνται περίληψη και λέξεις ευρετηρίου.

## 9. Δομή δοκιμίου

Ένα δοκίμιο προς υποβολή πρέπει να ικανοποιεί τις κάτωθι προδιαγραφές

**I. Συνοδευτική επιστολή:** Κάθε δοκίμιο πρέπει να συνοδεύεται από επιστολή υπογεγραμμένη από τον αντεπιστέλλοντα συγγραφέα εκ μέρους όλων των συγγραφέων δηλώνοντας ότι το υποβληθέν άρθρο δεν έχει υποβληθεί για δημοσίευση και σε άλλο περιοδικό. Σε περίπτωση αναθεωρημένων (revised) άρθρων, μια αναλυτική λίστα με τις διορθώσεις/παρεμβάσεις σύμφωνα με τα σχόλια των κριτών θα πρέπει να υποβάλλεται μαζί με τη συνοδευτική επιστολή.

**II. Σελίδα τίτλου:** Περιλαμβάνει τον τίτλο του δοκιμίου, τα ονόματα των συγγραφέων και τα ιδρύματα από τα οποία προέρχονται οι συγγραφείς, τις διευθύνσεις ηλεκτρονικού ταχυδρομείου όλων των συγγραφέων, και το ίδρυμα, διεύθυνση, τηλέφωνο και διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου του συγγραφέα αλληλογραφίας.

**III. Αταυτοποίητο δοκίμιο**

**1. Τίτλος:** Αταυτοποίητη σελίδα τίτλου που αναφέρει μόνο τον τίτλο και όχι συγγραφείς και στοιχεία υπαγωγής.

**2. Περίληψη:** Η περίληψη περιλαμβάνει τα σημαντικότερα ευρήματα και συμπεράσματα της εργασίας.

**3. Λέξεις ευρετηρίου:** Μετά την περίληψη απαιτούνται 3 ως 5 λέξεις ευρετηρίου, οι οποίες πρέπει να επιλέγονται από τη βάση δεδομένων Επικεφαλίδων Ιατρικής Θεματολογίας/ Medical Subject Headings (MeSH) της Εθνικής Ιατρικής Βιβλιοθήκης των ΗΠΑ.

**4. Δομή σώματος κειμένου:** Το κείμενο των πρωτότυπων άρθρων πρέπει να έχει Εισαγωγή, Υλικά και Μεθόδους, Αποτελέσματα και Συζήτηση. Των άρθρων ανασκόπησης πρέπει να έχει Εισαγωγή, Συζήτηση και Μελλοντικές Προοπτικές, ενώ η ανάπτυξη των υπολοίπων παραγράφων επαφίεται καθ' ολοκληρίαν στους συγγραφείς.

**Γραμματοσειρά:** Η προτεινόμενη επιλογή είναι η Times New Roman 12 στιγμών (12 pt) σε διπλό διάστημα και με εμφανείς τις αριθμήσεις σειράς και σελίδας.

**Συντμήσεις:** Πρέπει να χρησιμοποιούνται όσο το δυνατόν λιγότερο, αλλά σε περίπτωση χρήσης ορίζονται την πρώτη φορά που αναφέρονται στο κείμενο με την ολογραφική μορφή να ακολουθείται από το ακρωνύμιο ή την σύντμηση εντός παρένθεσης.

**Ευχαριστίες, χορηγίες και χρηματοδότηση:** Οι Ευχαριστίες βρίσκονται στο τέλος του σώματος του κειμένου, πριν από τον βιβλιογραφικό κατάλογο/αναφο-

ρές. Η οποιαδήποτε χρηματοδότηση ή χορηγία από φαρμακευτικές εταιρείες, κατασκευαστές ιατρικού εξοπλισμού και άλλες εταιρείες ή επιχειρήσεις των οποίων προϊόντα ή υπηρεσίες έχουν χρησιμοποιηθεί στη μελέτη πρέπει να δηλώνονται στην Δήλωση Αντικρουόμενων συμφερόντων αλλά και στις Ευχαριστίες.

**Μονάδες μέτρησης:** Όλες οι μετρήσεις πρέπει να αποδίδονται στο Διεθνές Σύστημα (SI). Η υποδιαστολή αποδίδεται με κόμμα (π.χ. 3,5 cm) με κενά εμπρός και πίσω από το σύμβολο συν/πλην (π.χ.  $13,6 \pm 1,2$ ). Δεν πρέπει να υπάρχουν κενά εκατέρωθεν ενδεικτών κύμανσης (π.χ. 15-20) ή συμβόλων ισότητας/ανισότητας (π.χ.  $r=0,37$ ,  $p<0,005$ ).

## 10. Εικόνες και Πίνακες

Όλες οι εικόνες και οι πίνακες πρέπει να αναφέρονται στο κείμενο κατά σειράν εμφανίσεως με αραβικά νούμερα εντός παρενθέσεως, π.χ. (Εικ. 1) και (Πιν. 1). Τμήματα εικόνων αναφέρονται με πεζά γράμματα π.χ. (Εικ. 1α).

Οι εικόνες πρέπει να είναι υψηλής ανάλυσης. Ανυσματικά γραφήματα, σαρωμένα και πρωτότυπα γραμμικά σχέδια πρέπει να υποβάλλονται σε μορφή bitmap και σε ελάχιστη ανάλυση 1,200 στιγμών (dpi). Φωτογραφίες, σχέδια και ζωγραφιές πρέπει να υποβάλλονται σε μορφή TIFF ή JPEG, σε διαστάσεις 174 mm πλάτος και 234 mm ύψος και σε ελάχιστη ανάλυση 300 στιγμών (dpi).

Η ανωνυμία των ασθενών πρέπει να διασφαλίζεται. Όλα τα δεδομένα που μπορούν να οδηγήσουν σε ταυτοποίηση (ονόματα, αρχικά, αριθμοί ταυτότητας/ταυτοποίησης/καταγραφής) πρέπει να μην εμφανίζονται στο κείμενο στις εικόνες και σε πίνακες. Αν είναι απαραίτητο να εμφανίζεται το πρόσωπο ασθενούς, πρέπει να μαυρίζονται τα μάτια. Αν είναι δυνατή η ταυτοποίηση του ασθενούς από φωτογραφία, λεζάντα ή αντίστοιχο μέρος του κειμένου, πρέπει να συνυποβάλλεται γραπτώς η συγκατάθεσή του.

Οι λεζάντες των εικόνων πρέπει να περιλαμβάνονται σε ξεχωριστή σελίδα του κειμένου ενώ των Πινάκων πρέπει να αναγράφονται πάνω από τον κάθε πίνακα. Ερμηνευτικά σύμβολα (αστερίσκοι, βέλη κλπ) πρέπει να χρησιμοποιούνται όταν τα απεικονιστικά δεδομένα είναι ασαφή, να μην χρησιμοποιούνται σε έγχρωμη οροφή αλλά σε άσπρο, μαύρο και τόνους του γκρι και σε μέγεθος που να αναλογεί με αυτό της εικόνας.

Οι πίνακες πρέπει να υποβάλλονται μετά από τον βιβλιογραφικό κατάλογο, σε ξεχωριστή σελίδα ο καθένας και με αραβική αρίθμηση και τον τίτλο τους σε μορφή επικεφαλίδας, ενώ τυχούσες συντμήσεις πρέ-

πει να επεξηγούνται σε υποσημείωση. Κάθε στήλη του πίνακα πρέπει να έχει κεφαλίδα που να περιγράφει το πληροφοριακό της περιεχόμενο.

## 11. Βιβλιογραφία

Η ακρίβεια της βιβλιογραφικής τεκμηρίωσης βαρύνει αποκλειστικά τους συγγραφείς. Ο κατάλογος βιβλιογραφίας πρέπει να περιλαμβάνει μόνο εργασίες που αναφέρονται εντός του κειμένου και είτε έχουν δημοσιευτεί είτε έχουν γίνει αποδεκτές προς δημοσίευση. Προσωπική επικοινωνία και αδημοσίευτες εργασίες απλά αναφέρονται εντός του κειμένου και μόνο. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται σημειώσεις ως υποκατάστατο βιβλιογραφικού καταλόγου.

Η καταλογογράφηση γίνεται με αλφαβητική σειρά από το επίθετο του πρώτου συγγραφέα κάθε αναφερόμενης εργασίας. Προκειμένου περί κοινού πρώτου συγγραφέα η καταλογογράφηση γίνεται βάσει του αρχικού του επωνύμου του δεύτερου, τρίτου κ.ο.κ. συγγραφέα, ενώ για πανομοιότυπη συγγραφική ομάδα χρησιμοποιείται απόλυτη χρονολογική σειρά με επιθέματα a, b, c.

Οι εργασίες που κατά την υποβολή υπάρχουν μόνο σε μορφή ψηφιακής προδημοσίευσης πρέπει να αναφέρονται με το αντίστοιχο αριθμό DOI (digital object identifier).

Ως έξι συγγραφείς αναγράφονται πλήρως με επώνυμο και αρχικά ονόματος/-ων. Αν είναι περισσότεροι αναγράφονται οι 3 πρώτοι και ακολουθεί το 'et al'.

Για κεφάλαια βιβλίων αναγράφονται ο τίτλος και οι συγγραφείς του κεφαλαίου, ο τίτλος του βιβλίου και ο/οι επιμελητής/-ές έκδοσης, η πόλη, χώρα, εκδοτικός οίκος, χρονολογία έκδοσης και οι σελίδες.

Για αποκλειστικώς δικτυακά διαθέσιμα αρχεία πρέπει να αναγράφονται οι συγγραφείς αν υπάρχουν, ο τίτλος της ιστοσελίδας, η δικτυακή διεύθυνση URL και η ημερομηνία τελευταίας επίσκεψης των συγγραφέων στην ιστοσελίδα.

### Παραδείγματα βιβλιογραφικών αναφορών:

*Άρθρα περιοδικών:*

Özdemir V, Patrinos GP. David Bowie and the Art of Slow Innovation: A Fast-Second Winner Strategy for Biotechnology and Precision Medicine Global Development. OMICS 2017; 21(11): 633-637.

ή

Sosnay PR, Siklosi KR, Van Goor F, et al. Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. Nat Genet 2013; 45(10): 1160-1167.

ή

El Rouby N, McDonough CW, Gong Y, et al. Genome-wide association analysis of common genetic variants of resistant hypertension. *Pharmacogenomics J.* 2018; doi: 10.1038/s41397-018-0049-x. Epub 2018 Sep 20.

*Βιβλία:*

Correa-Lopez C, Patrinos GP (eds). *Genomic Medicine in developing and emerging economies.* Elsevier/Academic Press, Burlington, CA, USA, 2018.

*Κεφάλαια βιβλίων:*

Squassina A, Manchia M, Mitropoulou C, et al. An introduction to Pharmacogenomics and Personalized Medicine, In Lanzer P (ed) *PanVascular Medicine* (2nd edition), Springer, Heidelberg, Germany, 2015, pp. 1053-1065.

*Πρακτικά συνεδρίων:*

Innocenti F. Safety of Drug Treatment in Oncology: A Genomic Perspective. 2018 Golden Helix Summer School, *Public Health Genomics* 2018; 21(Suppl 1): 2.

*Ψηφιακά έγγραφα:*

National Institute for Health and Care Excellence). SIR-Spheres for treating inoperable hepatocellular carcinoma. Available via nice.org.uk/guidance/mib63. Published May 10, 2013. Accessed January 25, 2014.

Σε περίπτωση αμφιβολίας, αναγράψτε τον πλήρη τίτλο του περιοδικού.

## **12. Διαδικασία Κρίσης και αναθεώρησης υποβληθεισών εργασιών**

Η αποδοχή προς δημοσίευση αποφασίζεται από τον Διευθυντή Σύνταξης βάσει των εισηγήσεων των κριτών. Οι συγγραφείς οφείλουν να ολοκληρώσουν τις απαιτούμενες διορθώσεις στα τελικά δοκίμια εντός 5 ημερών από την αποστολή αυτών σε μορφή αρχείου pdf, οι οποίες περιλαμβάνουν χωρίς να περιορίζονται σε έλεγχο της αρτιότητας του κειμένου, αποδοχή ορθογραφικών, γραμματικών και συντακτικών διορθώσεων και έλεγχος της εισαγωγής και ορθής αρίθμησης και αναφοράς πινάκων και εικόνων. Μετά την ψηφιακή δημοσίευση της εργασίας δεν είναι εφικτές διορθώσεις, εκτός από τη δημοσίευση διορθώσεων (Erratum) σε επόμενα τεύχη. ●