



Κατατακτήριες Ιατρικής 2020

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο

Βιολογία, Μάιος 2021

Θέμα 1^ο Πώς ελέγχεται η συστολή του σκελετικού μυός από τα Ca^{2+} ;

Ο σκελετικός μυς αποτελείται από ίνες οι οποίες είναι τεράστια πολυπυρήνα κύτταρα που σχηματίστηκαν από τη σύντηξη πολλών μικρότερων κυττάρων.

Ο κύριος όγκος του κυτταροπλάσματος αποτελείται από μυϊκά ινίδια, τα στοιχεία της συστολής του μυϊκού κυττάρου. Ένα μυϊκό ινίδιο αποτελείται από μία αλυσίδα παρόμοιων λεπτών μονάδων συστολής που καλούνται σε σαρκομερίδια. Η συμμετρική διάταξη σε μία αλυσίδα προσδίδει στα μυϊκά ινίδια των σπονδυλωτών ραβδωτή ή γραμμική εμφάνιση. Τα σαρκομερίδια είναι συγκροτήματα με υψηλή οργάνωση που αποτελούνται από δύο είδη νηματίων, τα νημάτια ακτίνης και νημάτια της ειδικής μυϊκής μυσσίνης II. Τα νημάτια μυσσίνης (χοντρά νημάτια) είναι τοποθετημένα στο κέντρο κάθε σαρκομεριδίου, ενώ τα λεπτότερα νημάτια της ακτίνης (λεπτά νημάτια) εκτείνονται προς τα μέσα από τα άκρα του σαρκομεριδίου από αγκυροβολούν σε μία δομή γνωστή ως δίσκος Z και επικαλύπτουν τα άκρα των νηματίων της ακτίνης.

Η συστολή του μυϊκού κυττάρου οφείλεται σε ταυτόχρονη βράχυνση όλων των σαρκομεριδίων, η οποία προκαλείται από την ολίσθηση των νηματίων ακτίνης πάνω στα νημάτια μυσσίνης, χωρίς μεταβολή του μήκους των δύο νηματίων. Η κίνηση της ολίσθησης δημιουργείται από τις κεφαλές της μυσσίνης που προεξέχουν προς τα πλάγια του νηματιού της μυσσίνης και αλληλεπιδρούν με γειτονικά νημάτια ακτίνης. Όταν ένας μυς διεγείρεται, οι κεφαλές της μυσσίνης αρχίζουν να «περπατούν» κατά μήκος του δωματίου της ακτίνης με επαναλαμβανόμενους κύκλους προσκόλλησης και αποκόλλησης. Αυτή η συνδυασμένη δράση έλκει τα νήματα της ακτίνης και της μυσσίνης να μετακινηθούν αντίθετα το ένα πάνω στο άλλο προκαλώντας τη μείωση του σαρκομεριδίου. Κατά τη διάρκεια κάθε κύκλου προσκόλλησης και αποκόλλησης μία κεφαλή μυσσίνης προσδένει και υδρολύει ένα μόριο ATP.

Όταν η ηλεκτρική διέγερση φτάσει στο σκελετικό μυ διαδίδεται μέσω των εγκάρσιων σωληναρίων που εκτείνονται από την κυτταρική μεμβράνη προς τα μέσα σε κάθε μυϊκό ινίδιο. Η νευρική ώση μεταδίδεται και στο σαρκοπλασματικό δίκτυο (ένα δίκτυο και πεπλατυσμένων σάκων) που περιβάλλει κάθε μυϊκό κύτταρο. Το σαρκοπλασματικό δίκτυο είναι μία

εξειδικευμένη περιοχή του ενδοπλασματικού δικτύου στα μυϊκά κύτταρα και περιέχει πολύ υψηλή συγκέντρωση ασβεστίου. Μόλις φτάσει η νευρική ώση ένα μεγάλο ποσό Ca^{2+} απελευθερώνεται στο κυτταροδιάλυμα μέσω εξειδικευμένων ιοντικών διαύλων της μεμβράνης του σαρκοπλασματικού δικτύου, οι οποίοι ανοίγουν απαντώντας στην αλλαγή του δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης και των σωληναρίων T. Το ασβέστιο χρησιμοποιείται ευρύτατα ως ενδοκυττάριο σηματοδοτικό ιόν για την αναμετάδοση μηνυμάτων. Στο μυ το ασβέστιο αλληλεπιδρά με ένα μοριακό διακόπτη που αποτελείται από εξειδικευμένες βοηθητικές πρωτεΐνες οι οποίες συνδέονται ισχυρά με τα νημάτια ακτίνης. Μία από αυτές είναι η τροπομυοσίνη ένα άκαμπτο ραβδόμορφο πρωτεϊνικό μόριο που προσδένεται στο αυλάκι της έλικας της ακτίνης καλύπτοντας την και έτσι εμποδίζει τη σύνδεση των κεφαλών της μυοσίνης με τα νημάτια της ακτίνης. Η άλλη είναι η τροπονίνη ένα πρωτεϊνικό σύμπλοκο που περιβάλλει μία ευαίσθητη στο ασβέστιο πρωτεΐνη η οποία διασυνδέεται με το άκρο ενός μορίου τροπομυοσίνης. Όταν αυξηθεί η συγκέντρωση του Ca^{2+} στο κυτταροδιάλυμα τα ιόντα ασβεστίου προσδένονται στην τροπονίνη και προκαλούν μία αλλαγή στο σχήμα της. Στη συνέχεια αυτό προκαλεί μία ελαφρά μετατόπιση των μορίων της τροπομυοσίνης επιτρέποντας τις κεφαλές της μυοσίνης να προσδεθούν στο νήμα του της ακτίνης και να ξεκινήσει η συστολή. Επειδή από την κυτταρική μεμβράνη το σήμα περνά μέσω των εγκάρσιων σωληναρίων και του σαρκοπλασματικού δικτύου σε κάθε σαρκομερίδιο του κυττάρου μέσα σε χιλιοστά του δευτερολέπτου όλα τα μυϊκά ινίδια του κυττάρου συστέλλονται ταυτόχρονα. Η αύξηση του Ca^{2+} στο κυτταροδιάλυμα σταματά αμέσως μετά τη διακοπή του νευρικού σήματος. Επειδή το Ca^{2+} γρήγορα αντλείται πίσω στο σαρκοπλασματικό δίκτυο μέσω των πολυάριθμων αντλιών Ca^{2+} που βρίσκονται στη μεμβράνη του, μόλις η συγκέντρωση του Ca^{2+} επανέλθει στο επίπεδο της ηρεμίας τα μόρια της τροπονίνης και της τροπομυοσίνης επιστρέφουν στις αρχικές τους θέσεις εμποδίζοντας την πρόσδεση της μυοσίνης και σταματώντας τη μυϊκή συστολή.

Θέμα 2^ο : Δώστε σύντομους ορισμούς κασπάσες απόπτωση, αποπτωσωμάτιο, μιτογόνα

Η **απόπτωση** είναι ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος. Είναι μία διεργασία διαδομένη τόσο στους αναπτυσσόμενους όσο και στους ενηλίκους ζωικούς ιστούς. Μέσω της απόπτωσης ο οργανισμός ελέγχει τον αριθμό των κυττάρων του και απομακρύνει κύτταρα που έχουν υποστεί βλάβες οι οποίες δεν μπορούν να επιδιορθωθούν και κύτταρα που πλέον δεν είναι χρήσιμα στον οργανισμό. Ο κυτταρικός αυτός θάνατος αντιρροπεί τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Η απόπτωση είναι μία ενδοκυττάρια πρωτεολυτική διαδικασία κατά την οποία τα κύτταρα που πεθαίνουν δεν προκαλούν φλεγμονή διασπώνται με πρωτεόλυση εκ των έσω. Τα κύτταρα που αποπίπτουν πακετίζονται σε κυστίδια τα οποία στη συνέχεια φαγοκυττάρονται και τα υλικά τους ανακυκλώνονται. Η απόπτωση είναι μία διαδικασία καταστροφική αυτοενισχυόμενη και μη αντιστρεπτή.

Οι **κασπάσες** είναι πρωτεολυτικά ένζυμα που ενυπάρχουν μέσα στα κύτταρα με τη μορφή ανενεργών πρόδρομων μορίων (προκασπασες) και ενεργοποιούνται σε απάντηση προς διάφορα σήματα που επάγουν την απόπτωση. Δύο τύποι κασπασών συνεργάζονται για να διασπάσουν ένα κύτταρο: οι εναρκτήριοι κασπάσες οι οποίες πρωτεολύουν και ενεργοποιούν τις εκτελεστικές κασπάσες. Οι εκτελεστικές κασπάσες ενεργοποιούν άλλους τελεστές με συνέπεια την ενίσχυση της πρωτεολυτικής ακολουθίας ενώ άλλες διασπούν βασικές πρωτεΐνες του κυττάρου.

Όταν μία από τις προαποπτωτικές πρωτεΐνες της οικογένειας bcl-2 ενεργοποιηθεί από κάποιο αποπτωτικό σήμα συσσωρεύεται στην εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και προκαλεί την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από το διαμεμβρανικό χώρο του μιτοχονδρίου προς το κυτταροδιάλυμα. Εκεί το κυτόχρωμα c προσδένεται σε μία πρωτεΐνη προσαρμογέα και προκαλεί τη συναρμολόγηση της σε μία ακτινωτή δομή με 7 βραχίονες. Αυτό το σύμπλοκο επιστρατεύει 7 μόρια της προκασπάσης 9 και σχηματίζει μία δομή που καλείται **αποπτοσωμάτιο**. Στο αποπτοσωμάτιο τα μόρια της κασπάσης 9 ενεργοποιούνται και στη συνέχεια ενεργοποιούν εκτελεστικές προκασπάσες του κυτταροδιαλύματος πυροδοτώντας μία ακολουθία κασπασών που οδηγεί στην απόπτωση.

Μιτογόνα είναι εκκρινόμενες σηματοδοτικές πρωτεΐνες που προσδένονται σε υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας. Η πρόσδεση του μιτογόνου στον υποδοχέα ενεργοποιεί ποικίλες ενδοκυτταρίες σηματοδοτικές οδούς που διεγείρουν την κυτταρική διαίρεση. Οι σηματοδοτικές οδοί κυρίως δρουν αίροντας τα μοριακά φρένα που αναστέλλουν τη μετάβαση από τη φάση G1 στη φάση S του κυτταρικού κύκλου. Η δράση λοιπόν των μιτογόνων συνίσταται στην επαγωγή της κυτταρικής διαίρεσης. Πολλά μιτογόνα που έχουν ταυτοποιηθεί και χαρακτηριστεί συνδέονται σε υποδοχείς RTKs δηλαδή υποδοχείς με δράση κινάση της τυροσίνης.

Θέμα 3^ο : Ποιες στρατηγικές ακολουθούνται στη γενετική επιδημιολογία;

Οι επιδημιολογικές μελέτες για τους παράγοντες κινδύνου μιας ασθένειας βασίζονται σε πληθυσμιακές μελέτες που μετρούν τη συχνότητα εμφάνισης ή την επικράτηση μιας ασθένειας και καθορίζουν αν ορισμένοι παράγοντες κινδύνου (γενετικοί, περιβαλλοντικοί ή κοινωνικοί και άλλοι) απαντώνται σε άτομα με ή χωρίς την ασθένεια. Η γενετική επιδημιολογία ασχολείται με τον τρόπο με τον οποίο αλληλεπίδραση μεταξύ γονοτύπων και περιβαλλοντικών παραγόντων αυξάνει ή μειώνει την προδιάθεση για την ασθένεια. Οι επιδημιολογικές μελέτες ακολουθούν μία από τρεις διαφορετικές στρατηγικές.

Πρώτη τη μελέτη ασθενών-μαρτύρων. Σε αυτή τη στρατηγική επιλέγονται άτομα με ή χωρίς την ασθένεια και οι γονότυποι καθορίζονται και συγκρίνονται με περιβαλλοντικούς παράγοντες στους οποίους εκτίθενται τα άτομα και στις δύο ομάδες.

Δεύτερον μελέτες διασταυρούμενων σχεδιασμού. Ένα τυχαίο δείγμα του πληθυσμού επιλέγεται και διαχωρίζεται σε αυτούς που έχουν και σε αυτούς που δεν έχουν την ασθένεια. Καθορίζονται και συγκρίνονται οι γονότυποι και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες στους οποίους έχουν εκτεθεί όλα τα άτομα.

Τρίτον, μελέτες πληθυσμιακών ομάδων. Επιλέγεται ένα δείγμα του πληθυσμού, παρατηρείται για κάποιο χρονικό διάστημα ώστε να γίνει διακρίβωση αυτών που αναπτύσσουν και αυτών που δεν αναπτύσσουν την ασθένεια και καθορίζονται και συγκρίνονται οι γονότυποι και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες στους οποίους έχουν εκτεθεί. Το πληθυσμιακό δείγμα μπορεί να έχει επιλεγεί τυχαία ή μπορεί να αφορά άτομα που διαθέτουν ένα κοινό γονότυπο ή έχουν εκτεθεί σε ένα κοινό περιβαλλοντικό παράγοντα.

Θέμα 4^ο : Τι είναι ο μωσαϊκισμός και με ποιες τεχνικές ανιχνεύεται;

Μωσαϊκισμός ονομάζεται η παρουσία στο ίδιο άτομο ή στον ίδιο ιστό δύο τουλάχιστον κυτταρικών σειρών οι οποίες διαφέρουν γενετικά άλλα προέρχονται από το ίδιο ζυγωτό. Οι μεταλλάξεις που συμβαίνουν σε ένα κύτταρο πριν ή μετά τη γέννηση μπορεί να δημιουργήσουν κλώνους κυττάρων που διαφέρουν γενετικά από το αρχικό ζυγωτό. Επειδή η μετάλλαξη μπορεί να μεταβιβαστεί σε όλους τους απόγονους του κυττάρου στο οποίο πρώτο συνέβη αποτελεί ένα σημαντικό φαινόμενο από γενετική άποψη όσον αφορά στις αριθμητικές και δομικές ανωμαλίες

Ο μωσαϊκισμός αποτελεί την πιθανότερη εξήγηση για συνήθη κλινικά ευρήματα όπως η τμηματική νευροϊνωμάτωση και μπορεί να είναι αμιγώς σωματικός ή αμιγώς γαμετικός.

Αυτό συμβαίνει όταν η μετάλλαξη συμβεί σε εμβρυικό στάδιο μετά το διαχωρισμό των κυττάρων της γραμματικής και της σωματικής σειράς. Αν η μετάλλαξη έλαβε χώρα πριν το διαχωρισμό τόσο η σωματική όσο και η γαμετική σειρά θα είναι μωσαϊκές και κατά συνέπεια η μετάλλαξη θα εκφράζεται στο μωσαϊκό άτομο, ενώ θα είναι δυνατόν επίσης να μεταβιβαστεί στους απόγονους του. Εάν η μετάλλαξη έλαβε χώρα μετά το διαχωρισμό των σωματικών από τα γαμετικά κύτταρα τότε θα εντοπίζεται είτε μόνο στα κύτταρα της γαμετικής είτε σε μία ομάδα σωματικών κυττάρων. Η διάκριση μεταξύ σωματικού και γαμετικού μωσαϊκισμού μπορεί να είναι δύσκολη γιατί η αποτυχία ανίχνευσης της μετάλλαξης στα εύκολα προσβάσιμα όπως τα λευκά αιμοσφαίρια τα επιθηλιακά κύτταρα του στόματος ή τα κύτταρα του δέρματος δεν αποκλείει την παρουσία της μετάλλαξης και σε άλλους κυτταρικούς ιστούς συμπεριλαμβανομένης της γαμετικής σειράς.

Τα θήλεα άτομα των σπονδυλωτών εμφανίζουν μωσαϊκισμό ως προς το χρωμόσωμα Χ. Σε ένα πρώιμο εμβρυονικό στάδιο και προκειμένου να εξισορροπηθεί η διπλή δόση του χρωμοσώματος Χ τα μισά κύτταρα του κυήματος απενεργοποιούν το Χ πατρικής προέλευσης και τα άλλα μισά κύτταρα το χρωμόσωμα Χ μητρικής προέλευσης. Το απενεργοποιημένο χρωμόσωμα Χ ονομάζεται σωματίο Barr και απενεργοποιείται με διάφορους γενετικούς μηχανισμούς όπως μεθυλίωση νησιδίων CpG, μακροιστόνες, ncRNAs. Διατηρεί την έκφραση του 15% των γονιδίων του.

Η κυτταρογενετική ανίχνευση του μωσαϊκισμού μου απαιτεί δειγματοληψία από πολλούς διαφορετικούς ιστούς: περιφερικά λεμφοκύτταρα, επιθηλιακά κύτταρα στόματος, δέρματος και σε περίπτωση που πρέπει να διαπιστωθεί και ο γαμετικός μωσαϊκισμός δειγματοληψία και από τις γονάδες.

Η ανίχνευση του μωσαϊκισμού εκτός από δειγματοληψία σε πολλαπλούς ιστούς απαιτεί και εξειδικευμένες κυτταρογενετικές και μοριακές τεχνικές.

Κυτταρογενετική ανάλυση χρωμοσωματικών ανωμαλιών (απόκλισης στον αριθμό και στη δομή των χρωμοσωμάτων) μπορεί να γίνει με διαδεδομένες τεχνικές όπως η Giemsa και μικροσκόπια, είτε με φθορίζουσα υβριδοποίηση in situ (FISH), είτε με συγκριτική γονιδιωματική υβριδοποίηση η οποία μπορεί να τακτοποιήσει και να χαρακτηρίσει μέσω φθορίζουσες απεικόνισης τη διαφορά μεταξύ δύο διαφορετικών δειγμάτων DNA όσον αφορά τον αριθμό και τη δόση ενός συγκεκριμένου τμήματος DNA.

Μωσαϊκισμός σε επίπεδο αλληλουχίας του DNA θα πρέπει να ανιχνευθεί με μοριακές τεχνικές. Συγκεκριμένα, το DNA των κυττάρων αυτών αφού απομονωθεί με κατάλληλες μεθόδους θα πρέπει να πολλαπλασιαστεί με την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης PCR ακολούθως οι τεχνικές επιλογής είναι είτε μέσω μικροσυστοιχίας DNA (χρησιμοποιώντας εναλλακτικούς ανιχνευτές κατάλληλα κατασκευασμένους έτσι ώστε να ανιχνεύουν σημειακές μεταλλάξεις, διπλασιασμούς, ελλείμματα κ.α.) είτε μέσω αλληλούχισης next generation sequencing.