

Μοριακή Ανάλυση των Νεοπλασμάτων με τη Χρήση Μικροσυστοιχιών DNA

Δήμητρα Παπαευαγγελίου^{1,2}, Σύλβια Σολακίδη¹, Βασίλειος Ζουμπουρλής^{1(*)}

1. Εργαστήριο Γονιδιακής Ρύθμισης, Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών

2. Τμήμα Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή Παν/μίου Αθηνών

Η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών DNA επιτρέπει την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης με ταυτόχρονη μελέτη μεγάλου αριθμού γονιδίων. Η προσέγγιση αυτή διευρύνει τους ορίζοντες της μοριακής έρευνας, προσφέροντας ολοκληρωμένη άποψη των βιολογικών φαινομένων και πολύτιμες πληροφορίες για τους μοριακούς μηχανισμούς που οδηγούν στην ανάπτυξη ασθενειών. Ειδικότερα στη διερεύνηση του καρκίνου, η χρήση των μικροσυστοιχιών DNA θα μπορούσε να διευκολύνει την επίτευξη τόσο ερευνητικών, όσο και κλινικών στόχων.

Εισαγωγή

Η ολοκλήρωση της ανάλυσης της αλληλουχίας του ανθρώπινου γονιδιώματος οδήγησε στην καταγραφή της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας χιλιάδων γονιδίων. Αν και η μελέτη αυτών των δεδομένων έχει επιφέρει μια πρώτη κατηγοριοποίηση των γονιδίων με βάση την πιθανή λειτουργία τους, ο ρόλος πλήθους αυτών στις βιολογικές διεργασίες δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί. Η συγκριτική μελέτη του προτύπου γονιδιακής έκφρασης σε διαφορετικούς ιστούς, στάδια διαφοροποίησης ή *in vitro* συνθήκες, καθώς και σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις, είναι αποφασιστικής σημασίας για την κατανόηση της γονιδιακής λειτουργίας. Τεχνικές Μοριακής Βιολογίας που χρησιμοποιούνται σήμερα γι' αυτό τον σκοπό σε Ερευνητικά Εργαστήρια, επιτρέπουν τη διερεύνηση μικρού αριθμού γονιδίων. Μία πολλά υποσχόμενη προσέγγιση, που αποσκοπεί στην ταυτόχρονη μελέτη μεγάλου αριθμού γονιδίων και μπορεί να εφαρμοστεί σε μεγάλης κλίμακας ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης, συνίσταται στην υβριδοποίηση ολόκληρων πληθυσμών συμπληρωματικών DNA (cDNA) με συστοιχίες νουκλεϊκών οξέων (microarrays).

Στη συνέχεια καταβάλλεται προσπάθεια σύντομης παρουσίασης της τεχνολογίας των μικροσυστοιχιών DNA, καθώς και των εφαρμογών της στην ιατρική έρευνα και ειδικότερα στην έρευνα του καρκίνου.

Περιγραφή των μικροσυστοιχιών DNA

Οι μικροσυστοιχίες DNA διακρίνονται σε δύο ομάδες, ανάλογα με το υλικό που χρησιμοποιείται ως ιχνήθετης για την υβριδοποίηση των κυτταρικών νουκλεϊκών οξέων. Πρόκειται για μικροσυστοιχίες που είτε περιλαμβάνουν μικρές ολιγονουκλεοτιδικές αλληλουχίες είτε αποτελούνται από θραύσματα συμπληρωματικών DNA μεγαλύτερου μήκους που προέρχονται από βι-

βλιοθήκες cDNA ή από προϊόντα ενίσχυσης αλυσιδωτής αντίδρασης με πολυμεράση (PCR). Οι μικροσυστοιχίες ολιγονουκλεοτιδίων πλεονεκτούν επειδή δεν απαιτούν την –προβληματική πολλές φορές– πρόσβαση σε μεγάλες συλλογές κλώνων cDNA. Επιπλέον, μπορούν να διακρίνουν γονίδια που παρουσιάζουν εκτεταμένη ομολογία στη νουκλεοτιδική τους αλληλουχία ή αποτελούν προϊόντα διαφορετικής μεταγραφικής ωρίμανσης του RNA. Εντούτοις, η παραγωγή τους απαιτεί περισσότερο εξειδικευμένο εξοπλισμό σε σύγκριση με τις μικροσυστοιχίες συμπληρωματικών DNA.

Οι συστοιχίες ολιγονουκλεοτιδίων ή συμπληρωματικού DNA είναι δυνατόν να περιλαμβάνουν μέχρι 20.000 συμπληρωματικά DNA ή ολιγονουκλεοτιδικές αλληλουχίες γνωστών γονιδίων που ευθυγραμμίζονται σε σειρές από κηλίδες επάνω σε υπόστρωμα από γυαλί ή σιλκόνη. Η απομόνωση RNA από το προς ανάλυση υλικό (π.χ. καρκινικός ιστός) συνοδεύεται από την αντίδραση της αντίστροφης μεταγραφής, που οδηγεί στο συμπληρωματικό DNA, το οποίο σημαίνεται με φθορίζουσα χρωστική.

Από ένα υλικό αναφοράς (π.χ. φυσιολογικός ιστός) παράγεται επίσης συμπληρωματικό DNA, το οποίο όμως σημαίνεται με διαφορετική χρωστική. Μετά από υβριδισμό του συμπληρωματικού DNA με τους ιχνήθετες υπολογίζεται η διαφορά της έντασης των σημάτων των δύο χρωστικών, οπότε προκύπτει η σχετική μεταβολή (ως προς το υλικό αναφοράς) των επιπέδων των μεταγράφων που αντιστοιχούν σε κάθε γονίδιο της μικροσυστοιχίας. Μαθηματικοί αλγόριθμοι χρησιμοποιούνται για την ομαδοποίηση των μεταβολών που διαπιστώνονται στη γονιδιακή έκφραση του προς ανάλυση υλικού, ως προς το υλικό αναφοράς (Εικόνα 1)¹.

Η σύγκριση μεγάλου αριθμού δειγμάτων γίνεται δυνατή με τη χρήση ενός δείγματος RNA αναφοράς, που μπορεί να είναι είτε μίγμα όλων των δειγμάτων που ελέγχονται σε ένα πείραμα,

είτε ένα δείγμα αναφοράς του εμπορίου. Η πρόοδος στην τεχνολογία των μικροσυστοιχιών έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη ευαίσθητων και ποσοτικών μεθόδων προετοιμασίας του προς ανάλυση υλικού. Όταν υπάρχει ικανή ποσότητα διαθέσιμου RNA, η μέθοδος εκλογής είναι η ενσωμάτωση νουκλεοτιδίων συνδεδεμένων με φθορίζουσα χρωστική, κατά τη σύνθεση της πρώτης αλυσίδας του συμπληρωματικού DNA (cDNA).

Ωστόσο, τα περισσότερα πειραματικά πρωτόκολλα έχουν σχεδιαστεί για την ανάλυση 25-100μg ολικού RNA, ποσότητα που δεν είναι εύκολο να εξασφαλιστεί για τη μελέτη ιστών, όπως καρκινικών. Γι' αυτό έχουν αναπτυχθεί πειραματικές διαδικασίες με αυξημένη ευαισθησία, που απαιτούν μικρότερο ποσό RNA. Σε αυτές ανήκει και η ενίσχυση του στόχου μέσω μεταγραφής *in vitro*, που επιτρέπει την παραγωγή μέχρι και 50μg σημανμένου cDNA από 1μg mRNA. Με τη χρήση αυτών των πρωτοκόλλων γίνεται δυνατή ακόμη και η ανάλυση μεταγράφων από ένα μόνο κύτταρο.

Ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης

Η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών DNA παρέχει τη δυνατότητα συγκριτικής μελέτης μεγάλου αριθμού δειγμάτων, συμβάλλοντας με τον τρόπο αυτό σε μία σφαιρικότερη θεώρηση των βιολογικών συστημάτων. Τα προς ανάλυση δείγματα μπορούν να ομαδοποιηθούν με βάση τις ομοιότητες που παρουσιάζουν στο πρότυπο της γονιδιακής έκφρασης.

Αποτέλεσμα αυτής της ομαδοποίησης θα είναι η δημιουργία βάσεων δεδομένων με αναλυτικές πληροφορίες για τη γονιδιακή έκφραση, καθώς και λεπτομερών χαρτών γενετικών ρυθμιστικών δικτύων, που θα συμπληρώσουν τις γνώσεις που θα προκύψουν από την ολοκλήρωση της ανάλυσης της αλληλουχίας του ανθρώπινου γονιδιώματος. Η καταγραφή ρυθμιστικών οδών θα οδηγήσει στη σε βάθος κατανόηση της λειτουργίας συγκεκριμένων γονιδίων, καθώς νέα πειραματικά στοιχεία θα μπορούν να συγκριθούν με τις βάσεις

δεδομένων. Σημειώνεται ότι σήμερα μπορούμε να εικάσουμε τη λειτουργία κάποιου νέου γονιδίου μόνο μέσω της ομολογίας που παρουσιάζει η νουκλεοτιδική του αλληλουχία με γονίδια γνωστής λειτουργίας.

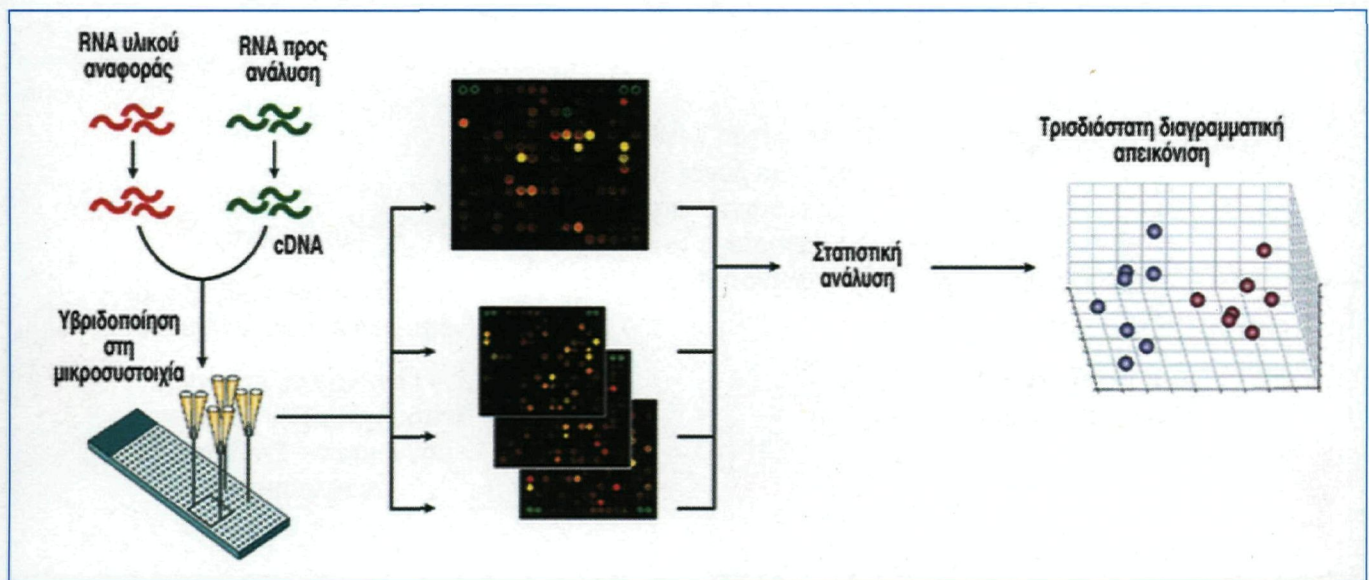
Η εφαρμογή της τεχνολογίας των μικροσυστοιχιών DNA θα οδηγήσει, συνεπώς, στη συσσώρευση στοιχείων που αναφέρονται στη γονιδιακή έκφραση, τα οποία μπορούν να αξιοποιηθούν για την κατανόηση των βιολογικών συστημάτων μόνο με την ανάπτυξη μεθοδολογιών της Πειραματικής Βιολογίας και της Βιοπληροφορικής, που θα επιτρέψουν την εξαγωγή συμπερασμάτων μετά από κριτική επεξεργασία της προηγούμενης πληροφορίας. Στην αντίθετη περίπτωση, καθώς οι μικροσυστοιχίες διατίθενται πλέον ευρέως στο εμπόριο, είναι ορατός ο κίνδυνος δημιουργίας περαιτέρω σύγχυσης, σε ό,τι αφορά τη γονιδιακή έκφραση².

Η ανάπτυξη μικροσυστοιχιών DNA μπορεί να βοηθήσει στη διαλεύκανση μιας σειράς βιολογικών ερωτημάτων. Η γνώση των μεταγραφικών μεταβολών που εμπλέκονται σε μια συγκεκριμένη οδό μεταγωγής μηνυμάτων, είναι δυνατόν να οδηγήσει στην ταυτοποίηση νέων μελών που συμμετέχουν σε αυτή τη διεργασία. Επιπλέον, η αποτύπωση της μεταγραφικής κατάστασης του κυττάρου σε δεδομένες συνθήκες, μπορεί να επιφέρει τον χαρακτηρισμό των κυτταρικών οδών που συμμετέχουν στην απάντηση σε εξωγενή ερεθίσματα.

Ο ερευνητής είναι δυνατόν να ενδιαφέρεται είτε για την ανεύρεση μιας μεταβολής στη γονιδιακή έκφραση, η οποία θα μπορούσε να είναι το κλειδί μιας φαινοτυπικής αλλαγής, είτε για τη μελέτη των προτύπων γονιδιακής έκφρασης, ώστε να εξάγει συμπεράσματα για την αρχιτεκτονική των ρυθμιστικών γενετικών δικτύων, με απώτερο στόχο την πλήρη περιγραφή των ρυθμιστικών μηχανισμών του κυττάρου που δρουν στο επίπεδο της μεταγραφής.

Μέχρι σήμερα το ενδιαφέρον των μοριακών

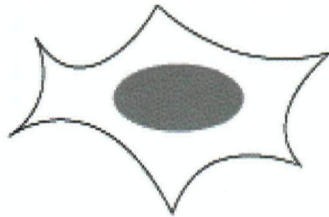
βιολόγων εστιαζόταν, κυρίως, στην ταυτοποίηση μεμονωμένων γονιδίων. Εντούτοις, η επιτυχία αυτής της προσέγγισης δεν είναι σημαντική και αυτό οφείλεται πρωταρχικά στο γεγονός, ότι τα πειράματα με μικροσυστοιχίες μας παρέχουν λίστες γονιδίων, των οποίων η έκφραση μεταβάλλεται, αλλά δεν μας δίνουν ικανοποιητικά στοιχεία για το αν αυτές οι αλλαγές είναι σημαντικές στον καθορισμό συγκεκριμένου φαινοτύπου. Ο όγκος της διαθέσιμης πληροφορίας είναι τόσο μεγάλος, ώστε η πλέον εύκολη προσέγγιση είναι η εστίαση του ενδιαφέροντος σε γονίδια που μπορούν να προσαρμοστούν στις απόψεις που ήδη επικρατούν, όσον αφορά τον τρόπο λειτουργίας συγκεκριμένου συστήματος. Με τον τρόπο αυτό όμως, περιορίζονται τα δυνητικά οφέλη από τη χρήση των μικροσυστοιχιών, αφού οι αναζητήσεις μας περιορίζονται στο στενό πλαίσιο των σημαντικών απόψεων, δεδομένων και γνώσεων. Ο όγκος της πληροφορίας που προκύπτει από ένα πείραμα με τη χρήση μικροσυστοιχιών, μπορεί να μειωθεί δραστικά αν τα δείγματα που συγκρίνονται, επλεγούν προσεκτικά, ώστε να έχουν τις ελάχιστες δυνατές διαφορές. Η διερεύνηση του ρόλου στον καθορισμό συγκεκριμένου φαινοτύπου των γονιδίων που θα συμπεριλαμβάνονται στην περιορισμένη, πλέον, λίστα των μεταβολών στην έκφραση, θα πρέπει να συνεχιστεί με τεχνικές που επιτρέπουν τη μεταβολή της λειτουργικότητας των γονιδίων που μας ενδιαφέρουν, ώστε να εξεταστεί αν σε κάθε περίπτωση επιτυγχάνεται το βιολογικό αποτέλεσμα που μας ενδιαφέρει. Εντούτοις, αυτή η προσέγγιση ενέχει τον κίνδυνο επίδρασης στα δίκτυα μεταγωγής μηνυμάτων, με τρόπο που δεν μπορούμε να προβλέψουμε. Ένα τελευταίο πρόβλημα που περιορίζει τη δυνατότητα χρήσης των μικροσυστοιχιών στη διερεύνηση μεμονωμένων οδών μεταγωγής μηνυμάτων, είναι το γεγονός ότι η ρύθμιση σε μεταγραφικό επίπεδο δεν είναι ο μοναδικός ρυθμιστικός μηχανισμός της βιολογικής έκφρασης. Μελέτες σε πρωτεϊνικό επίπεδο, με εργα-



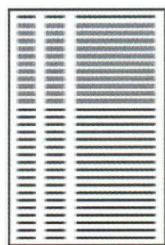
Εικόνα 1. Στάδια ανάλυσης της γονιδιακής έκφρασης με τη χρήση μικροσυστοιχιών DNA.

Μελέτη μεμονωμένης αλλαγής στη γονιδιακή έκφραση

Φαινότυπος



Ανάλυση δεδομένων μικροσυστοιχίας



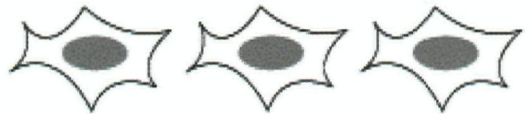
Λίστα μεταβολών στη
γονιδιακή έκφραση

Ανάλυση επιλεγμένων
γονιδίων (υπερέκφραση,
knock-out, RNAi)

Ταυτοποίηση γονιδίων
που είναι δυνατόν να
εμπλέκονται στον
καθορισμό του
φαινοτύπου

Μελέτη προτύπου γονιδιακής έκφρασης

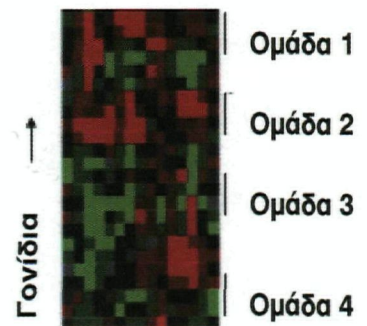
Διαφορετικοί φαινότυποι



Πρότυπο έκφρασης



Συνδυασμός δεδομένων από διαφορετικά
πειράματα



Ταυτοποίηση:

- Γονιδίων που ρυθμίζονται από κοινούς μηχανισμούς
- Γονιδίων με παρόμοια λειτουργία οδών μεταγωγής μηνυμάτων - Σταδιοποίηση νεοπλασμάτων

λεία της πρωτεωμικής (proteomics), πιστεύεται ότι θα επιτρέψουν την καλύτερη κατανόηση των ρυθμιστικών μηχανισμών.

Οι πραγματικές δυνατότητες των μικροσυστοιχιών στην ανάλυση της κυτταρικής λειτουργίας γίνονται σαφέστερες όταν ο πειραματικός στόχος περιλαμβάνει το πρότυπο της γονιδιακής έκφρασης και δεν εστιάζει σε ένα μόνο γονίδιο. Η προσέγγιση αυτή είναι δυνατή μόνο με τη χρήση εξειδικευμένου λογισμικού, που επιτρέπει την ομαδοποίηση γονιδίων με παρόμοιο πρότυπο έκφρασης και τον σχεδιασμό φυλογενετικών δέντρων που θα περιλαμβάνουν τις συγγενείς γονιδιακές ομάδες. Οι μελέτες αυτές βασίζονται στην υπόθεση, ότι τα γονίδια με παρόμοιο πρότυπο έκφρασης είναι δυνατόν να ελέγχονται από τους ίδιους ρυθμιστικούς μηχανισμούς. Τέλος, η στρατηγική αυτή, αν και αμφιλεγόμενη, θα μπορούσε να οδηγήσει σε υποθέσεις για την πιθανή λειτουργικότητα νέων γονιδίων (Εικόνα 2).

Η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών έχει ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών στην ιατρική έρευνα, συμπεριλαμβανομένης της διερεύνησης των διεργασιών που οδηγούν στην ανάπτυξη ασθενειών όπως είναι ο καρκίνος, αλλά και της αποκάλυψης νέων δυναμικών διαγνωστικών και θεραπευτικών στόχων.

Εφαρμογή των μικροσυστοιχιών DNA στη διερεύνηση του καρκίνου

Στο πεδίο της διερεύνησης του καρκίνου, η χρησιμοποίηση μικροσυστοιχιών DNA θα μπορούσε να διευκολύνει την επίτευξη τόσο ερευνητικών, όσο και κλινικών στόχων.

Οι μικροσυστοιχιές DNA επιτρέπουν την έρευνα του μοριακού προτύπου ενός κακοήθους όγκου. Επομένως, θα συμβάλλουν στη μελέτη της παθογένεσης της νόσου, των μοριακών μηχανισμών που οδηγούν στην καρκινογένεση, καθώς και στην ταυτοποίηση μορίων που θα μπορούσαν να αποτελέσουν θεραπευτικούς στόχους.

Οι μικροσυστοιχιές που χρησιμοποιούνται στη διαλεύκανση του καρκίνου, σχεδιάζονται με τρόπο ώστε να περιλαμβάνουν γονίδια που σχετίζονται με συγκεκριμένο ιστό ή φυσιολογική λειτουργία (π.χ. απόπτωση, αγγειογένεση)³. Από τεχνικής άποψης, σημαντική είναι η ποιότητα του RNA του προς ανάλυση υλικού, καθώς και η επιλογή του κυτταρικού υποπληθυσμού που ενδιαφέρει τον μελετητή. Η χρήση πρωτοκόλλων μονιμοποίησης ιστών που δεν βασίζονται στη φορμαλίνη, αλλά στην αλκοόλη, έχει ως αποτέλεσμα τη διατήρηση της μορφολογίας, την καλή ποιότητα RNA, καθώς και τη διατήρηση της πρωτεϊνικής αντιγονικότητας και της λειτουργικής ενεργότητας. Οι ιστοί έχουν πολύπλοκες τριδιάστατες δομές και αποτελούνται από πολλούς κυτταρικούς πληθυσμούς που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Ο κυτταρικός υποπληθυσμός που μπορεί να ενδιαφέρει τον ερευνητή, είναι πιθανό να αποτελεί ένα ελάττωτο κλάσμα του ολικού όγκου του ιστού. Το πρόβλημα μπορεί να αντιμετωπιστεί με την καλλιέργεια κυτταρικών σειρών, αν και οι συνθήκες in vitro δεν αντιστοι-

χούν ακριβώς στις in vivo, ή με τη μελέτη της αλληλεπίδρασης υποπληθυσμών καρκινικών κυττάρων συγκεκριμένου δείγματος, μέσω διερεύνησης της γονιδιακής έκφρασης. Το μειονέκτημα της τελευταίας προσέγγισης είναι, ότι δεν μπορούμε να γνωρίζουμε την ακριβή αναλογία των υποπληθυσμών των καρκινικών κυττάρων, η οποία μπορεί να εκτιμηθεί με τη χρήση αλγορίθμων που βασίζονται στην έκφραση γνωστών γονιδίων σε κάθε υποπληθυσμό. Μία τεχνική που επιτρέπει την ανάλυση κάθε υποπληθυσμού καρκινικών κυττάρων ξεχωριστά, είναι η μικροεκτομή με μικροσκόπιο που χρησιμοποιεί laser.

Μια άλλη χρήση των μικροσυστοιχιών DNA στο πεδίο της διερεύνησης του καρκίνου συνίσταται στη διαλεύκανση του μηχανισμού δράσης των αντικαρκινικών φαρμάκων. Η ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης αποκαλύπτει τις μεταβολές που επιφέρει κάποιο χρησιμοποιούμενο συγκεκριμένο φάρμακο και δίνει πληροφορίες για τους μοριακούς στόχους της δράσης του. Η ανάλυση αυτή θα είναι σημαντική τόσο για τις φαρμακευτικές εταιρίες που στοχεύουν στην ανάπτυξη βελτιωμένων φαρμάκων, όσο και για τους μοριακούς βιολόγους που ερευνούν τις οδούς μεταγωγής μηνυμάτων, χρησιμοποιώντας φαρμακολογικές τεχνικές. Σε πρόσφατη μελέτη έγινε δυνατή η συσχέτιση της ανασταλτικής δράσης 70.000 χημικών ουσιών στην κυτταρική ανάπτυξη με το πρότυπο γονιδιακής έκφρασης 60 καρκινικών κυτταρικών σειρών, αποκαλύπτοντας γονίδια που εμπλέκονται στην ευαισθησία ή στην ανθεκτικότητα στις ουσίες που εξετάστηκαν⁴. Η πληροφορία που προέκυψε, συγκεντρώθηκε σε βάση δεδομένων και είναι δυνατόν να συσχετιστεί με γονιδιωματικές μεταβολές ή την ενεργοποίηση γνωστών ογκογονιδίων, που χαρακτηρίζουν τις συγκεκριμένες κυτταρικές σειρές.

Το πρότυπο της γονιδιακής ρύθμισης μπορεί, στη συνέχεια, να συσχετιστεί με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του όγκου, την κλινική συμπεριφορά και την ανταπόκριση στη θεραπεία.

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που έχει να αντιμετωπίσει ο παθολογοανατόμος, είναι ο προσδιορισμός του ιστολογικού τύπου, του βαθμού διαφοροποίησης και του σταδίου του καρκίνου. Η χρήση μοριακών καρκινικών δεικτών, ο προσδιορισμός των οποίων πραγματοποιείται με τεχνικές Μοριακής Παθολογίας, αποτελεί σημαντική βοήθεια προς αυτό τον σκοπό. Οι μικροσυστοιχιές DNA επιτρέπουν την ταυτοποίηση μοριακών καρκινικών δεικτών, μέσω σύγκρισης των πληροφοριών που λαμβάνονται από ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων κακοήθων όγκων ή σε καρκινικές κυτταρικές σειρές.

Με τη χρησιμοποίηση μικροσυστοιχιών DNA έχει γίνει δυνατή η διαφορική διάγνωση υποτύπων λευχαιμίας και λεμφώματος, καθώς και ο διαχωρισμός φυσιολογικού και καρκινικού ιστού παχώς εντέρου. Επιπλέον, οι μικροσυστοιχιές DNA θα μπορούσαν να προσφέρουν σημαντικές γνώσεις στη διάκριση της πρωτογενούς εστίας από τις μεταστάσεις.

Η πληροφορία για την κλινική συμπεριφορά των κακοήθων όγκων προκύπτει, ακόμη και σήμερα, κυρίως από την παρατήρηση του ιστού στο μικροσκόπιο, η οποία περιέχει σε μεγάλο βαθμό το στοιχείο της υποκειμενικότητας.

Όπως όμως είναι γνωστό από την κλινική πρακτική, καρκινώματα με παρόμοια μορφολογικά χαρακτηριστικά συχνά αντιποικιλούν σε ασθενείς στους οποίους η νόσος έχει διαφορετική έκβαση. Είναι συνεπώς προφανής η επιτακτική ανάγκη που υπάρχει για την εύρεση προγνωστικών παραγόντων, που θα επιτρέψουν την κατηγοριοποίηση των ασθενών, ώστε να διευκολυνθεί η λήψη αποφάσεων για τη θεραπευτική αγωγή που θα πρέπει να χορηγηθεί.

Μελλοντικές προοπτικές

Η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών DNA διευρύνει τους ορίζοντες της μοριακής έρευνας, προσφέροντας στους μελετητές μια ολοκληρωμένη άποψη των βιολογικών φαινομένων. Μέσα στην επόμενη δεκαετία υπολογίζεται, ότι η χρήση των μικροσυστοιχιών DNA θα περάσει από το ερευνητικό πεδίο, μετά από μια περίοδο ποιοτικού ελέγχου, στην κλινική πράξη, και συγκεκριμένα στη διάγνωση και τη θεραπεία ασθενειών, όπως είναι ο καρκίνος. Έτσι, θα είναι δυνατή η χρήση της πληροφορίας της γονιδιακής έκφρασης για τη δημιουργία του «μοριακού αποτυπώματος» κάθε όγκου, γεγονός που θα οδηγήσει σε σαφέστερο καθορισμό της διάγνωσης και της πρόγνωσης της νόσου, με απότερο στόχο την εξατομίκευση της θεραπείας για κάθε ασθενή. Καθώς θα διευρύνονται οι γνώσεις μας για τους μοριακούς μηχανισμούς που καθορίζουν την εξέλιξη του καρκίνου, είναι πιθανή η καθιέρωση αλλαγών στις υπάρχουσες ταξινομήσεις. Αυτή είναι μία ακόμη πρόκληση για τους μοριακούς βιολόγους και τους παθολογοανατόμους, που καλούνται να ενσωματώσουν τις μεταβολές αυτές στην καθημερινή πρακτική.

(*) Επικοινωνία: e-mail: vzub@eie.gr

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Lakhani S.R., Ashworth A.: *Microarray and histopathological analysis of tumours: the future and the past?* *Nature Reviews* November 2001, 151-157.
2. Schulze A., Downward J.: *Analysis of gene expression by microarrays: cell biologist's gold mine or minefield?* *Journal of Cell Science* 2000, 113: 4151-4156.
3. Liotta L., Petricoin E.: *Molecular profiling of human cancer.* *Nature Reviews* October 2000, 48-56.
4. Scherf U., Ross D.T., Waltham M., Smith L.H., Lee J.K., Tanabe L., Kohm K.W., Reinhold W.C., Myers T.G., Andrews D.T.: *A gene expression database for the molecular pharmacology of cancer.* *Nature Genet* 2000, 24: 236-244.