



ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤ' ΕΞΑΜΗΝΟΥ

Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων
Τ.Ε.Ι. Αθήνας

Μάθημα 7^ο
Αυξητική ορμόνη

Διδάσκων

Δρ. Ιωάννης Δρίκος

Απόφοιτος Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων (ΠΙ)

Απόφοιτος Βιολογίας, ΑΠΘ

Διδάκτωρ Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ)

Ειδ. Παιδιατρικής

email: johndrikos@yahoo.com, idrikos@teiath.gr



Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό
Ίδρυμα Αθήνας

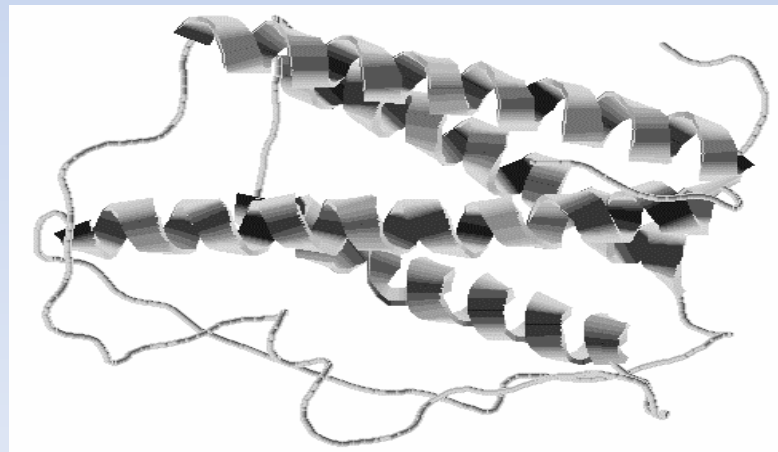


Αναδρομή στην παραγωγή της GH με την τεχνολογία rDNA

- ✓ Στη δεκαετία του 1960 και του 1970, τα παιδιά υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αυξητική ορμόνη απομονώθηκε από ανθρώπινα πτώματα.
- ✓ Το 1985 ο FDA απαγόρευσε αυτή την πρακτική, διότι αρκετοί ασθενείς έχασαν τη ζωή τους από μια θανατηφόρα διαταραχή του εγκεφάλου γνωστή ως Creutzfeldt-Jacob (CJD).
- ✓ Η CJD προκλήθηκε έπειτα από μόλυνση με prions στο εκχύλισμα αυξητικής ορμόνης.
- ✓ Το 1985, η Genentech εισήγαγε την προτροπίνη, μια ανασυνδυασμένη GH που παράγεται από βακτήρια.

Δομή των αυξητικών ορμονών

- ✓ **Οι αυξητικές ορμόνες GHs** σε γενικές γραμμές, έχουν ένα μοριακό βάρος περίπου 22.000 Daltons (22 kDa)
- ✓ **Δεν απαιτούν μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις** για να γίνουν λειτουργικές.
- ✓ Αυτά **συντίθενται από τα σωματότροφα κύτταρα** της υπόφυσης, έχοντας ως σημαντικό ρόλο στην μεταγεννητική σωματική ανάπτυξη και τη γαλουχία.



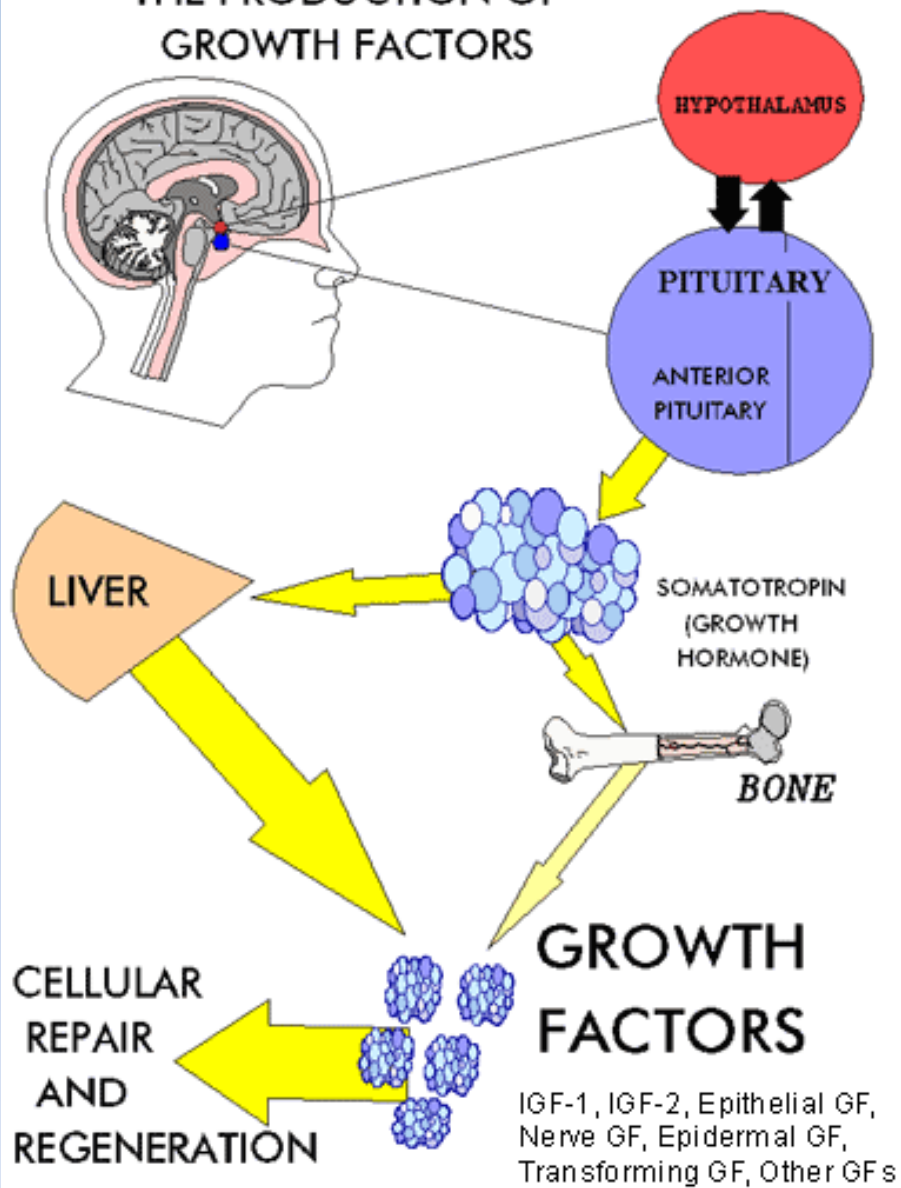
Ο γενετικός τόπος της ανθρώπινης GH

✓ Εκτός από τα δύο γονίδια hGH (κανονικό και μεταβλητό), τρεις HCSS συμπληρώνουν την πολυγονιδιακή οικογένεια των HG στο ανθρώπινο γονιδίωμα. Αυτά είναι διατεταγμένα με την ακόλουθη σειρά: HGHN, HCS-1, HCS-2, HGH-V y HCS-3.

✓ Τα τελευταία χρόνια έχουν κλωνοποιηθεί τα γονίδια των hGH και έχουν εκφραστεί σε κυτταρική καλλιέργεια, καθώς επίσης έχουν προσδιοριστεί και οι παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα έκφρασης τους.

✓ Αρκετά νέα γονίδια και συμπληρωματικό DNA (cDNA) με το mRNA πολυάριθμων GHs έχουν απομονωθεί στο εργαστήριο κυρίως από θηλαστικά.

THE PRODUCTION OF GROWTH FACTORS



Αυξητικές ορμόνες ανθρώπινης προέλευσης

Immunization and healing <ul style="list-style-type: none">• Resistance to common diseases• Ability to heal• Healing of old lesions• Healing of other lesions• Ulcer treatment	Mental function <ul style="list-style-type: none">• Emotional stability• Memory• General aspect and attitude• Mental energy and clarity
Skin and hair <ul style="list-style-type: none">• Skin elasticity• Skin thickness• Skin texture• Growth of new hair• Disappearance of wrinkles• Skin hydration	Muscle strength and tone <ul style="list-style-type: none">• Increase in energy in general• Increase muscle strength• Promotion of muscle mass gain
Sexual factors <ul style="list-style-type: none">• Duration of an erection• Increase in libido• Potential/frequency of sexual activity• Regulation and control of the menstrual cycle• Positive effects in the reproductive system• Increase in breast-milk volume	Circulatory system <ul style="list-style-type: none">• Improvement in circulation• Stabilization of blood pressure• Improvement in cardiac function
Bone <ul style="list-style-type: none">• As treatment for bone fractures• Osteoporosis treatment• Increases flexibility of the back and joints	Fats <ul style="list-style-type: none">• Increases “good” cholesterol (HDL) levels• Reduces fat

Παραγωγή ανθρώπινης ανασυνδυασμένης GH (1)

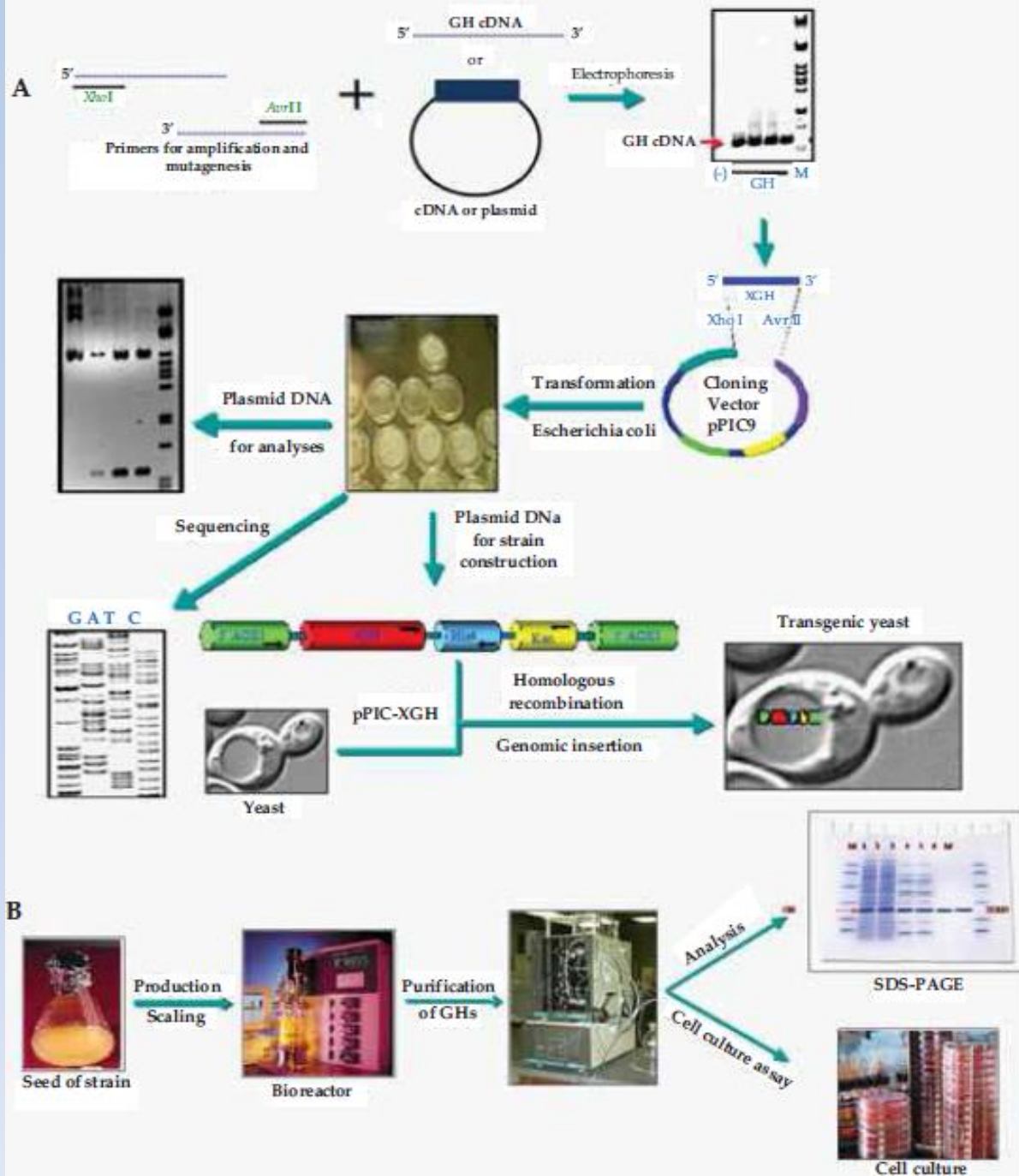
- ✓ Μεταξύ των πρώτων cDNAs που κλωνοποιήθηκαν και εκφράστηκαν σε βακτήρια *Escherichia coli* ήταν η GH.
- ✓ Αυτό το σύστημα έκφρασης έχει χρησιμοποιηθεί από το 1985 για την παραγωγή ανασυνδυασμένων GH από την Genentech (προτροπίνης), η οποία αργότερα ακολουθήθηκε από τις Biotech (biotropin), Novo Nordisk (Norditropin), Serono (SEROSTIM).
- ✓ Η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη που έχει ανακτηθεί από το *E. coli* έχει ανεπιθύμητες τροποποιήσεις.

Παραγωγή ανθρώπινης ανασυνδυασμένης GH (2)

- ✓ Οι προσπάθειες έχουν επικεντρωθεί στην αναζήτηση καλύτερων συστημάτων έκφρασης, όπως ο *Saccharomyces cerevisia*, ο *Bacillus subtilis*, καλλιέργειες σε κύτταρα θηλαστικών, καθώς επίσης και διαγονιδιακά ζώα.
- ✓ Αυτά τα συστήματα έκφρασης δεν προσφέρουν όμως ένα επίπεδο παραγωγής μεγαλύτερο από εκείνο του *E coli* αλλά και καταλληλότερη μορφή προϊόντος.
- ✓ Ο *P. pastoris* είναι ένας μεθυλοτροφικός ζυμομύκητας (ικανός να αναπτύσσεται σε μεθανόλη ως μόνη πηγή άνθρακα πηγή) που προσφέρει μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις και παράγει ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη μια ή δύο τάξεις μεγέθους καλύτερες από εκείνες του *Saccharomyces cerevisiae*.

Πώς γίνεται η παραγωγή της ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης (HGH) σε βακτηρίδια;

- ✓ Αρχικά γίνεται ανάστροφη μεταγραφή του DNA της hGH με πρότυπο το mRNA.
- ✓ Αυτό το αντίγραφο είναι γνωστό ως συμπληρωματικό DNA ή cDNA.
- ✓ Κλώνος cDNA εισάγεται στο πλασμίδιο.
- ✓ Ακολουθεί η εισαγωγή του ανασυνδυασμένου πλασμιδίου σε βακτήρια (*E. coli*), με τα βακτήρια αυτά να χαρακτηρίζονται ως μετασχηματισμένα.
- ✓ Τέλος γίνεται η επαγωγή της έκφρασης του γονιδίου και ο καθαρισμός HGH.



Η αυξητική ορμόνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θεραπεία (1)

- ✓ Ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης (GHD) σε παιδιατρικούς ασθενείς.
- ✓ Ανεπαρκή ανάπτυξη σχετιζόμενη με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (CRI) πριν από τη μεταμόσχευση νεφρού.
- ✓ Κοντό ανάστημα που σχετίζεται με το σύνδρομο Turner.
- ✓ Ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης (GHD) σε ενήλικες.

Η αυξητική ορμόνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θεραπεία

(2)

- ✓ Η ανασυνδυασμένη αυξητική ορμόνη συνήθως είναι καλά ανεκτή και σπάνια παρατηρούνται ανεπιθύμητες ενέργειες.
- ✓ Αναστρέψιμες επιπλοκές αποτελούν η καλοήθης ενδοκράνια υπέρταση και η δυσανεξία υδατανθράκων σε συνδυασμό με ήπια αντίσταση στην ινσουλίνη.
- ✓ Η αυξητική ορμόνη επηρεάζει το λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών και υποστηρίζεται ότι η χρήση της μπορεί να αυξήσει παράγοντες κινδύνου για τη δημιουργία αθηροσκλήρωσης.
- ✓ Η αυξητική ορμόνη επίσης δρα θετικά στον οστικό μεταβολισμό αυξάνοντας την οστική πυκνότητα ενώ δεν είναι απόλυτα σαφές τι επίδραση έχει στην οστική ηλικία.