



Εργαστήριο Υγιεινής, Επιδημιολογίας
και Ιατρικής Στατιστικής
Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Σύγχρονες προσεγγίσεις μοριακής επιδημιολογίας – εφαρμογές σε πανδημίες

Δημήτριος Παρασκευής

1



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ, ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ
& ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ

Μικρός Ασίας 75 Τ.Κ. 11527 Γουδί
Τηλ: 210 746 2100 -FAX: 210 746 2080
e-mail: dehems@med.uoa.gr

Διευθύντρια: Καθηγήτρια Π. Δ. Λάγιου

Αγαπητοί φοιτητές,

Θα θέλαμε να σας ενημερώσουμε ότι η αντιγραφή, καταγραφή, αναπαραγωγή, μετάδοση ή διανομή με οποιοδήποτε τρόπο, του συνόλου ή μέρους των ηλεκτρονικών μαθημάτων, χωρίς προηγούμενη ρητή γραπτή συγκατάθεση του διδάσκοντος δεν επιτρέπεται βάσει νόμου.

Το ίδιο ισχύει και για τις διαφάνειες/παρουσιάσεις που αναρτώνται στην ηλεκτρονική τάξη του μαθήματος, οι οποίες είναι στη διάθεσή σας για προσωπική χρήση και εκπαιδευτικούς σκοπούς.

2

Ορισμός επιδημιολογίας

- **Επιδημιολογία** είναι η μελέτη της κατανομής των παραγόντων που επηρεάζουν τη συχνότητα των νοσημάτων στον άνθρωπο (MacMahon, 1970).
- **Επιδημιολογία** είναι η μελέτη της κατανομής και των παραγόντων που επηρεάζουν τη συχνότητα των νοσημάτων* στον ανθρώπινο πληθυσμό και η εφαρμογή της στον έλεγχο των υγειονομικών προβλημάτων (Aschengrau and Seage, 2008).

* Νόσημα: νόσος, κακώσεις, αναπηρία, θάνατος

3

Σκοποί – Στόχοι Επιδημιολογίας

1. Μελέτη συχνότητας νοσημάτων
2. Μελέτη κατανομής νοσημάτων
3. Μελέτη αιτιολογίας νοσημάτων
4. Μελέτη φυσικής ιστορίας νοσημάτων
5. Αξιολόγηση θεραπευτικών και προληπτικών μέτρων
6. Αξιολόγηση υπηρεσιών υγείας

4

Ορισμός μοριακής επιδημιολογίας

- **Επιδημιολογία** είναι η μελέτη της κατανομής των νοσημάτων και των παραγόντων τους στον άνθρωπο.
- **Μοριακή επιδημιολογία** είναι η μελέτη της κατανομής των νοσημάτων και των παραγόντων τους στον άνθρωπο και σε ζωικούς πληθυσμούς, χρησιμοποιώντας μοριακές μεθόδους.
- Η μοριακή επιδημιολογία βασίζεται, κυρίως, στην ανάλυση του γενετικού υλικού των παθογόνων.

5

Εφαρμογές μοριακής επιδημιολογίας

- Η χρήση βιολογικών δεικτών ή μετρήσεων στην επιδημιολογική έρευνα:
 - Ταυτοποίηση γενετικών δεικτών που σχετίζονται με νοσήματα.
 - Μελέτη επιδημιών από ταχέως εξελισσόμενα παθογόνα.

6

Συνεισφορά Μοριακής Επιδημιολογίας

- Οι μέθοδοι της μοριακής επιδημιολογίας, εκτιμώντας τα χαρακτηριστικά των επιμέρους επιδημιών, έχουν συμβάλει **σημαντικά** στον σχεδιασμό και την αποτελεσματική εφαρμογή θεραπευτικών και προληπτικών παρεμβάσεων.

Jansson et al, AIDS 2010, Smith et al, AIDS 2011, Brenner et al, JID 2011, Hue et al, AIDS 2004, Brenner et al, JID 2007, Pillay et al, 2007, Leigh Brown et al, JID 2011, Paraskevis et al, Eurosurveillance 2011, Paraskevis et al, Plos One 2013, Paraskevis et al, IGE 2015, Pybus et al, Genet 2007, Kouyos et al, JID 2010

7

Σκοπός της άσκησης

- Τα τελευταία χρόνια οι εφαρμογές της μοριακής επιδημιολογίας στη μελέτη επιδημιών είναι πάρα πολλές λόγω:
 1. Του μεγάλου όγκου μοριακών δεδομένων (αλληλουχίες DNA)
 2. Της υψηλής ταχύτητας των σύγχρονων υπολογιστών
 3. Των αναλυτικών μεθόδων που αναπτύχθηκαν για αυτό το σκοπό
- Τα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά που εκτιμώνται με μεθόδους μοριακής επιδημιολογίας δεν μπορούν να εκτιμηθούν με άλλο τρόπο.

8

Μοριακή επιδημιολογία (1)

- Οι κύριες παραμέτροι για τη μελέτη επιδημιών λοιμογόνων παραγόντων είναι:
 - Η επίπτωση, ο επιπολασμός και ο βασικός αριθμός αναπαραγωγής (R_0)
- Για μερικούς παράγοντες (π.χ. HIV, HCV) λόγω της μεγάλης περιόδου επώασης των νοσημάτων που προκαλούν και απουσία τυπικής συμπτωματολογίας στην οξεία φάση, η εκτίμηση των παραπάνω παραμέτρων είναι εξαιρετικά δύσκολη.

9

Μοριακή επιδημιολογία (2)

- Επιπλέον χαρακτηριστικά όπως:
 - Τρόπος διασποράς
 - Χρονική προέλευση
 - Γεωγραφική προέλευση
 - Αριθμός ενεργών λοιμώξεων/Δυναμική της μετάδοσης
 - Ρυθμός επιδημικής αύξησης
- Δεν μπορούν να εκτιμηθούν με μεθόδους επιδημιολογικής επιτήρησης.

10

Μοριακή επιδημιολογία (3)

- Οι σύγχρονες μέθοδοι της μοριακής επιδημιολογίας (μοριακή **φυλογένεια**, **φυλοδυναμική**, **φυλογεωγραφία**) καταλήγουν σε εκτιμήσεις για τις παραπάνω παραμέτρους.

11

Μοριακή επιδημιολογία παθογόνων



12

Κατανομή οργανισμών

- Το γενετικό υλικό των οργανισμών περιέχει όλη την πληροφορία για τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των οργανισμών.
- Στη διάρκεια του χρόνου δημιουργούνται «αλλαγές» στη σύσταση (αλληλουχία του DNA) ή τη δομή του γενετικού υλικού.
- Βάσει του ρυθμού που συμβαίνουν αυτές οι «αλλαγές» οι οργανισμοί κατανέμονται στους **ταχέως** ή **αργά εξελισσόμενους** οργανισμούς.

13

Ταχέως εξελισσόμενοι οργανισμοί (1)

- Η εξέλιξη του σύγχρονου ανθρώπου υπολογίζεται να έχει συμβεί σε διάστημα περίπου 0,1 Myr. Το ποσοστό ομοιότητας στο ανθρώπινο DNA είναι περίπου 99,9%.
- Το γενετικό υλικό των ιών, όπως ο HIV ή ο HCV, μεταλλάσσεται με ρυθμό 1% το χρόνο.
- Αυτό σημαίνει ότι οι παραπάνω οργανισμοί εξελίσσονται περίπου 10⁶ φορές πιο γρήγορα από το DNA του ανθρώπου (*measurably evolving populations*).

14

Ταχέως εξελισσόμενοι οργανισμοί (2)

Μειονέκτημα

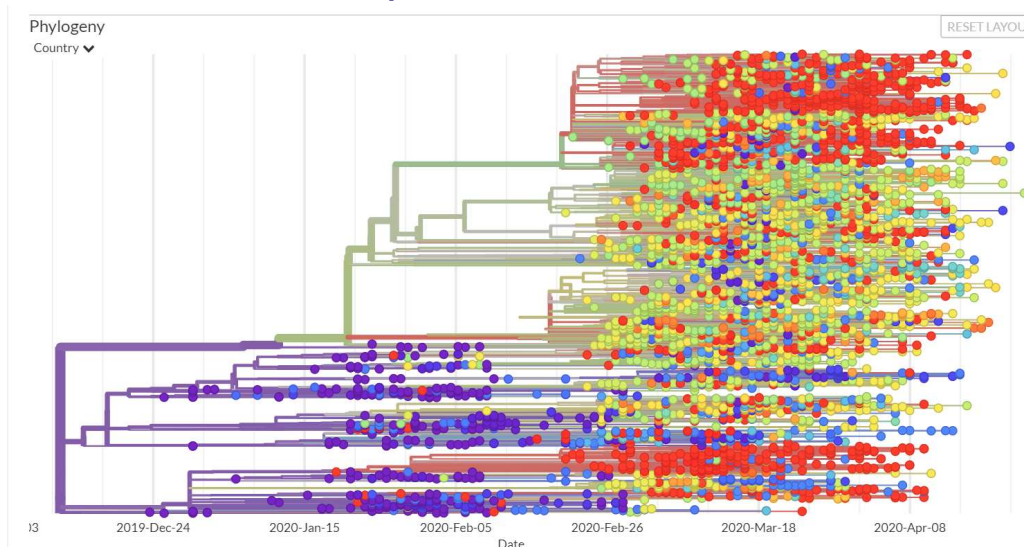
x Μη επαρκή ανοσιακή απάντηση από τον οργανισμό.

Πλεονεκτήματα:

- ✓ Δυνατότητα μελέτης του ιικού πολλαπλασιασμού (εξέλιξης) σε ανθρώπινη κλίμακα.
- ✓ Οι αλλαγές στο γενετικό τους υλικό είναι παρατηρήσιμες από τον άνθρωπο.

15

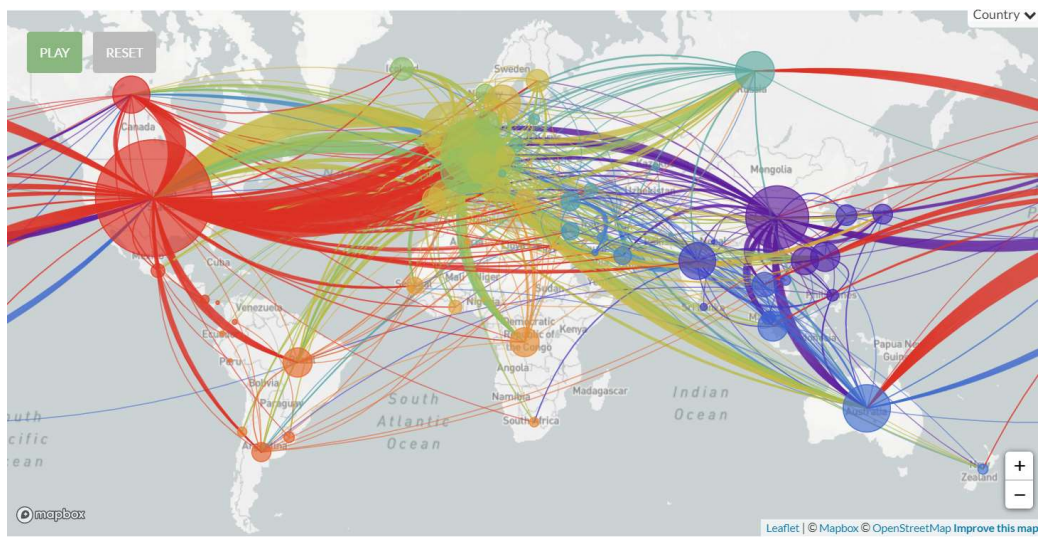
Φυλογένεια COVID-19



<https://nextstrain.org/ncov/global>

16

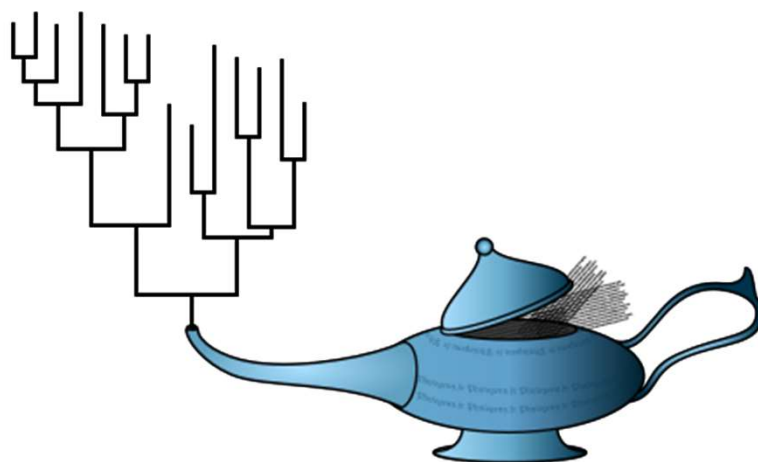
Διασπορά COVID-19



<https://nextstrain.org/ncov/global>

17

Φυλογένεια

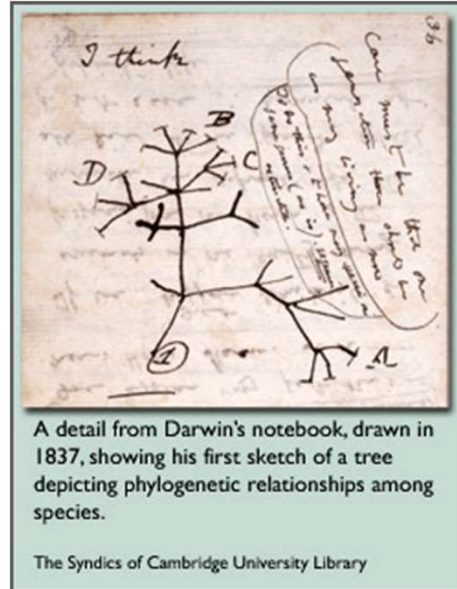


18

Στοιχεία του φυλογενετικού δένδρου

Το 1859, ο Κάρολος Δαρβίνος στις σημειώσεις του βιβλίου του «Η Προέλευση των Ειδών» συμπεριέλαβε ένα γράφημα με τη μορφή «δένδρου» προκειμένου να αναπαραστήσει την **ομαδοποίηση** αλλά και την **αφάνιση** των ειδών στη πορεία του χρόνου

Αυτός ο τρόπος βοήθησε να αποκρυσταλλωθούν οι απόψεις του ότι διαφορετικά είδη έχουν **κοινούς απογόνους** σε διαφορετικά χρονικά σημεία στο παρελθόν



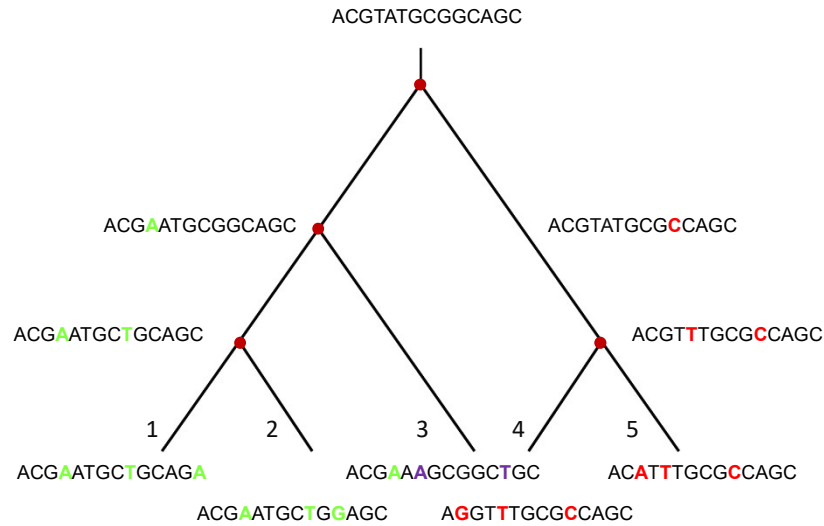
19

Ορισμός φυλογένειας

- Η λέξη «φυλογένεια» προέρχεται από το φυλή και γενετικός.
- Ο κλάδος της **φυλογένειας** μελετά την εξελικτική σχέση μεταξύ οργανισμών ή πληθυσμών χρησιμοποιώντας ως δεδομένα το γενετικό υλικό, ή μορφολικά/γλωσσικά δεδομένα.

20

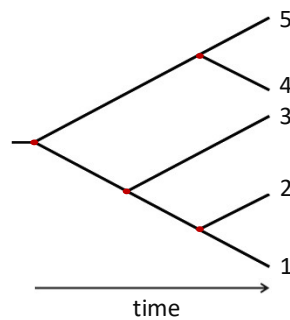
Φυλογένεια



21

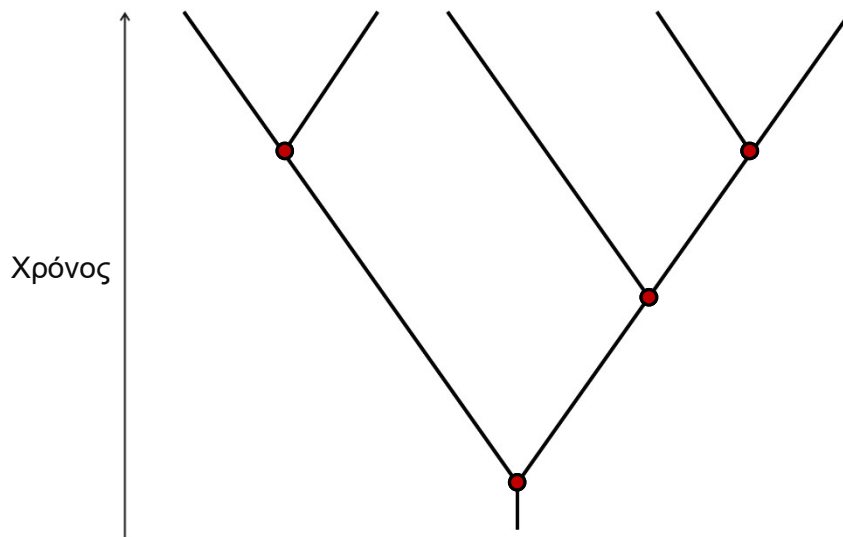
Εκτίμηση φυλογένειας (1)

		1	2	3	4	5
1	ACGAATGCTGCAGA	-	2	4	6	6
2	ACGAATGCTGCAGC		-	4	6	6
3	ACGAAGCGGCTGC			-	6	6
4	AGGTTTGCGCCAGC				-	2
5	ACATTGCGCCAGC					-



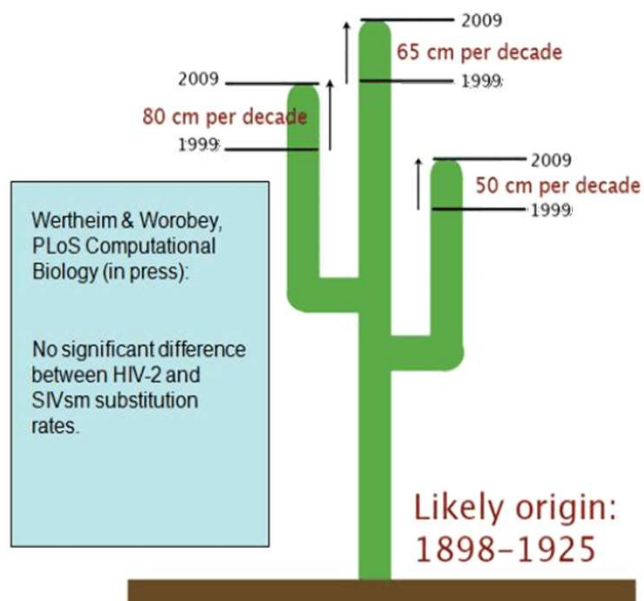
22

Εκτίμηση φυλογένειας (2)



23

Μοριακό ρολόι



Worobey CROI 2009

24

Διερεύνηση τρόπου διασποράς

25

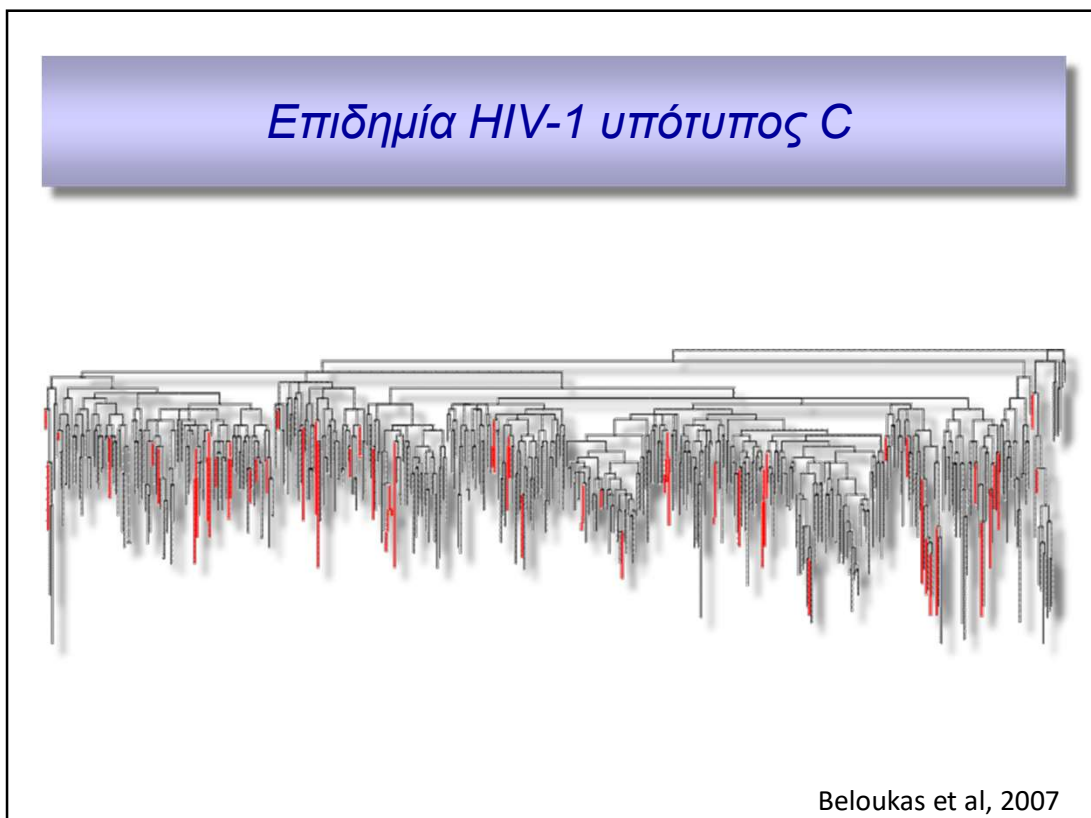
Διερεύνηση τρόπου διασποράς και γεωγραφικής προέλευσης μίας επιδημίας

- Ο τρόπος εισαγωγής μίας επιδημίας σε μια γεωγραφική περιοχή μπορεί να διερευνηθεί συγκρίνοντας το γενετικό υλικό του ιού που έχει απομονωθεί από άτομα στη συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή, με το αντίστοιχο από υποδόχα από διαφορετικές περιοχές.
- **Η επιδημία μπορεί να έχει προκληθεί από μια ή περισσότερες πηγές.**

26

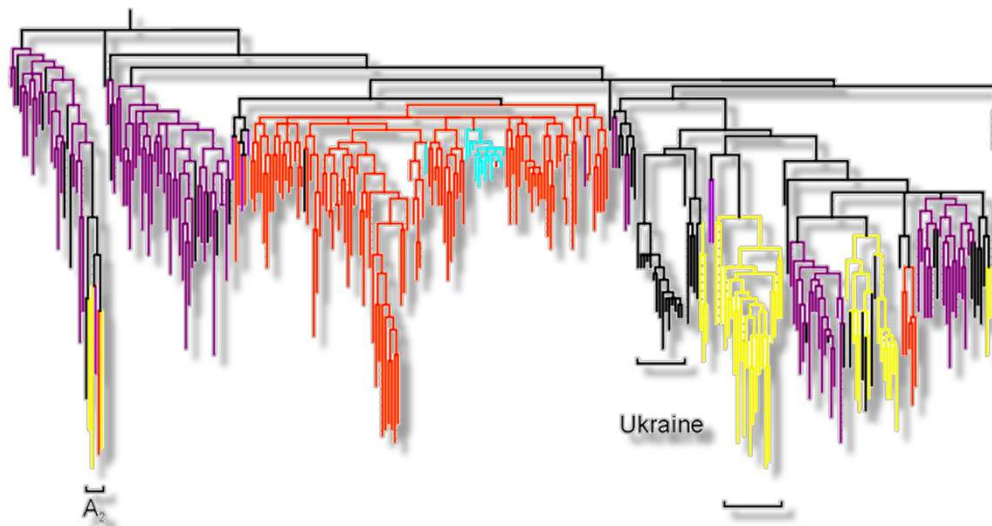


27



28

Μονοφυλετική επιδημία του HIV-1 υπότυπου A στην Ελλάδα



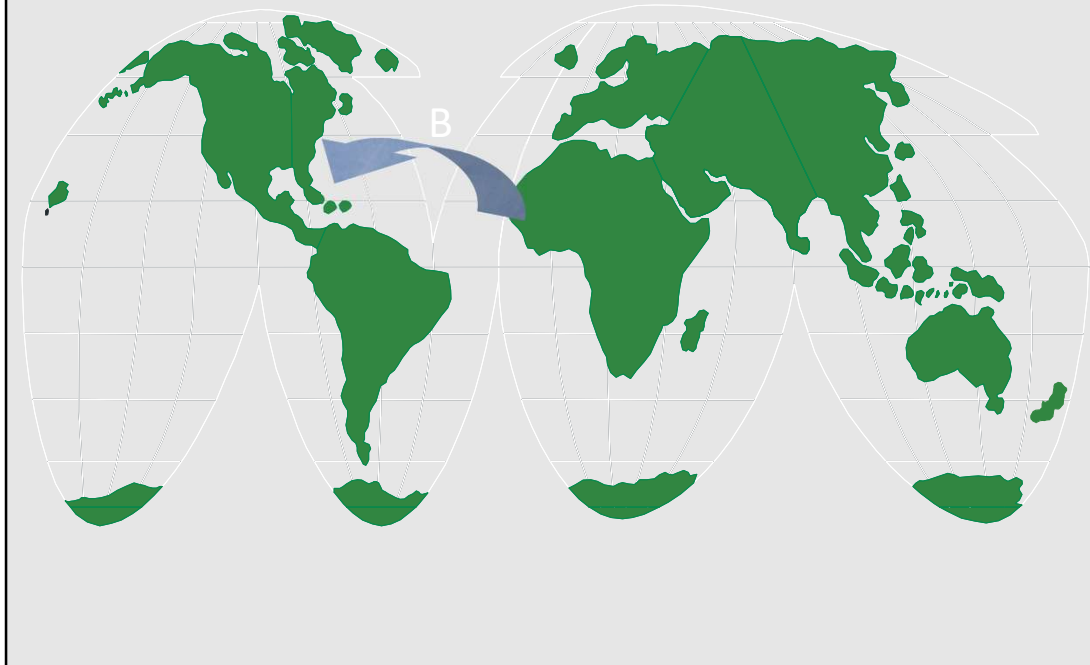
Paraskevis *et al*, 2007

29

Μελέτη της επιδημίας του HIV-1
στο Δυτικό κόσμο

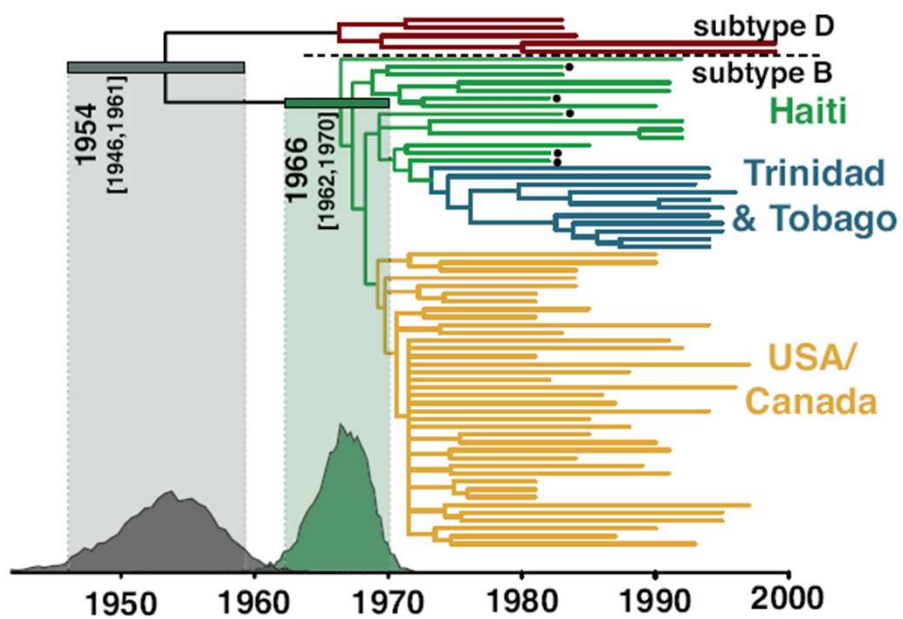
30

Εισαγωγή της επιδημίας στην Αμερική



31

Φυλογενετικό δένδρο HIV-1



Gilbert et al, 2007

32

Περιγραφή πληθυσμού μελέτης

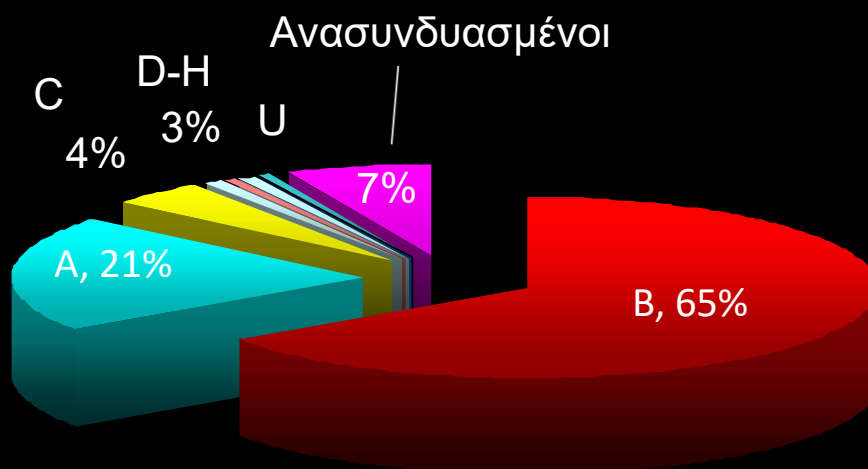
- Προκειμένου να μελετηθούν τα χαρακτηριστικά της επιδημίας στην Ελλάδα πραγματοποιήθηκε μελέτη μοριακής επιδημιολογίας σε **1.158 ασθενείς** με ημερομηνίες διάγνωσης το χρονικό διάστημα **1984-2005** στην Ελλάδα.
- Ο πληθυσμός που μελετήθηκε αντιστοιχεί σε ποσοστό μεγαλύτερο του **15% του συνόλου των PLHIV*** που είχαν ταυτοποιηθεί από την αρχή της επιδημίας μέχρι και το 2005 στην Ελλάδα.

**PLHIV, People Living with HIV*

33

Επιπολασμός HIV-1 υπότυπων

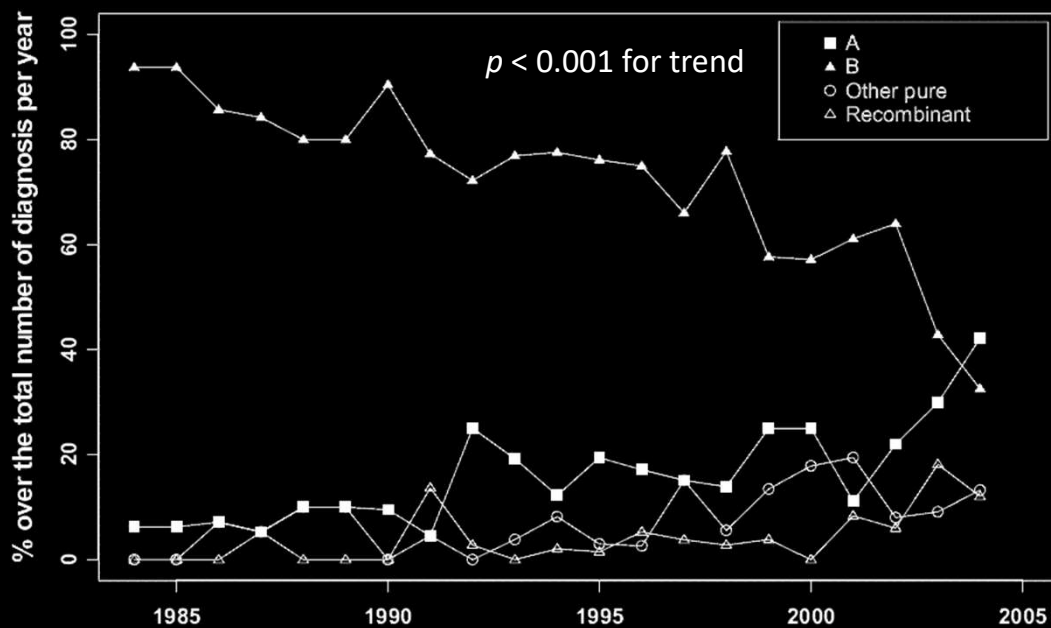
N=1.158



Paraskevis *et al*, 2007

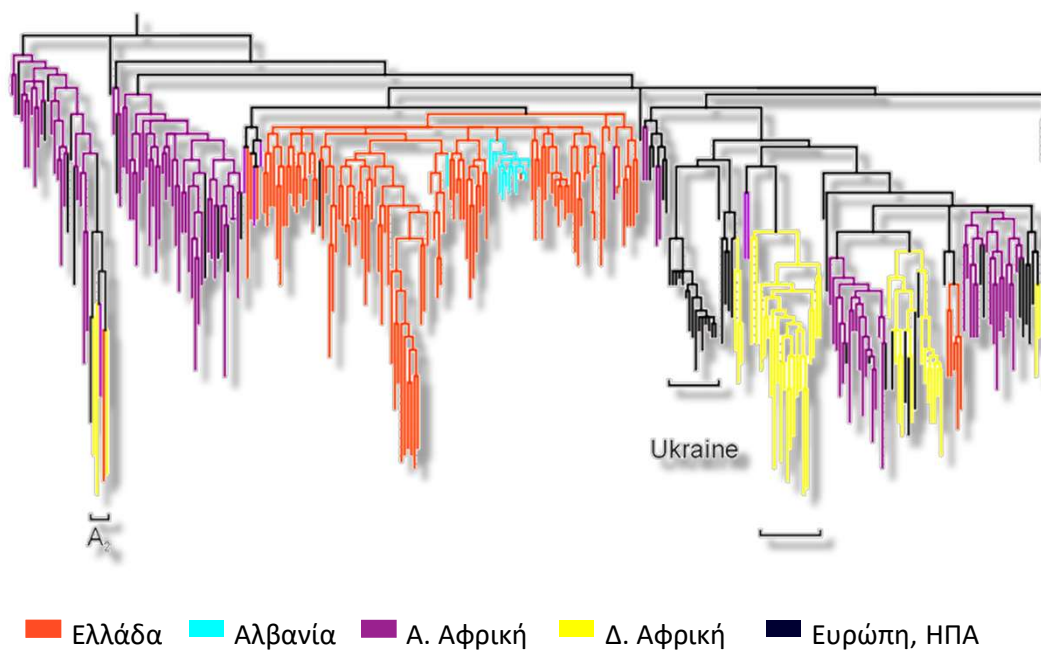
34

Διαχρονικός επιπολασμός HIV-1 υπότυπων



35

Φυλογενετικό δένδρο HIV-1 υπότυπου A



36

Συμπεράσματα

- ✓ Η μοριακή επιδημιολογία αποτελεί ένα **σύγχρονο κλάδο** της επιδημιολογίας.
- ✓ Η μοριακή επιδημιολογία βρίσκει εφαρμογές στη μελέτη **πολλών νοσημάτων**.
- ✓ Με μεθόδους μοριακής επιδημιολογίας μπορούν να ταξινομηθούν και να εκτιμηθούν **χαρακτηριστικά επιδημιών** που προκαλούνται από παθογόνα τα οποία **δεν μπορούν να εκτιμηθούν με άλλο τρόπο**.