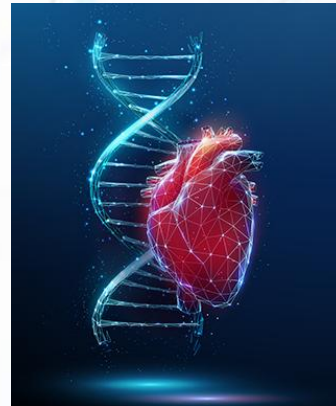




Εισαγωγή στη γενετική προσέγγιση (διάγνωση) των καρδιοπαθειών



Χρυσταλλένα Σοφοκλέους
Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής
Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής
Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΣΥΝΟΨΗ

- (Συγγενείς) Καρδιοπάθειες ως γενετικά νοσήματα
- Συστάσεις για γενετικό έλεγχο
- Βασικές έννοιες γενετικής
- Γενετικά τεστ – Τι μπορεί να αποκαλύψουν
- Πρότυπα κληρονομής.
- Παρεκκλίσεις από τους νόμους του Mendel. Ατελής διεισδυτικότητα, ποικίλη εκφραστικότητα, επιγενετικές τροποποιήσεις- μιτοχονδριακά νοσήματα, επίδραση περιβάλλοντος.
- Αλληλούχηση επόμενης γενιάς



Καρδιοπάθειες

- Δομικές

Αφορούν τη δομή της καρδιάς, κυρίως τις βαλβίδες και το μυοκάρδιο/ π.χ πρόπτωση μητροειδούς

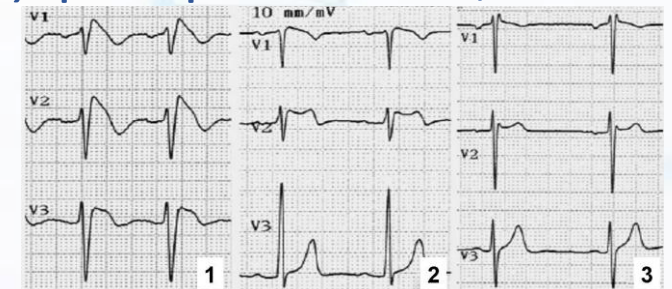
Δυνατό να ανιχνεύονται με απεικονιστικές μεθόδους



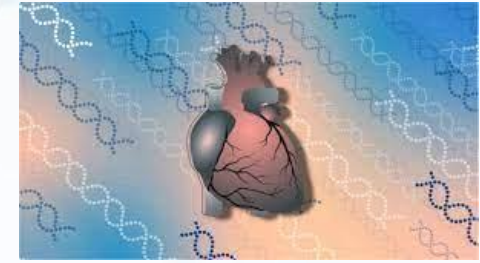
- Μη δομικές

Απουσία φυσιολογικού καρδιακού ρυθμού / π.χ πρωτοπαθείς ηλεκτρικοί νόσοι, διαυλοπάθειες .

Δυνατόν να ανιχνεύονται μετά από ηλεκτροκαρδιογράφημα



Καρδιοπάθειες παρατηρούνται



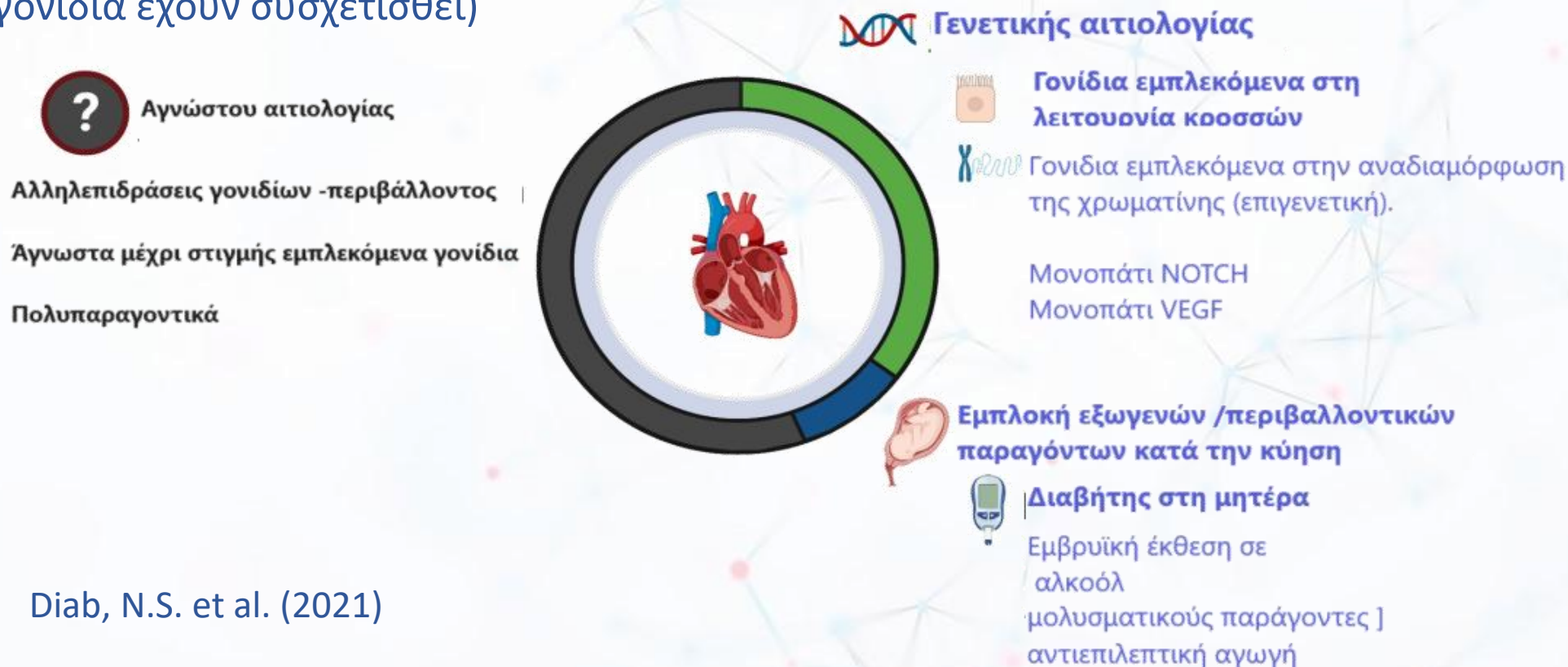
- Μεμονωμένες χωρίς εμπλοκή άλλων συστημάτων (πιθανώς γενετικής αιτιολογίας αλλά ακόμα παραμένουν αδιευκρίνιστες)
- Στο πλαίσιο συνδρόμου ή νόσου που απορρέει από χρωμοσωμική ανωμαλία ή μονογονιδική διαταραχή
- Μεμονωμένες παρουσία οικογενειακού ιστορικού (αυξάνεται η πιθανότητα αποκάλυψης γενετικής αιτιολογίας)
- Ως αποτέλεσμα έκθεσης σε εξωγενείς παράγοντες όπως οι τερατογόνες ουσίες
- Ως αποτέλεσμα του τρόπου ζωής (στρες, διατροφή, συνήθειες άσκησης κλπ) και σε συνδυασμό με ένα επιβαρυντικό γενετικό υπόβαθρο (Πολυπαραγοντικές)



Συγγενείς καρδιοπάθειες

- Πολυπαραγοντικής αιτιολογίας / Παρατηρούνται από την γέννηση.
- Γενετική βλάβη αποκαλύπτεται σε ~ 20–30% των περιπτώσεων.

(>400 γονίδια έχουν συσχετισθεί)



Diab, N.S. et al. (2021)

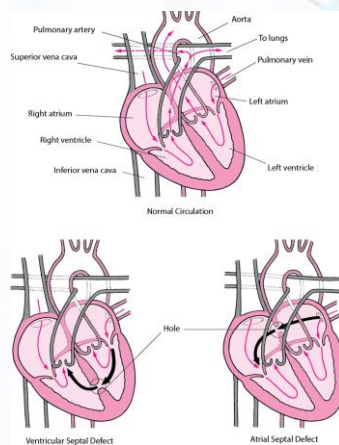




Συγγενείς καρδιοπάθειες

Παρόμοια συχνότητα σε άρρενα και θήλεα (στα άρρενα πιο συχνές οι σοβαρότερες βλάβες),

Έχουν καταγραφεί διαφορές στη συχνότητα συγκεκριμένων διαταραχών σε πληθυσμιακές ομάδες βάσει καταγωγής και έθνους (VSDs συχνότερες σε ευρωπαίους, ASDs συχνότερες στους Ισπανόφωνους-Λατίνους).



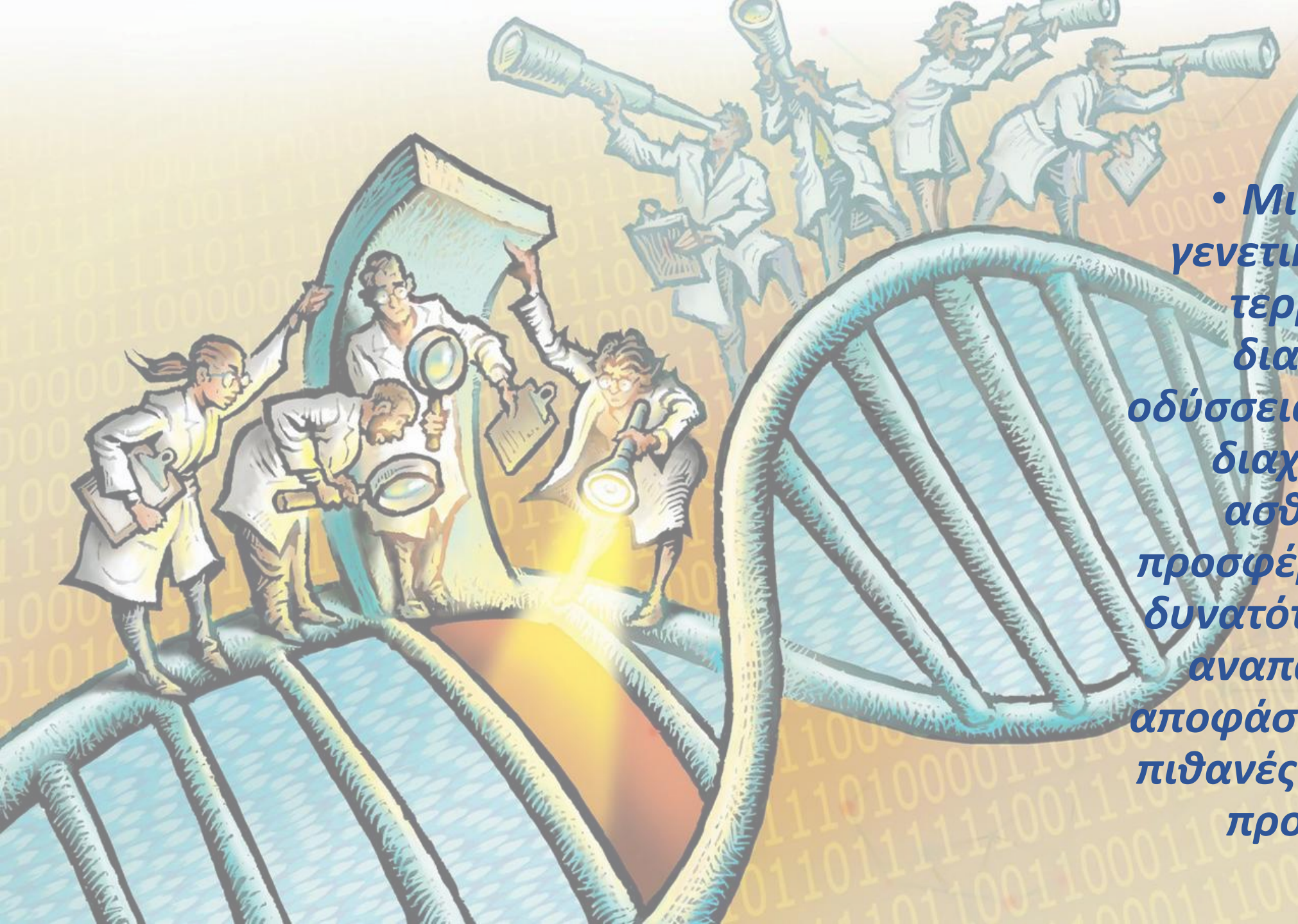
Υποδεικνύεται ο πιθανός ρόλος της γενετικής στην ανάπτυξη καρδιοπαθειών



Οι (συγγενείς) καρδιοπάθειες ως σπάνια γενετικά νοσήματα

- Τα σπάνια γενετικά νοσήματα στο σύνολο τους επηρεάζουν περίπου το 6-8% του γενικού πληθυσμού
- Υπάρχουν περίπου 7300 σπάνια νοσήματα και ~4500 σχετιζόμενα γονίδια (OMIM stats, Jan 2023)
- Η διαγνωστική 'οδύσσεια' μπορεί να διαρκέσει 5-10 έτη και αποτελεί επίπονη, υψηλού κόστους και ψυχοφθόρα διαδικασία
- Διάγνωση επιτυγχάνεται σε λιγότερο από το 50% των ασθενών ενώ 20% των ασθενών πιθανώς λαμβάνει λάθος διάγνωση





- Μια οριστική γενετική διάγνωση τερματίζει τη διαγνωστική οδύσσεια, βελτιώνει τη διαχείριση του ασθενούς και προσφέρει αξιόπιστες δυνατότητες τόσο για αναπαραγωγικές αποφάσεις όσο και για πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις



Γενετικές εξετάσεις για καρδιοπάθειες

Καθοριστικό ρόλο στη διαχείριση

- ασθενών που έχουν ήδη διαγνωστεί, και
- συγγενών με αυξημένο κίνδυνο.

Συστήνονται όταν ο καρδιολογικός φαινότυπος υποδηλώνει **γενετικό υπόβαθρο**

Όταν η γενετική εξέταση είναι θετική, τότε:

- γενετικός έλεγχος και στους συγγενείς με αυξημένο κίνδυνο,
- αναγνώριση όσων χρήζουν καρδιολογικής παρακολούθησης.



Συστάσεις

Σε άτομα με αρρυθμίες η κλινική διάγνωση ή ισχυρή υποψία περιλαμβάνει σύνδρομο μακρού QT (LQTS), κατεχολαμινεργική πολυμορφική κοιλιακή ταχυκαρδία (CPVT), σύνδρομο Brugada (BrS),

Σε γενετικές μυοκαρδιοπάθειες, όπως: διατατική μυοκαρδιοπάθεια (DCM), υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια (HCM), αρρυθμογόνος (δεξιά) κοιλιακή μυοκαρδιοπάθεια (ARVC), περιοριστική μυοκαρδιοπάθεια (RCM).

Για έλεγχο οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας (FH) όταν οι βασικές τιμές-όρια της LDL χοληστερόλης (LDLc) είναι ενδεικτικές (λιπιδαιμικός έλεγχος)

Σε άτομα που εμφανίζουν συμπτώματα πριν από την ηλικία των 60 ετών, ή έχουν οικογενειακό ιστορικό ανευρύσματος και διαχωρισμού της θωρακικής αορτής (TAAD), αιφνίδιου καρδιακού θανάτου



Κατευθυντήριες Οδηγίες

Northwestern Medicine
Feinberg School of Medicine

Northwestern Medicine | Northwestern University
NEWS CENTER | FACULTY PROFILES

Center for Genetic Medicine

Search web or people

About Us

Education

Cores and Genomic Services

Research

Patient Care

Members

[Feinberg Home](#) > [Home](#) > [Education](#) > [Cardiovascular Genetic Provider Resources \(CME/CNE\)](#) > [Cardiogenomic Guidelines Database](#)

Education

Education Overview

Graduate Program in Genetic
Counseling

Scott Lecture Series

Silverstein Lecture Series

Cardiovascular Genetic Provider
Resources (CME/CNE)

Cardiovascular Genetic Provider
Resources (CME/CNE)

Cardiovascular Genetic Provider
Resources (CME/CNE)

Cardiogenomic Guidelines Database

This comprehensive, searchable database includes published cardiology guidelines as well as recommendations pertaining to genetic testing and cardiovascular management, created with a rigorous literature search. The Cardiogenomic Guidelines Database is a tool for providers to easily find relevant information on heritable cardiac conditions.

The table can be sorted by multiple categories for easy information access.

The database is updated periodically and was last updated on April 6, 2023.

This webpage is best viewed on a desktop.

Our team welcomes constructive feedback on how this database can be improved.



[About](#) [CardioGenomic Testing](#) [Resources](#) [News](#) [Membership](#) [Contact](#)

Committed to raising awareness and
utilization of genomic testing in cardiology.

LEARN MORE

Mission

The CardioGenomic Testing Alliance (CGTA) is

CardioGenomic Testing

Genomic testing in cardiology allows patients

Inquire about Membership

A genomics company, laboratory or digital



Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών
Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής

Σύσταση για γενετικό έλεγχο ανά κατηγορία- ενσωμάτωση στην κλινική πράξη

Μυοκαρδιοπάθειες

DCM

Όταν επίκτητες βλάβες έχουν αποκλεισθεί (HIV, νόσος Chagas, Υποθυρεοειδισμός, Φαιοχρωμοκύτομα, Διατροφικές διαταραχές , υπέρταση , BMI.35, σαρκοείδωση , αμυλοείδωση).

HCM

Όταν επίκτητες βλάβες έχουν αποκλεισθεί (υπέρταση, αλλαγή αθλητικού προφίλ , στένωση αορτής , διαβήτης κύησης κατά την εμβρυική ηλικία).

ACM/ARVC

Όταν υπάρχει συγγενής 1^{ου} βαθμού με παρόμοια συμπτώματα

RCM

Όταν δεν έχει εμφανισθεί αμυλοείδωση , αιμοχρωμάτωση ή άλλη δευτερογενής αιτία

LVNC

Όταν παρατηρείται πρόβλημα αγωγιμότητα, συγγενής καρδιακή βλάβη, χαμηλό EF



Σύσταση για γενετικό έλεγχο ανά κατηγορία

Αρρυθμίες

LQTS

Όταν παρατηρούνται συγκοπές, σπασμοί, απώλεια ακοής ή και συνδρομικά στίγματα και δεν καταγράφονται επίκτητες αιτίες όπως καταστροφή μυοκαρδίου, διαταραχές ηλεκτρολυτών.

CPVT

Όταν υπάρχουν ευρήματα σε τεστ κοπώσεως ή τεστ πρόκλησης επινεφρίνης

BrS

Όταν καταγράφονται επαναλαμβανόμενα επεισόδια συγκοπών, αυτόματα ελεγχόμενη πολυμορφική ταχυκαρδία , οικογενειακό ιστορικό.

Υπερλιπιδαιμία

Όταν καταγραφονται καρδιακές προσβολές , εγκεφαλικά, αυξημένη LDL, ξανθωματα και ξανθελάσματα.

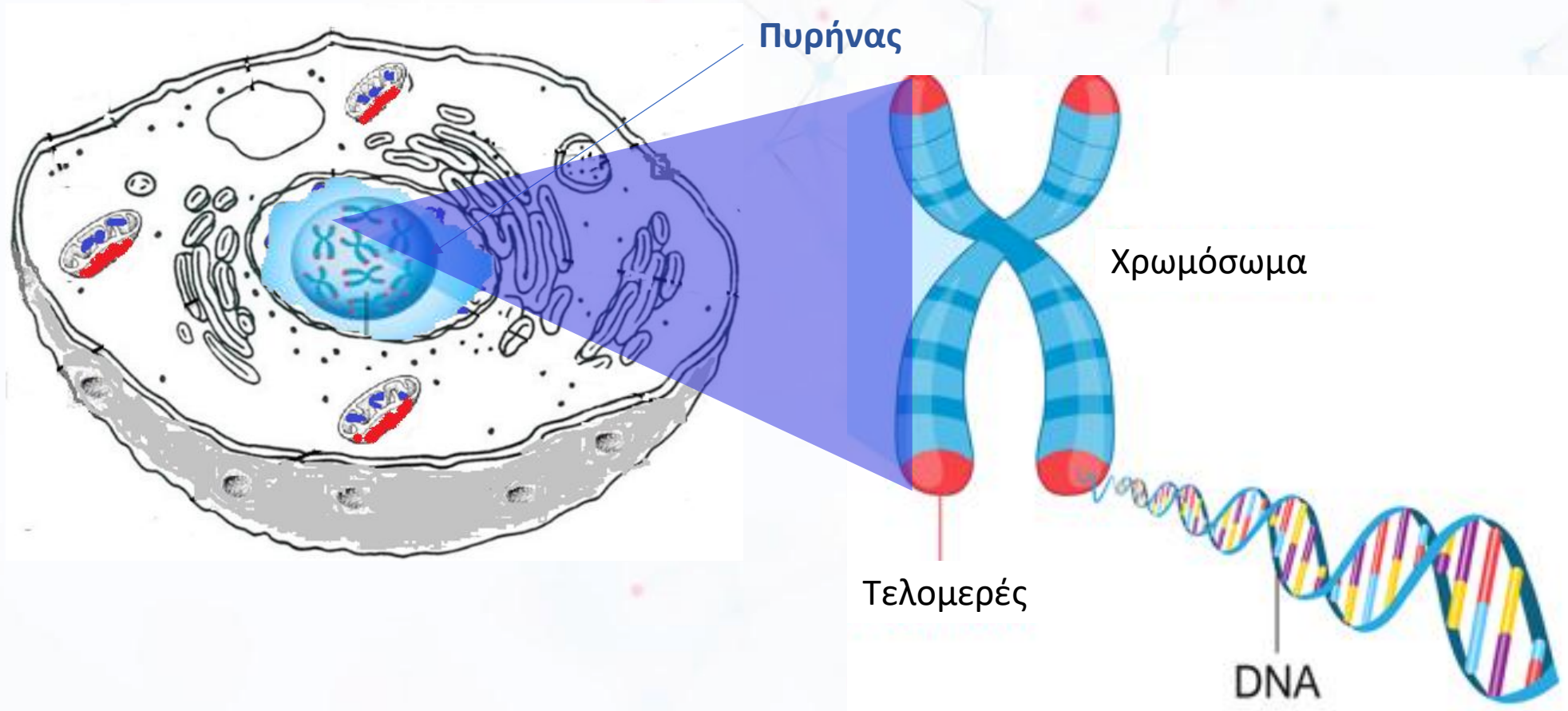
Αορτοπάθειες



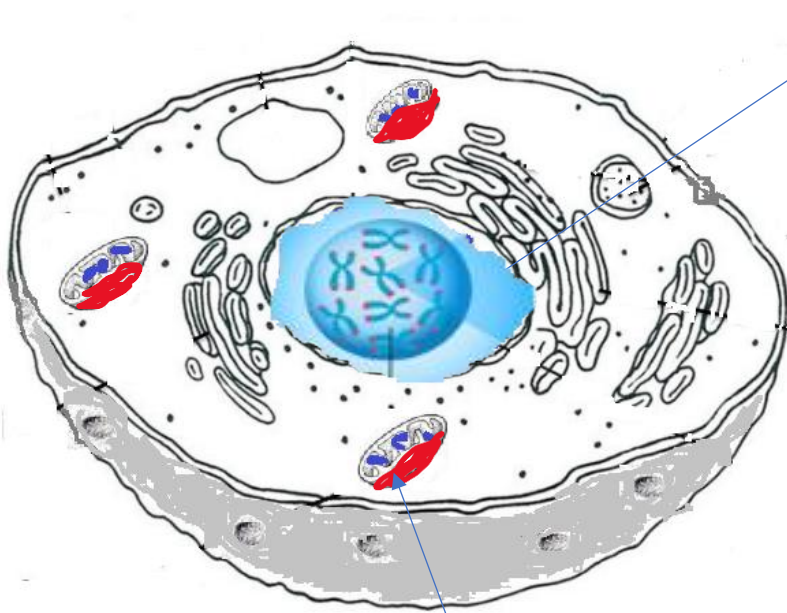
Γενετική διερεύνηση –

Τι μπορεί να αποκαλύψει η μελέτη του γενετικού υλικού;

Το γενετικό υλικό συσσωρεύεται κυρίως τον πυρήνα



Τι περιλαμβάνει το γενετικό υλικό;



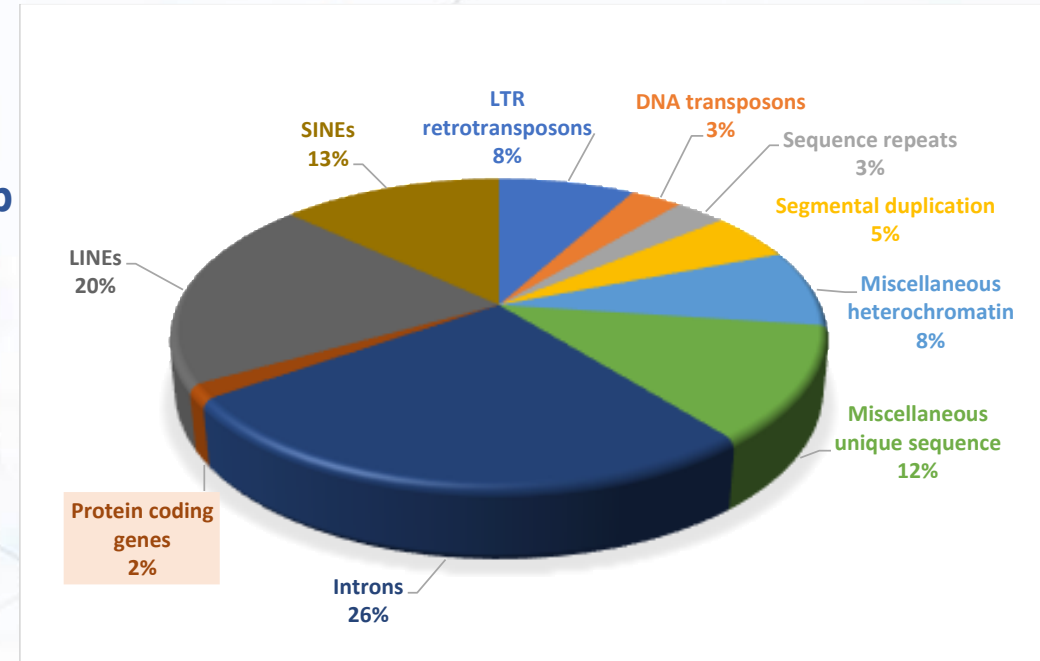
Πυρήνας :
πυρηνικό DNA 3×10^9 bp

~2% μεταφράζεται σε πρωτεΐνες.

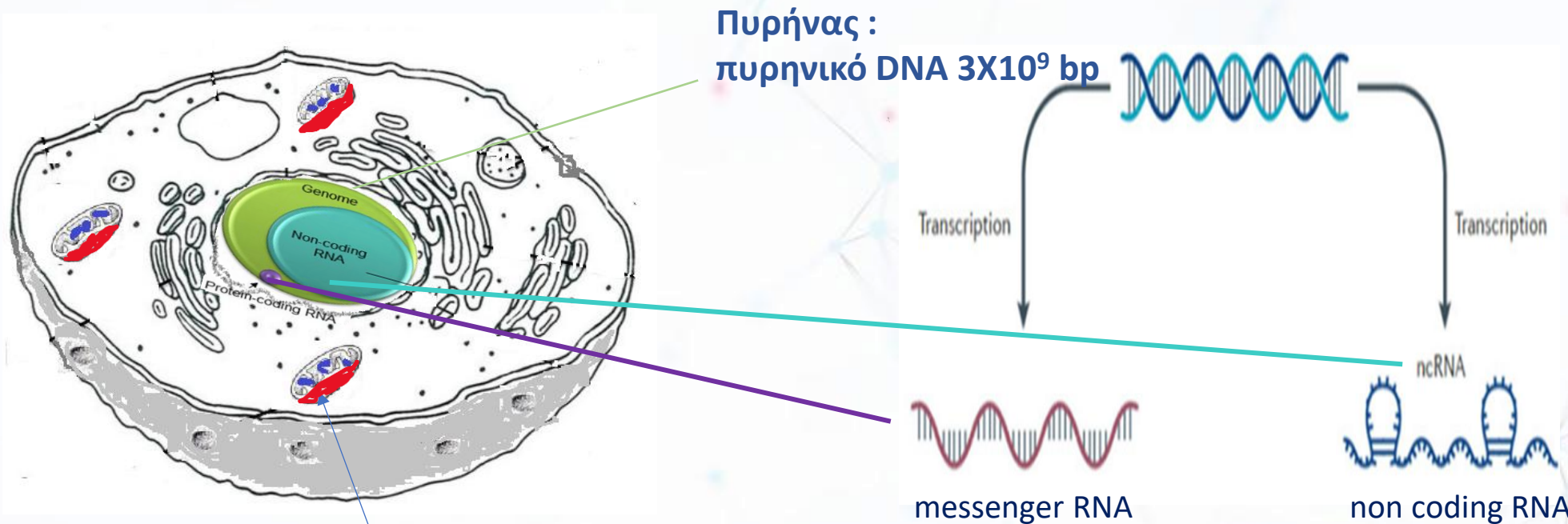
μιτοχόνδριο
16,5 kb



Μιτοχονδριακό DNA (mtDNA):
Πολλά αντίγραφα με ανεξάρτητη αντιγραφή από το πυρηνικό DNA.
Κυρίως μητρικής προέλευσης (ωάριο).



Τι περιλαμβάνει το γενετικό υλικό;



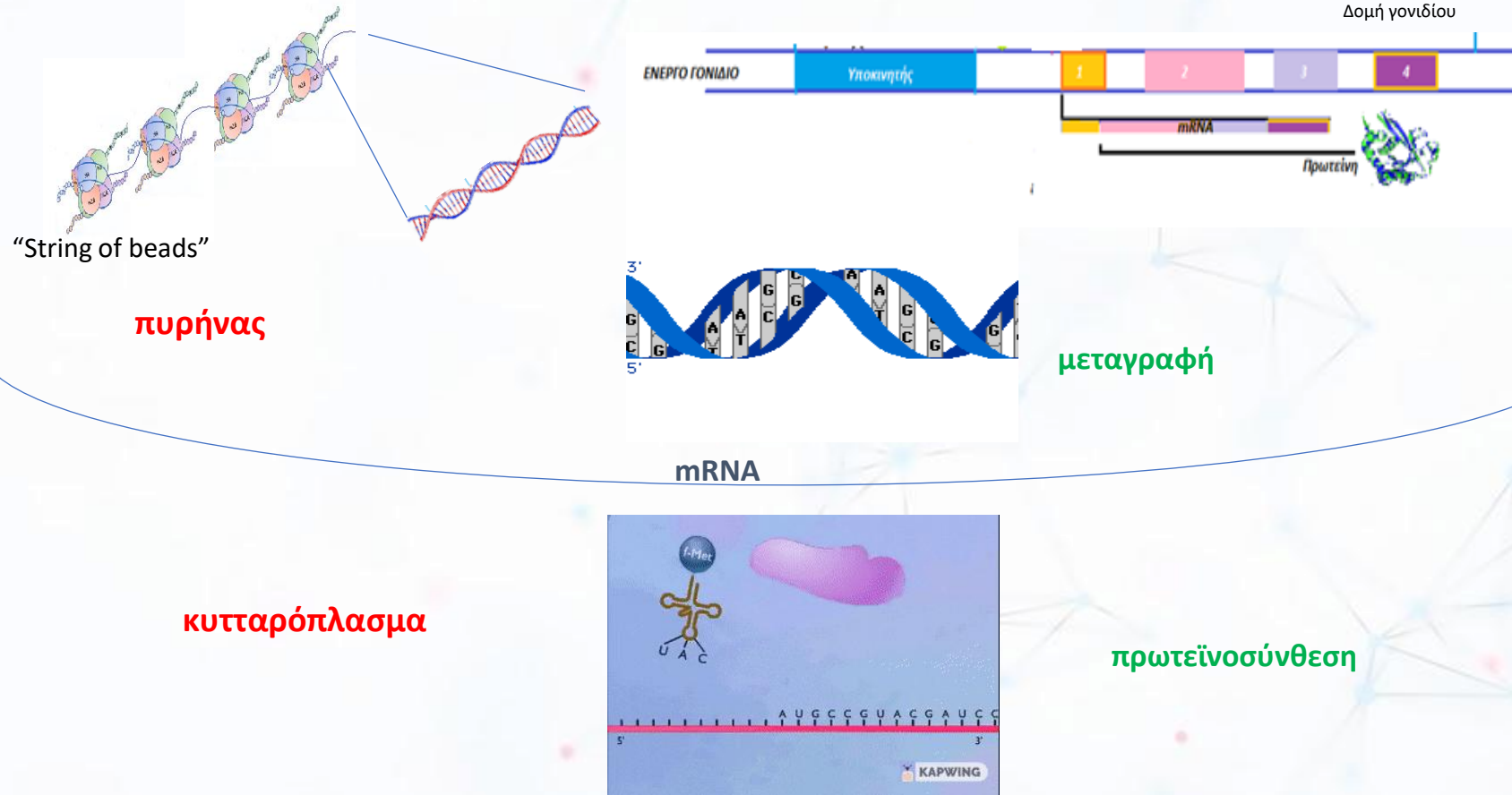
μιτοχόνδριο
16,5 kb



Μιτοχονδριακό DNA (mtDNA):
Πολλά αντίγραφα με ανεξάρτητη αντιγραφή από το πυρηνικό DNA.
Κυρίως μητρικής προέλευσης (ωάριο).



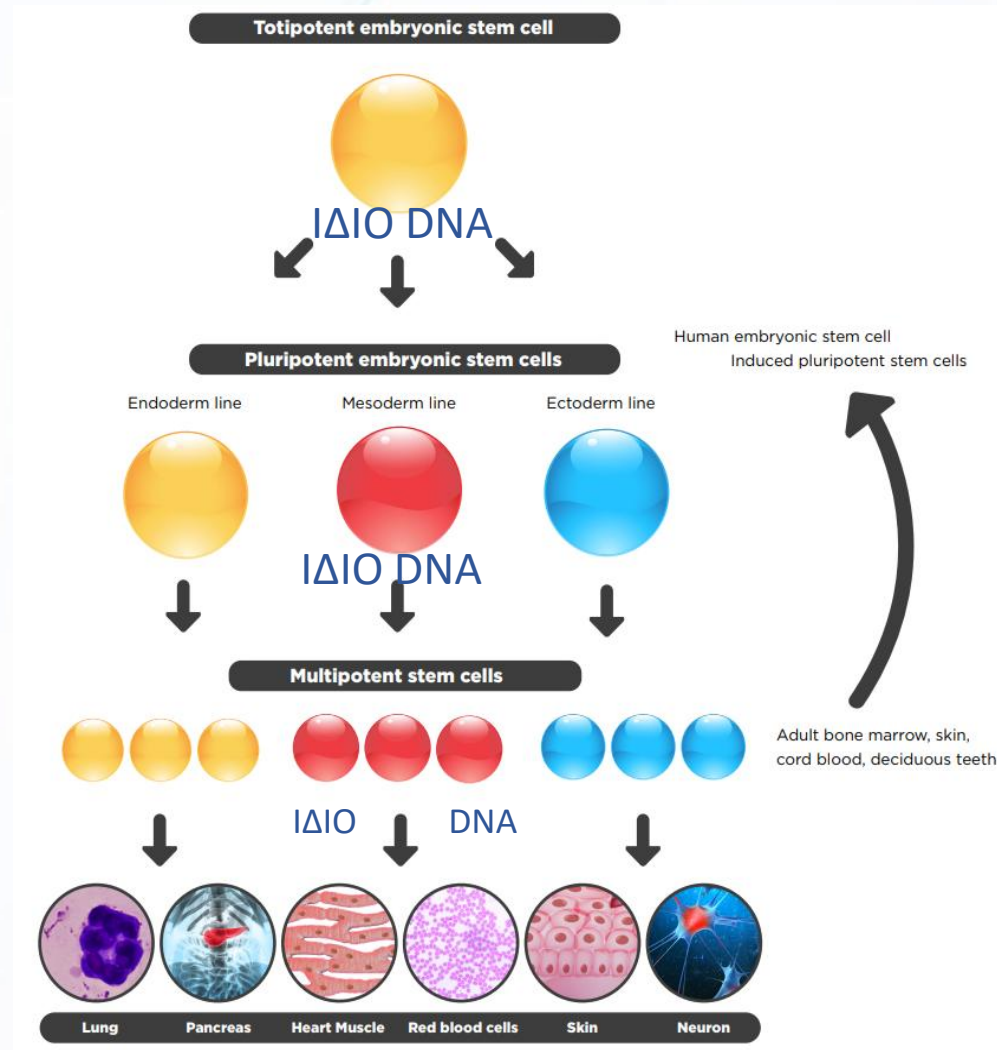
Κεντρικό δόγμα βιολογίας



Αν παρομοιάσουμε το DNA με ένα βιβλίο-εγχειρίδιο οδηγιών τότε...



πώς ενώ όλα τα κύτταρα περιέχουν το ίδιο DNA καταλήγουν να είναι τόσο διαφορετικά?



Κυτταρική διαφοροποίηση



Κυτταρική διαφοροποίηση-Επιγενετική διαδικασία

Επιτρέπει την ιστοειδική διαφοροποίηση κυττάρων
(π.χ ένα ηπατικό κύτταρο θα συνεχίσει να δίνει ηπατικά κύτταρα με τη διαίρεση του)

The Epigenetic Landscape

*Είναι καθορισμένη η διαδρομή του κάθε διαφοροποιημένου κυττάρου;
Ή μήπως διαμορφώνεται στην πορεία με εμπλοκή σηματοδοτικών
μονοπατιών όπως το Notch- Wnt;*

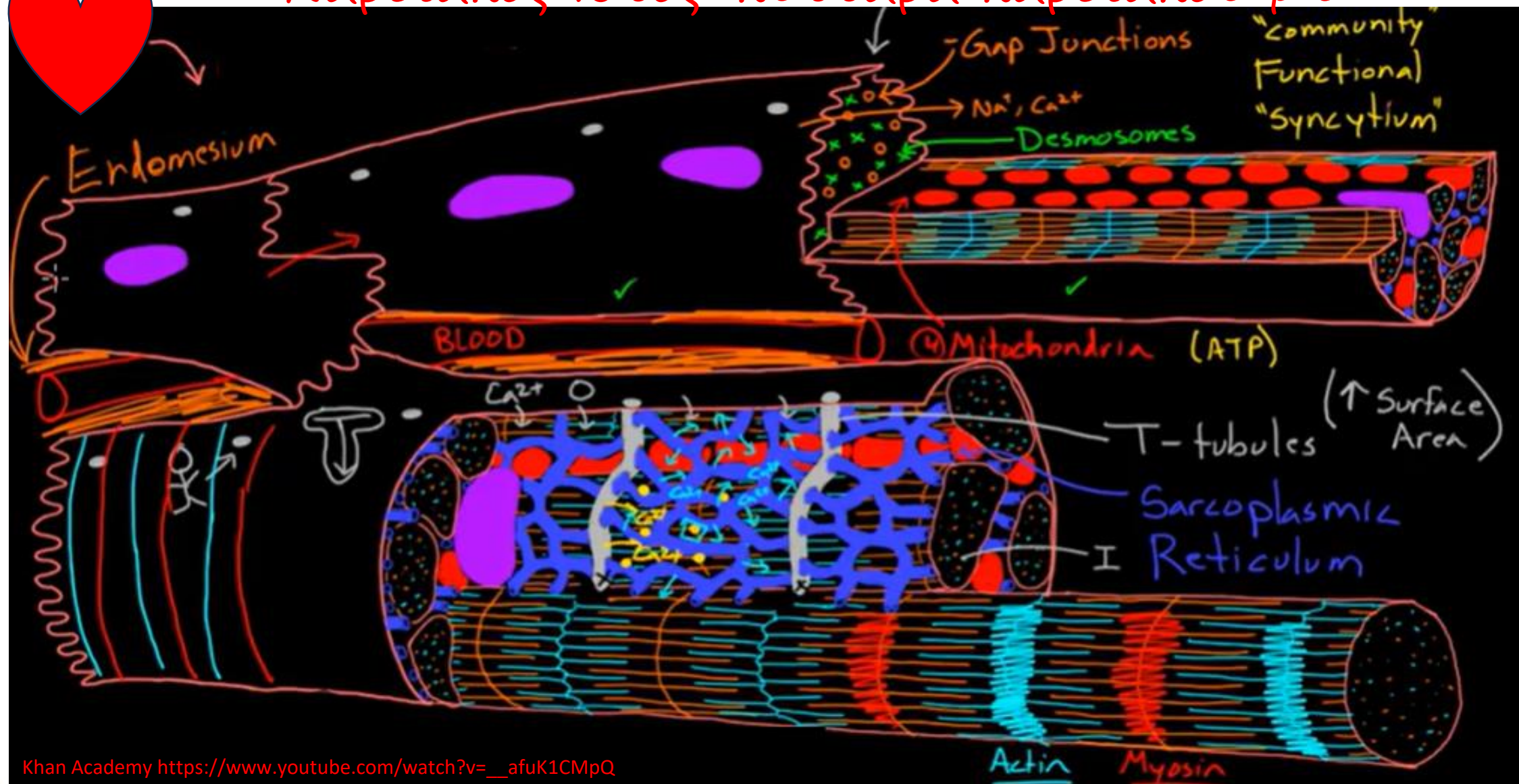


imgflip.com

Waddington | Amalabgenetics - YouTube



Καρδιακός Ιστός-κύτταρα καρδιακού μυ



Khan Academy https://www.youtube.com/watch?v=__afuK1CMpQ

Ιδιαιτερότητες: υψηλής πολυπλοκότητας, με έναν ή περισσότερους πυρήνες (πολυπλοειδικά), πλούσια σε μιτοχόνδρια (αυξημένες ανάγκες ενέργειας) και διαύλους

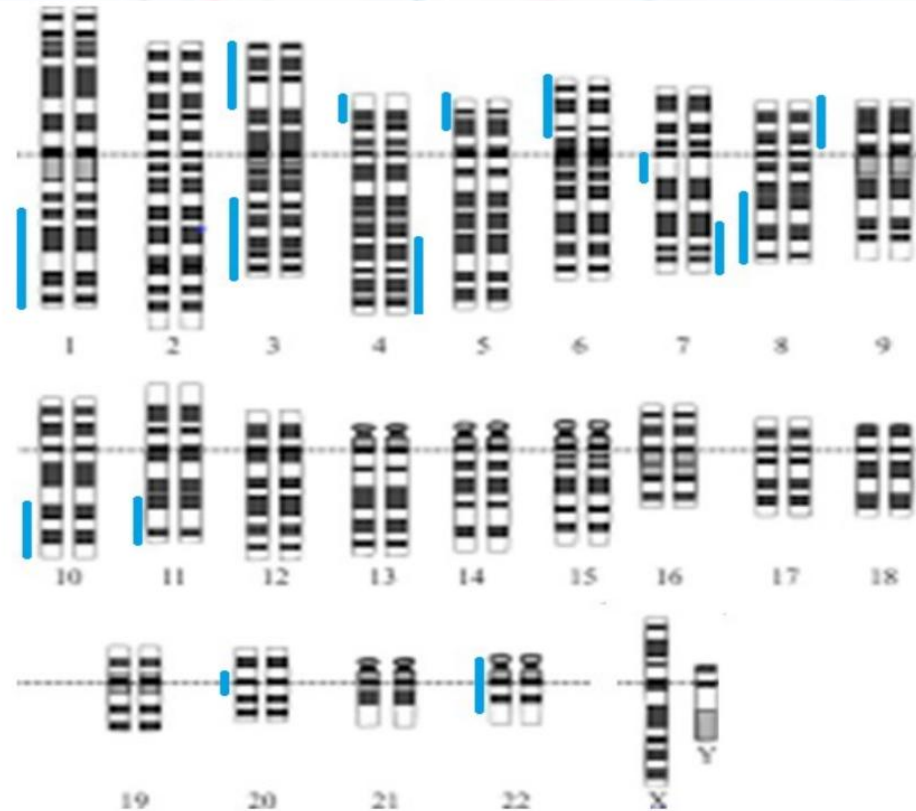
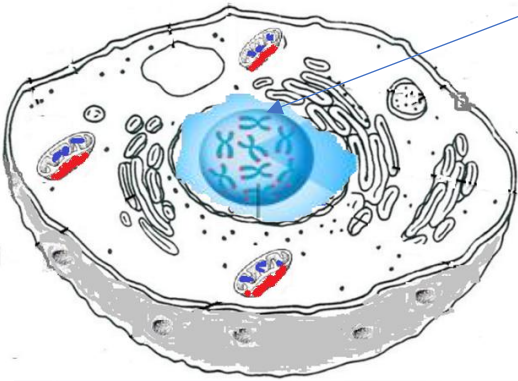


Γενετική διερεύνηση –

Τι μπορεί να αποκαλύψει η μελέτη του γενετικού υλικού;

Τι ανιχνεύεται με χρωμοσωμική ανάλυση –συμβατικό καρυότυπο.

Χρωμοσωμικές Ανωμαλίες (αφορούν τμήματα χρωμοσωμάτων)



23 ζεύγη χρωμοσωμάτων
(ένα χρωμόσωμα από κάθε
γονέα / ιδιαίτερης σημασίας
αν υπάρχουν γονίδια που
υπόκεινται σε γονιδιακή
αποτύπωση)

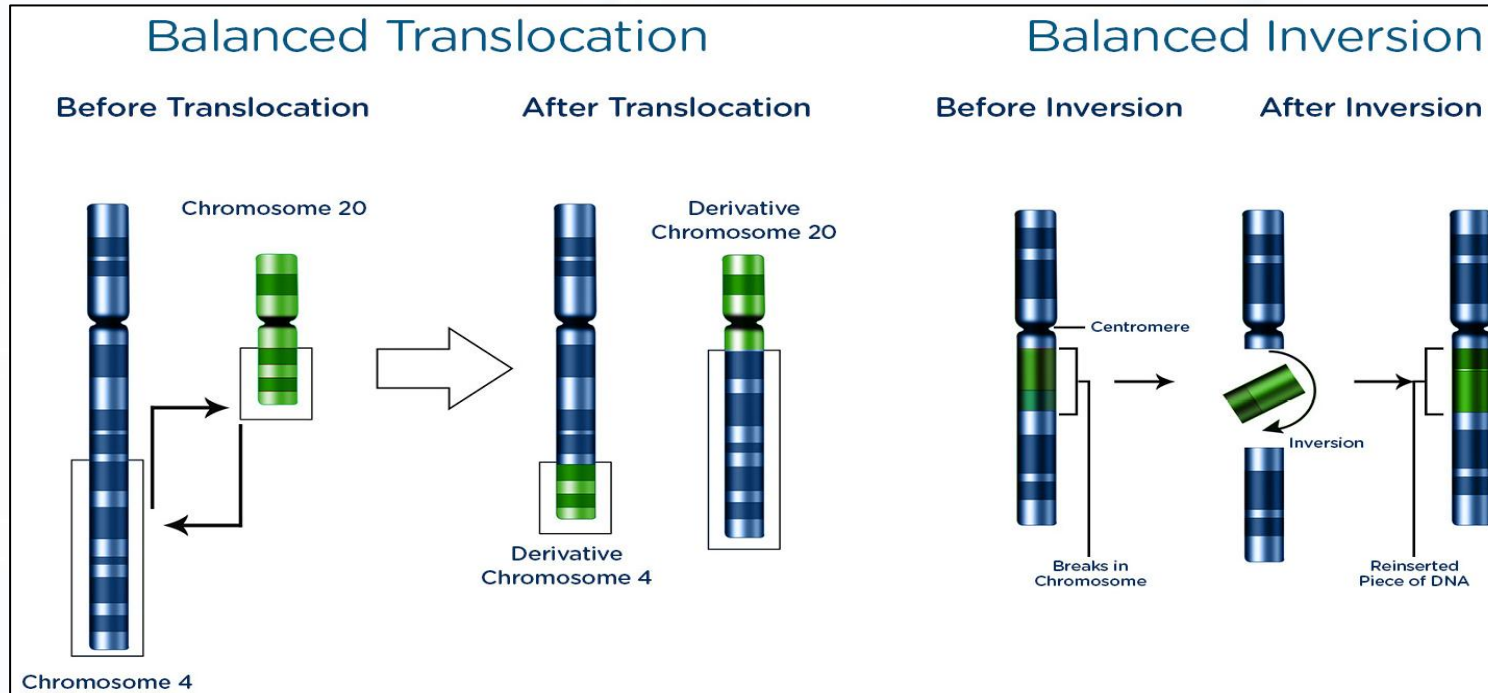
22 αυτοσωμικά

1 φυλετικό (XX ή XY)

Στο 16-45% των εμβρύων με υπερηχογραφικά ευρήματα συγγενούς καρδιοπάθειας αποκαλύπτονται χρωμοσωμικές ανωμαλίες



Περιλαμβάνουν δομικές χρωσωμικές ανωμαλίες, μεταθέσεις/αναστροφές

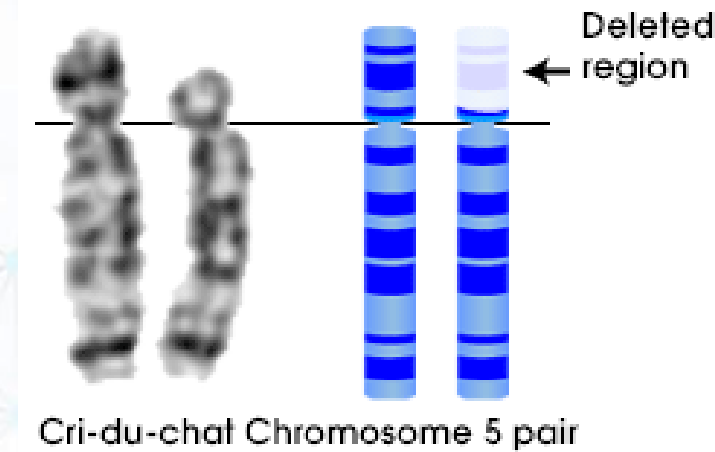
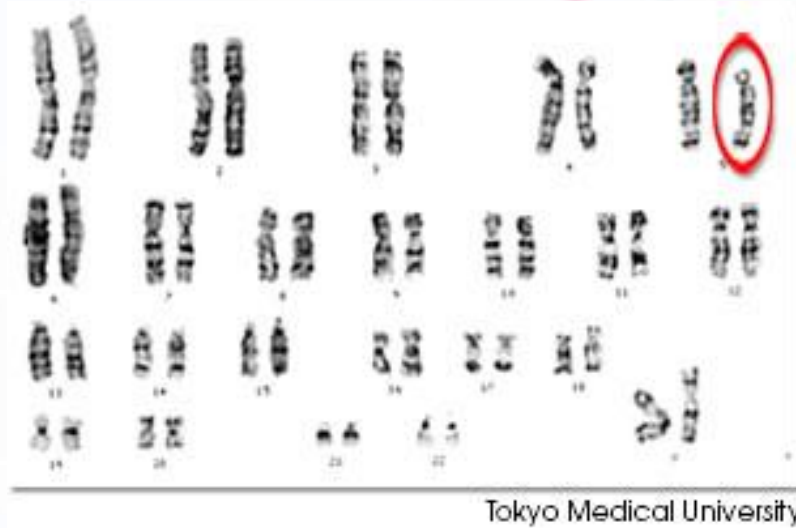


Ανιχνεύονται με χρωσωμική ανάλυση –συμβατικό καρυότυπο



Ελλείμματα ή διπλασιασμούς

Σύνδρομο κλάματος γαλής (Έλλειμμα περιοχής 5p, 5p-) (1/ 50.000 γεννήσεις)

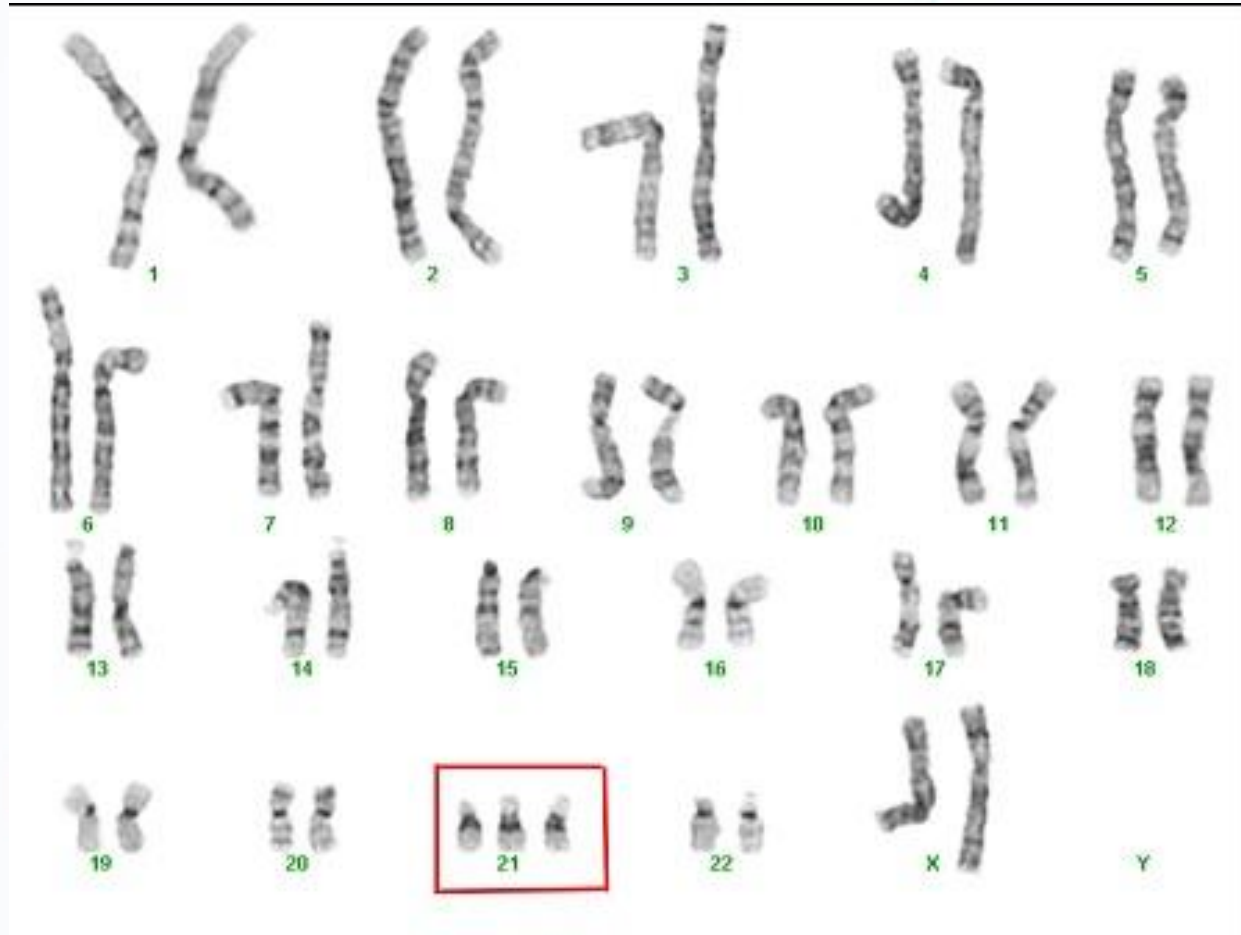


Συγγενής καρδιοπάθεια
Μεσοκοιλιακή επικοινωνία
Μεσοκολπική επικοινωνία
Ανοικτός αρτηριακός πόρος



Ή ολόκληρα χρωμοσώματα.

Τρισωμία 21/Σύνδρομο Down



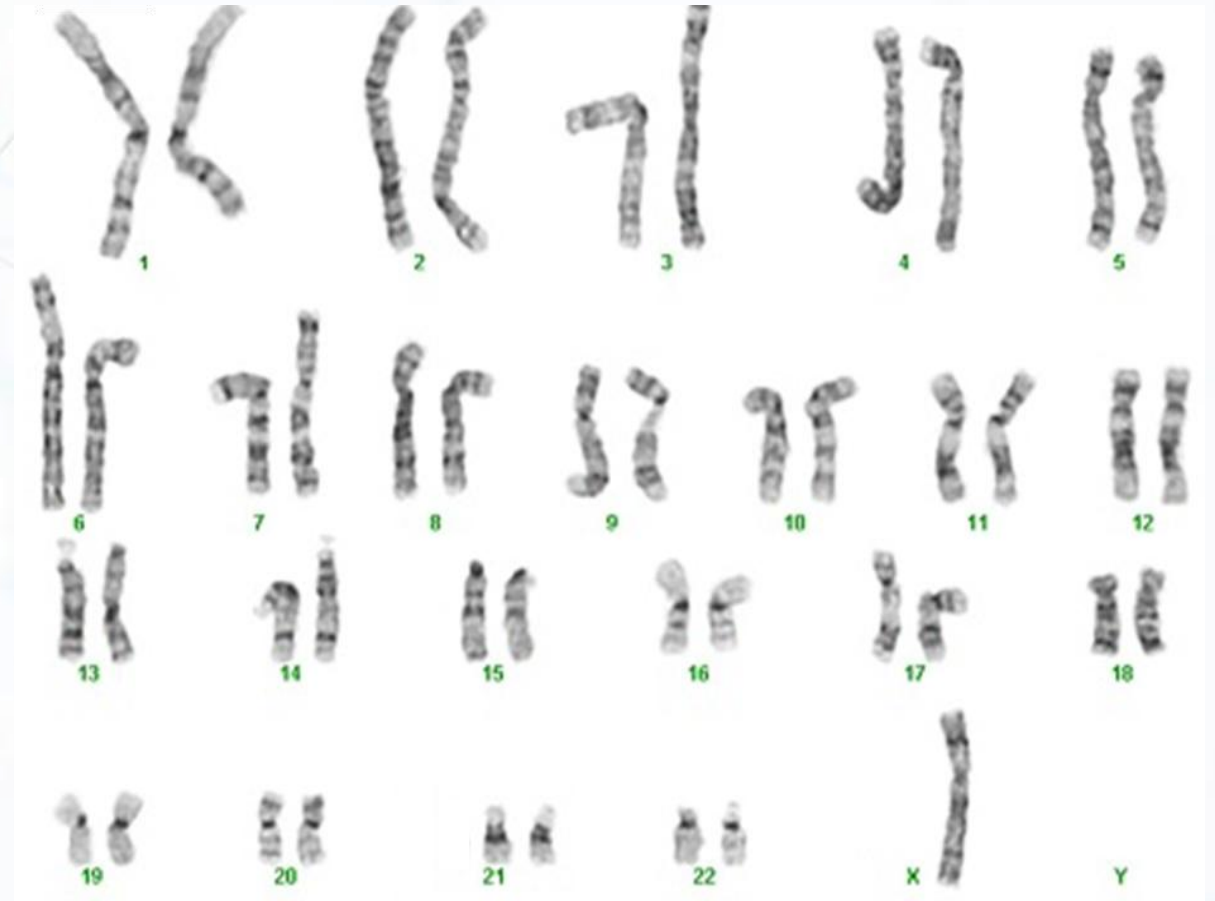
Συγγενείς καρδιακές βλάβες
Κολποκοιλιακή επικοινωνία (60%)
Έλλειμμα ενδοκαρδιακού
προσκεφαλαίου
Ανοικτός αρτηριακός πόρος
Μεσοκοιλιακή επικοινωνία



Ή ολόκληρα χρωμοσώματα. Μονοσωμία Χ/Σύνδρομο Turner

Καρδιαγγειακές ανωμαλίες
(αφορούν ~99% των εμβρύων με σ. Turner)

- στένωση του ισθμού της αορτής (17-45%)
- διαταραχές της αορτικής βαλβίδας (19%)
- Υπέρταση, διαχωριστικό ανεύρυσμα (30-35%)



Γενετική διερεύνηση –

Τι μπορεί να αποκαλύψει η μελέτη του γενετικού υλικού;

Τι ανιχνεύεται με μοριακή ανάλυση;

Αλλαγές στον αριθμό αντιγράφων αλληλουχιών
(Copy Number Variants-CNVs)

Αλληλουχία αναφοράς



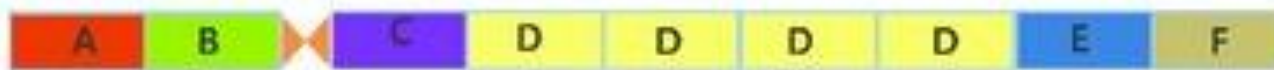
Έλλειμμα



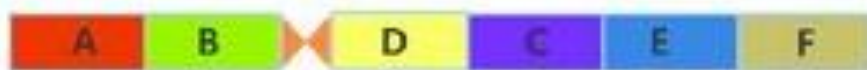
Διπλασιασμός



Πολλαπλασιασμός



Αναστροφή



Γενετική διερεύνηση –

Τι μπορεί να αποκαλύψει η μελέτη του γενετικού υλικού;

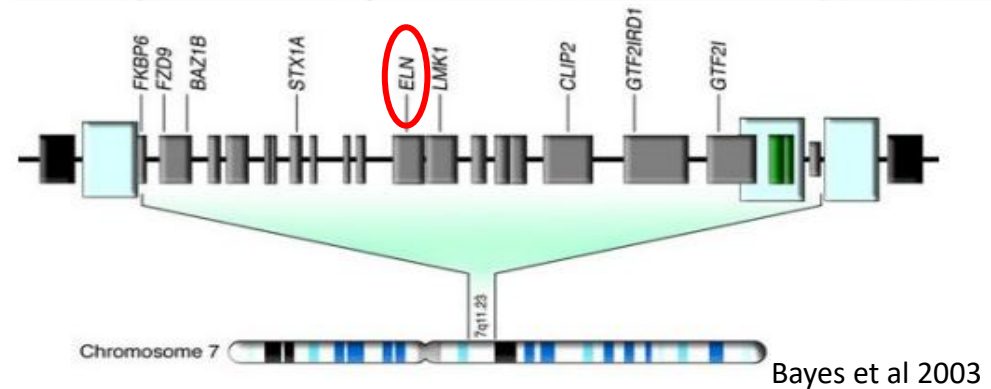
Αλλαγές στον αριθμό αντιγράφων αλληλουχιών
(Copy Number Variants-CNVs)

Σύνδρομο Williams

Έλλειμμα μεγέθους 1.55Mb (~ 26 γονίδια)

Η απώλεια ενός αντιγράφου του γονιδίου της ελαστίνης οδηγεί σε καρδιοπάθεια και ανωμαλίες που περιλαμβάνουν:

- Στένωση νεφρικής αρτηρίας
- Στένωση περιφερικών αγγείων
- Μεσοκοιλιακή επικοινωνία
- Υπερβαλβιδική στένωση πνευμονικής
- Περιφερική στένωση πνευμονικής
- Υπερβαλβιδική στένωση αορτής



Γενετική διερεύνηση –

Τι μπορεί να αποκαλύψει η μελέτη του γενετικού υλικού;

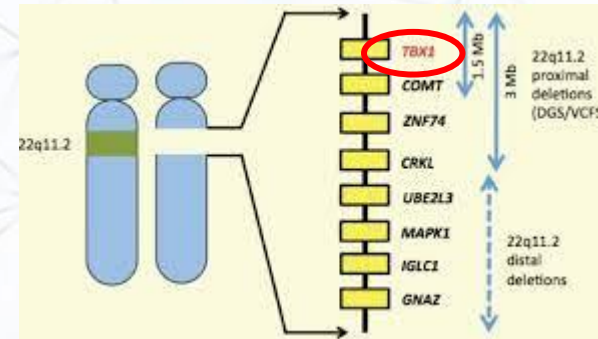
Αλλαγές στον αριθμό αντιγράφων αλληλουχιών
(Copy Number Variants-CNVs)

Σύνδρομο Di George

Έλλειμμα μεγέθους 1.5-3.0 Mb (22q11.2)

Η απώλεια ενός αντιγράφου του γονιδίου *TBX1*
οδηγεί σε καρδιοπάθεια (cardio pharyngeal phenotype)

Γενικά παρατηρούνται συγγενείς καρδιοπάθειες



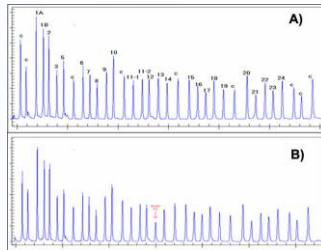
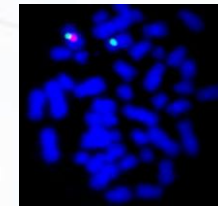
Γενετική διερεύνηση –

Τι μπορεί να αποκαλύψει η μελέτη του γενετικού υλικού;

Αλλαγές στον αριθμό αντιγράφων αλληλουχιών
(Copy Number Variants-CNVs)

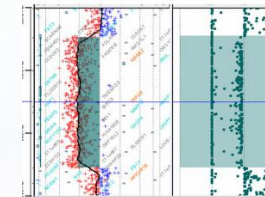
Ανιχνεύονται Μετά Από :

Fluorescent In Situ Hybridization, FISH



Multiple Probe Ligation dependent Analysis, MLPA

Array-CGH, μοριακο καρυότυπο

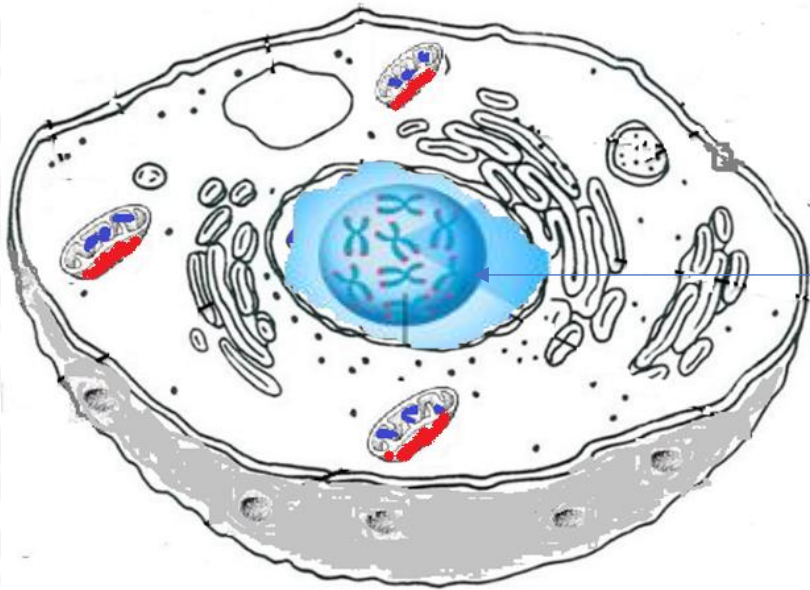


Γενετική διερεύνηση –

Τι μπορεί να αποκαλύψει η μελέτη του γενετικού υλικού;

Αλλαγές σε νουκλεοτιδικό επίπεδο
(Νουκλεοτιδικές Παραλλαγές)

C	T	G	A	C	T	C	C	T	G	A	G	G	A	G	A	A	G
C	T	G	A	C	T	C	T	G	A	G	G	A	G	A	A	A	G
C	T	G	A	C	T	C	-	T	G	A	G	G	A	G	A	A	G
C	T	G	A	C	T	C	C	G	T	G	A	G	G	A	G	A	G



πυρηνικό DNA 3×10^9 bp



Παραλλαγή (variant): οποιαδήποτε αλλαγή στο γενετικό υλικό

Ανίχνευση και ταυτοποίηση παραλλαγών



Σπάνια γενετικά νοσήματα - Παραλλαγή

Παραλλαγή: οποιαδήποτε αλλαγή στην ποσότητα ή τη δομή του γενετικού υλικού

Μετάλλαξη: οποιαδήποτε παθολογική αλλαγή στο γενετικό υλικό

(Πιθανώς) Παθολόγος παραλλαγή: οποιαδήποτε παθολογική αλλαγή

Πολυμορφισμός: παραλλαγή με συχνότητα >1%
SNPs: Single Nucleotide Polymorphisms

(Πιθανώς) Ήπια/καλοήθους παραλλαγή: οποιαδήποτε μη-παθολογική αλλαγή

Παραλλαγές συμβαίνουν σε ΟΛΟ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ / ΟΛΑ ΤΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ και στο μιτοχονδριακό DNA

*S. Richards et al. Genet Med, 2015
J. T den Dunnen, Hum. Mutat. 2016*



Σπάνια γενετικά νοσήματα - Παραλλαγή

Παραλλαγή: οποιαδήποτε αλλαγή στην ποσότητα ή τη δομή του γενετικού υλικού

αν η λέξη **αυγά** γραφεί ως **αβγά** και πάλι σημαίνει **αυγά** και η διαφορετική γραφή τους χαρακτηρίζεται καλοήθους

Μετάλλαξη: οποιαδήποτε παθολογική αλλαγή στο γενετικό υλικό

Πολυμορφισμός SNPs

(Πιθανώς) Παθολόγος παραλλαγή: οποιαδήποτε παθολογική αλλαγή

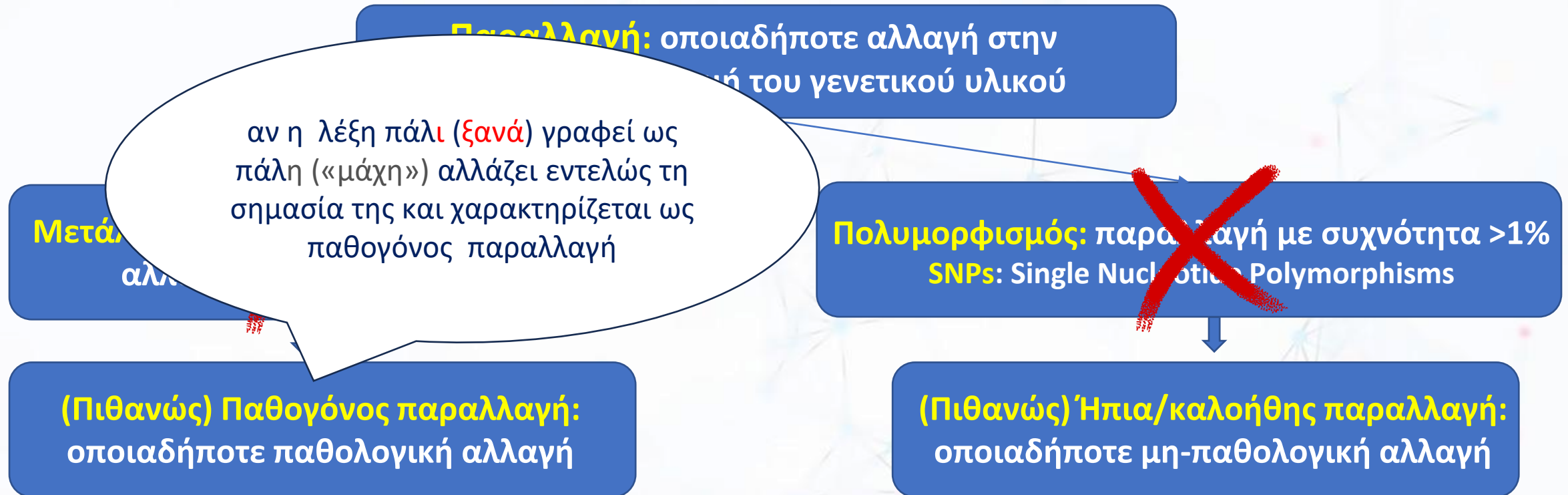
(Πιθανώς) Ήπιος/καλοήθους παραλλαγή: οποιαδήποτε μη-παθολογική αλλαγή

Παραλλαγές συμβαίνουν σε ΟΛΟ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ / ΟΛΑ ΤΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ και στο μιτοχονδριακό DNA

S. Richards et al. Genet Med, 2015
J. T den Dunnen, Hum. Mutat. 2016



Σπάνια γενετικά νοσήματα - Παραλλαγή



**Παραλλαγές συμβαίνουν σε ΟΛΟ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ / ΟΛΑ ΤΑ
ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ και στο μιτοχονδριακό DNA**

S. Richards et al. Genet Med, 2015
J. T den Dunnen, Hum. Mutat. 2016



Χαρακτηρισμός παραλλαγών/Αμερικανικό Κολλέγιο Ιατρικής Γενετικής

«Παθογόνος»,

Συνήθως σχετίζονται με νόσο

«Πιθανώς Παθογόνος»,

«Αβέβαιης Κλινικής Σημασίας-VUS»

Χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης

«Πιθανώς Καλοήθης»

Συνήθως δεν σχετίζονται με νόσο

«Καλοήθης».

Τι γίνεται με τις αλλαγές αγνώστου κλινικής σημασίας ...πχ τρένο και τραίνο θα γίνουν κατανοητά ως αμαξοστοιχίες όμως η αριθμητική διαφορά ενός γράμματος πιθανώς να έχει μια διαφορετική επίδραση

Richards et al., 2015



Αλλαγή στη νουκλεοτιδική αλληλουχία

C	T	G	A	C	T	C	T	G	A	G	G	A	G	A	G	
C	T	G	A	C	T	C	T	G	A	G	G	A	G	A	G	
C	T	G	A	C	T	C	-	T	G	A	G	G	A	G	A	G
C	T	G	A	C	T	C	G	T	G	A	G	G	A	G	A	G

Πιο κοινή αιτία μονογονιδιακών ασθενειών

Συνήθως 85% αιτιολογικών παραλλαγών εντοπίζονται μέσα στις κωδικοποιούσες αλληλουχίες και τα παρακείμενα τμήματα (exon –intron boundaries)

Μεμονωμένα νουκλεοτίδια

- Αντικαταστάσεις
- Ελλείψεις
- Διπλασιασμοί
- Ενθέσεις

Πάνω από ένα νουκλεοτίδιο:

- Μικροελλείψεις
- Μικροενθέσεις
- Indels (Combined micro-insertions/micro-deletions)
- Επεκτάσεις νουκλεοτιδίων



Αλλαγή στη νουκλεοτιδική αλληλουχία... κατηγοριοποίηση με βάση την επίδραση στη πρωτεΐνη

AUG UUG CAU GUA UUG AUA GGG UAG



ΕΧΩ ΣΤΟ ΝΟΥ ΜΟΥ ΟΣΑ ΘΕΣ ΕΣΥ

ΕΧΩ ΣΤΟ ΝΟΥ ΜΟΥ ΟΤΙ ΘΕΣ ΕΣΥ

ΕΧΩ ΣΤΟ ΝΟΥ ΜΟΥ ΟΠΑ ΘΕΣ ΕΣΥ

ΕΧΩ ΣΤΟ ΝΟΥ ΜΟΥ 

ΕΧΩ ΣΤΟ ΝΟΥ ΜΟΟ ΣΑΘ ΕΣΕ ΣΥ

ΕΧΩ ΣΤΟ ΝΟΥ ΜΟΥ ΟΣΑ ΘΕΣ ΕΣΥ ΟΣΑ ΘΕΣ ΕΣΥ

ΕΧΩ ΣΤΟ  ΘΕΣ ΕΣΥ

Πιθανή ερμηνεία

Φυσιολογικό

Σιωπηρή αλλαγή

Παρανοηματική αλλαγή

Μη νοηματική αλλαγή (πρόωρη διακοπή της διαδικασίας)

Αλλαγή πλαισίου ανάγνωσης

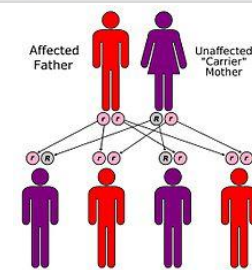
Διπλασιασμός

Έλλειμμα



Μονογονιδιακά νοσήματα

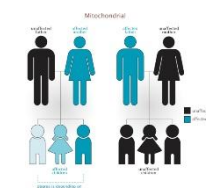
Μενδέλειος κληρονομικότητα: αυτοσωμική υπολειπόμενη/επικρατής, Φυλοσύνδετη



Μη Μενδέλειος κληρονομικότητα: ατελώς επικρατή, συνεπικρατή, επιγενετικές τροποποιήσεις

		eggs	
sperm	♂	I^A	i
	I^B	$I^A I^B$	$I^B i$
	i	$I^A i$	ii
		Offspring	

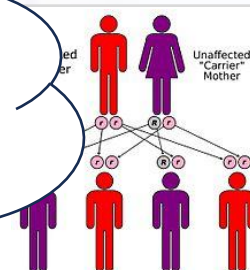
Μιτοχονδριακή κληρονομικότητα



Μονογονιδιακά νοσήματα

Μενδελιανή
υπολειμματική

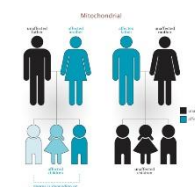
Πως αντιμετωπίζονται τα
φαινόμενα ατελούς
διεισδυτικότητας ή/και
ποικίλης εκφραστικότητας, και
μωσαικισμού



Μη Μενδέλειος κληρονομικότητα: ατελώς
επικρατή, συνεπικρατή, επιγενετικές
τροποποιήσεις

		eggs	
sperm	♂	I^A	i
	♀	$I^A I^B$	$I^B i$
	i	$I^A i$	ii
		Offspring	

Μιτοχονδριακή κληρονομικότητα



ΕΚΦΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ (EXPRESSIVITY): ο βαθμός στον οποίο ένας γονότυπος εκφράζεται φαινοτυπικά. Σε περίπτωση νοσημάτων αναφέρεται στον βαθμό έκφρασης και την σοβαρότητα της κλινικής εικόνας.

Ποικίλη εκφραστικότητα παρατηρείται όταν άτομα από την ίδια οικογένεια η/ και με την ίδια παραλλαγή (γονότυπο) εμφανίζουν διαφορετική κλινική εικόνα



“Narrow expressivity”: όλα τα άτομα με τον ίδιο γονότυπο εμφανίζουν την ίδια κλινική εικόνα



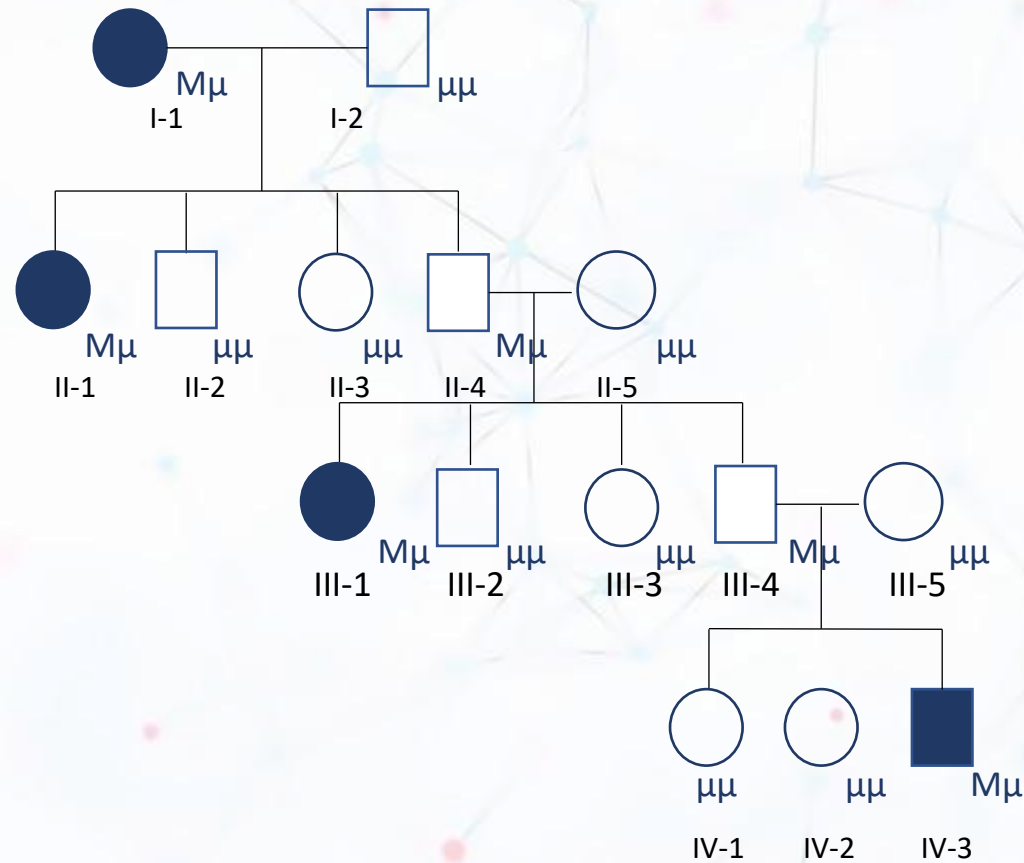
ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΟΤΗΤΑ (PENETRANCE)

Ένας αδρός υπολογισμός της ατελούς διεισδυτικότητας μπορεί να προκύψει από το αποτέλεσμα της διαίρεσης του αριθμού των ατόμων που εκδηλώνουν την κλινική εικόνα με τον αριθμό των ατόμων που υποχρεωτικά φέρουν τον παθολογικό φαινότυπο. Ο αριθμός που προκύπτει προσδιορίζει και τον κίνδυνο εκδήλωσης νόσου



ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΟΤΗΤΑ (PENETRANCE)

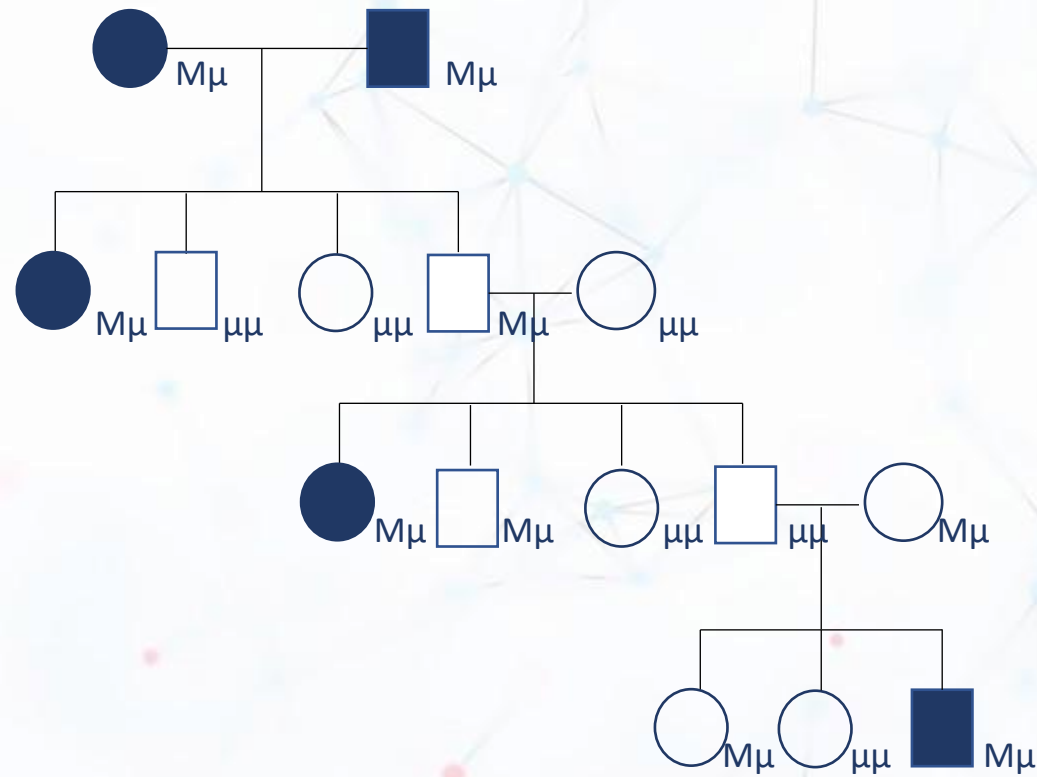
Συνήθως αφορά σε επικρατείς χαρακτήρες



ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΟΤΗΤΑ (PENETRANCE)

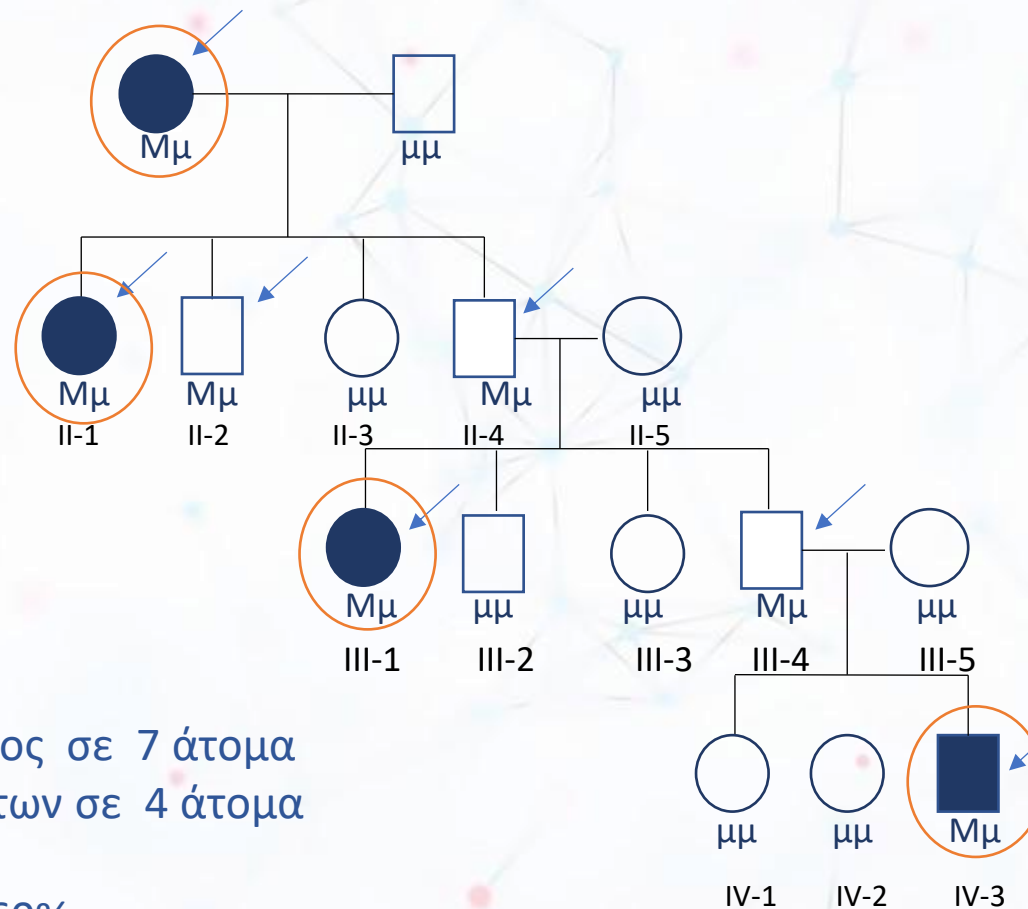
Όμως δεν αποκλείεται και σε υπολειπόμενους....

όπου ο αριθμός και η κατανομή των ασθενών μπορεί να είναι ακριβώς τα ίδια με αυτά που παρατηρούνται όταν ο χαρακτήρας επικρατεί



ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΟΤΗΤΑ (PENETRANCE)

Εκτίμηση κινδύνου εμφάνισης συμπτωμάτων



Παθολογικός γονότυπος σε 7 άτομα

Εκδήλωση συμπτωμάτων σε 4 άτομα

$$4/7 = 0.57$$

Διεισδυτικότητα ~57-60%



ΑΤΕΛΗΣ ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΠΟΙΚΙΛΗ ΕΚΦΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

Σε άτομα που φέρουν γονότυπο που δικαιολογεί την έκφραση ενός χαρακτήρα είτε δεν παρατηρείται καθόλου ο χαρακτήρας αυτός (λευκοί κύκλοι), είτε παρατηρούνται διάφορες εκφάνσεις του χαρακτήρα (κύκλοι με διακυμάνσεις του μπλέ)



ΑΤΕΛΗΣ ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΠΟΙΚΙΛΗ ΕΚΦΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

Όταν ο γονότυπος σχετίζεται με την εκδήλωση ενός νοσήματος τότε ανάμεσα στα άτομα που φέρουν τον γονότυπο θα υπάρχουν τόσο υγιείς (ατελής διεισδυτικότητα) όσο και ασθενείς με κλινική ετερογένεια συμπτωμάτων....

Η κλινική ετερογένεια αφορά είτε την ηλικία έναρξης και τη βαρύτητα ενός κύριου συμπτώματος είτε την απουσία επιμέρους χαρακτηριστικών που συμπληρώνουν τον φαινότυπο



etic variants associated with inherited cardiovascular disorders among 13,131 asymptomatic older adults of European descent.

Participants of the ASPREE study (N = 13,131)	Genes	Variants	Carriers	Carrier rate	Carrier %
Condition Associated genes					
Hypertrophic cardiomyopathy <i>MYBPC3, MYH7, TNNI3, TNNT2, TPM1, ACTC1, MYL2, MYL3, GLA</i>	9	20	24	1 in 547	0.2%
Dilated cardiomyopathy <i>TTNtv, LMNA, RBM20, PLN, BAG3, FLNC</i>	6	26	29	1 in 453	0.2%
Arrhythmogenic right-ventricular cardiomyopathy <i>PKP2, DSP, DSC2, DSG2, TMEM43</i>	5	14	22	1 in 597	0.2%
Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia <i>RYR2</i>	1	4	4	1 in 3283	0.03%
Marfan syndrome and familial thoracic aortic aneurysms and dissections <i>FBN1</i>	1	1	1	1 in 13131	0.007%
Familial long-QT syndrome types 1/2/3 <i>KCNQ1, KCNH2, SCN5A</i>	3	24	39	1 in 337	0.3%
Total	25	89	119	1 in 110	0.9%

Overall, the number of presumed Sudden Cardiac Deaths attributable to pathogenic or likely pathogenic variants detected in the ASPREE population was relatively low (2/119 or 1.7% of carriers). This reflects the reduced penetrance and variable expressivity of clinical manifestations of the inherited cardiovascular disorder genes analysed.

Targeted sequencing of 25 genes used routinely in clinical genetic testing for inherited cardiovascular disorders in 13,131 asymptomatic individuals aged 70 or older (mean age 75 years) enrolled into the ASPREE trial. At the time of enrolment, participants had no prior history or symptoms of atherothrombotic cardiovascular disease, dementia or physical disability. Variants were classified as pathogenic/likely pathogenic following ACMG/AMP standards or deleterious/likely deleterious for *TTN*-truncating variants (*TTNtv*).

Lacaze et al. *npj Genom. Med.* 6, 51 (2021).



Genetic detection of congenital heart disease

Rachamadugu et al. Gynecology and Obstetrics Clinical Medicine 2 (2022) 109–123

2.4 Complex inheritance, incomplete penetrance, and genetic modifiers of CHD

... some known CHD genes display an inheritance pattern characterized by incomplete penetrance,⁸ which highlights the genetic complexity of CHD. **Incomplete penetrance of CHD genes** (e.g., NOTCH1, ROBO4, and SMAD6) happens in some families when certain individuals express CHD phenotype while others do not, even though they carry a pathogenic (disease-causing) variant in a CHD gene. There can also be **a sex bias in penetrance**.

...more complex genetic models (e.g., epistatic interactions of multiple variants/genes) could play a role in genetic heterogeneity of CHD.

...Clinical CHD phenotype could be influenced by **susceptibility loci as well as genetic modifiers**. Common genetic risk variants in multiple loci have been reported in CHD.^{102,103} In a family with childhood–onset cardiomyopathy, three missense variants in MKL2, MYH7, and NKX2-5 were required to cause disease.

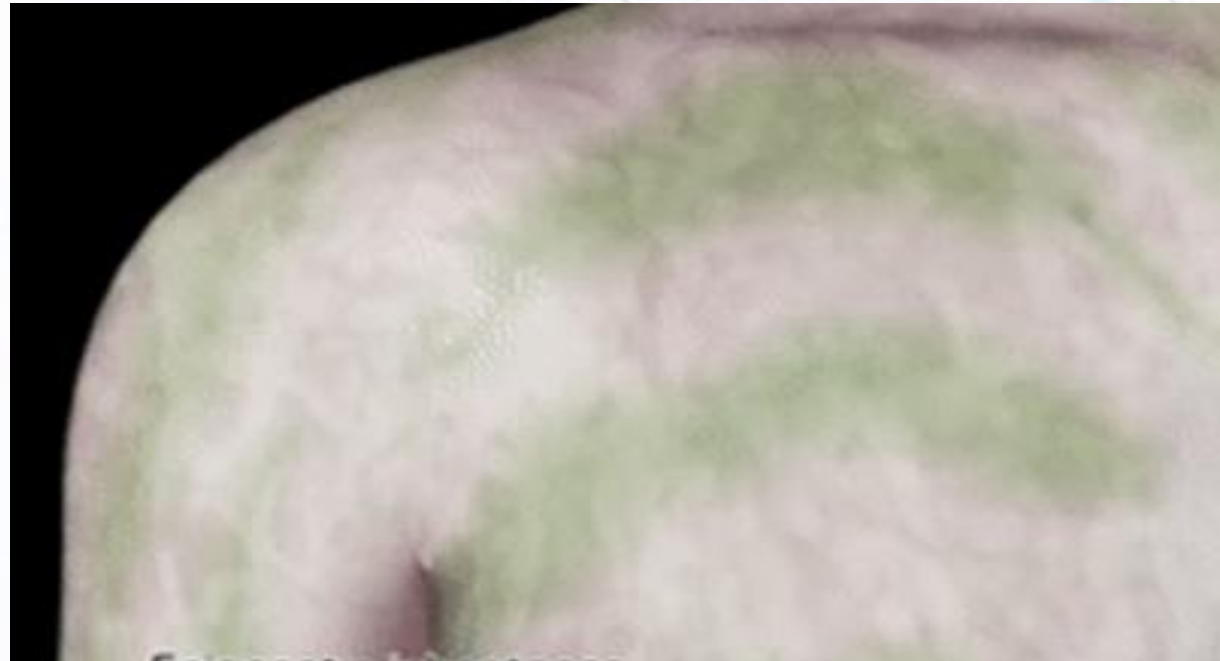


ΜΩΣΑΪΚΙΣΜΟΣ: παρουσία κυτταρικών πληθυσμών με διαφορετικούς γονότυπους σε έναν οργανισμό.

Σωματικός μωσαϊκισμός : παρατηρείται στα σωματικά κύτταρα

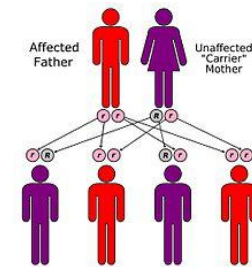
Γαμετικός μωσαϊκισμός : περιορίζεται μόνο στα κύτταρα της γαμετικής σειράς

Ιστοειδικός μωσαϊκισμός: αφορά στα σωματικά κύτταρα αλλά περιορίζεται μόνο σε έναν ιστό



Μονογονιδιακά νοσήματα

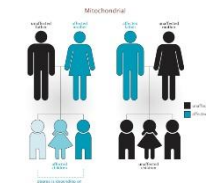
Μενδέλειος κληρονομικότητα: αυτοσωμική υπολειπόμενη/επικρατής, Φυλοσύνδετη



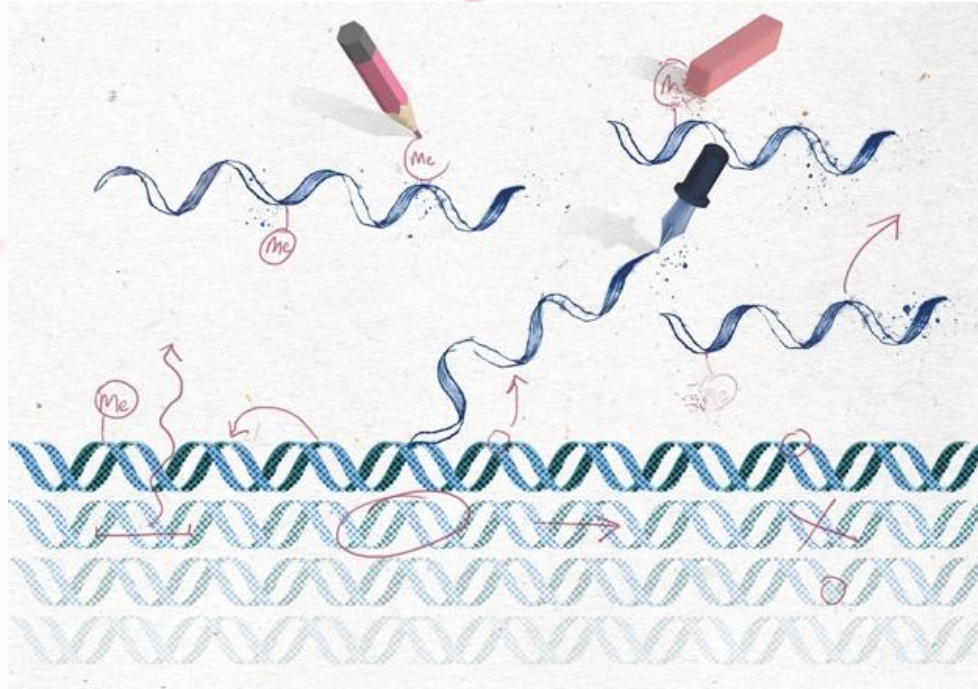
Μη Μενδέλειος κληρονομικότητα: ατελώς επικρατή, συνεπικρατή, **επιγενετικές τροποποιήσεις**

		eggs	
sperm	♂	I^A	i
	I^B	$I^A I^B$	$I^B i$
	i	$I^A i$	ii
		Offspring	

Μιτοχονδριακή κληρονομικότητα



ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ



Σε αντίθεση με τις γενετικές αλλαγές οι επιγενετικές μπορεί να είναι αναστρέψιμες καθώς...

ΔΕΝ αλλάζουν την αλληλουχία του DNA αλλά τον τρόπο με τον οποίο αυτή διαβάζεται...

Αν μιλάμε για γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες οι γενετικές αλλοιώσεις διαφοροποιούν ή καταργούν το τελικό προϊόν ενώ οι επιγενετικές επηρεάζουν το πότε, πού και σε ποιο βαθμό θα παραχθεί προϊόν θέτοντας το γονίδιο σε θέση “on” ή “off.” Εξωγενείς παράγοντες όπως η διατροφή και η φυσική κατάσταση επάγουν την εγκατάσταση επιγενετικών τροποποιήσεων



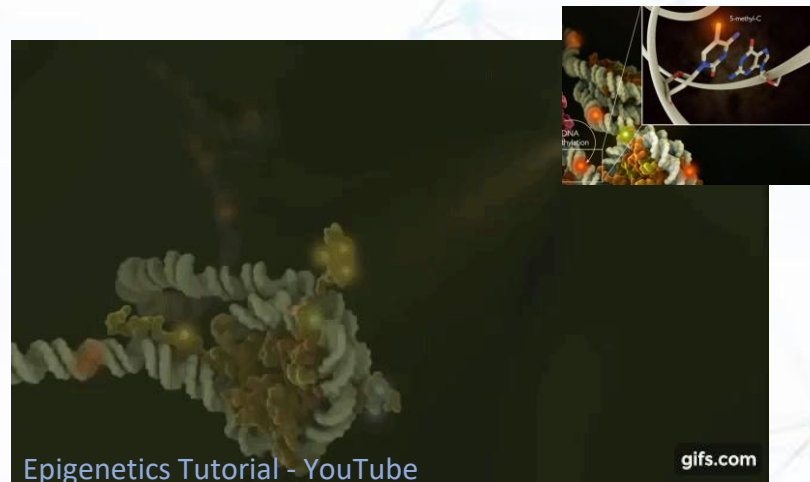
ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ

Για να δούμε πως δουλεύει η επιγενετική

οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν

Μεθυλίωση DNA

Τροθήκη μεθυλομάδων στο DNA. Συνήθως αφορά συγκεκριμένες θέσεις στο DNA μπλοκάροντας την έκφραση γονιδίων. Αναστροφή επιτυγχάνεται με από-μεθυλίωση και απομάκρυνση της μεθυλομάδας.



~ 70 -80 % των CpG στο ανθρώπινο γονιδίωμα είναι μεθυλιωμένα

Όταν τα νησίδια CpG αποτελούν τμήματα υποκινητών η μεθυλίωση οδηγεί σε απενεργοποίηση γονιδίων



ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ

Τροποποιήσεις Ιστονών

Χημικά στοιχεία προσδένονται ή απομακρύνονται από αμινοξικά κατάλοιπα των ιστονών με αποτέλεσμα την αλλαγή της χρωματίνης (συμπυκνωμένη ή ανοικτή) και την «τοποθέτηση» των γονιδίων σε θέση “on” και “off”

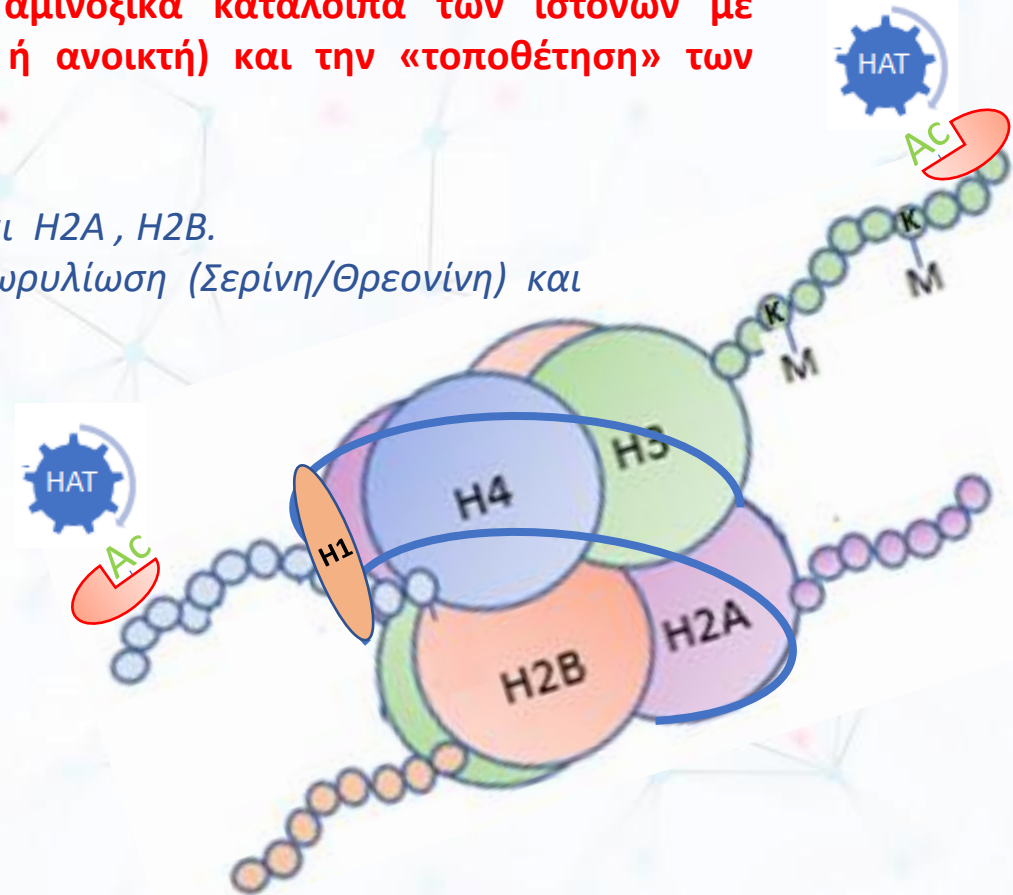
Κατάλοιπα αμινοτελικών άκρων (ουρών) ιστονών H3 και H4 και H2A, H2B.

Μεθυλίωση (Αργινίνη R, Λυσίνη K), **ακετυλίωση (K)**, φωσφωρυλίωση (Σερίνη/Θρεονίνη) και προσθήκη ουβικουιτίνης (K)

Είδος, θέση και αριθμός τροποποιήσεων



συγκεκριμένη διαμόρφωση της χρωματίνης
(αποσιώπηση, ενεργοποίηση γονιδίων)



HATs Histone Acetyltransferases
HDACs Histone Deacetylases



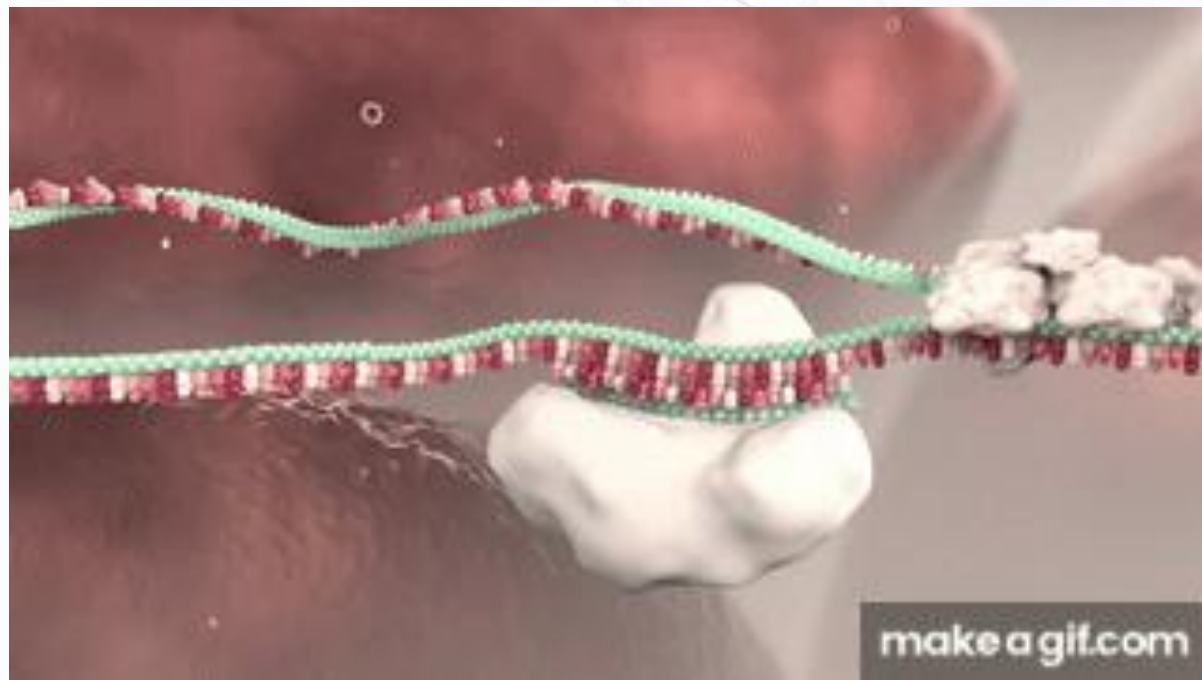
ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ

Για να δούμε πως δουλεύει η επιγενετική

οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν

Εμπλοκή μη κωδικοποιούντων non-coding RNA

Τα non-coding RNA έχουν ρυθμιστικό ρόλο και εμποδίζουν την έκφραση γονιδίων είτε επειδή προσδένονται σε κωδικοποιούντα RNA και αποτρέπουν την έκφραση τους είτε επειδή προσελκύουν πρωτεϊνικά σύμπλοκα που τροποποιούν τις ιστόνες αναλόγως



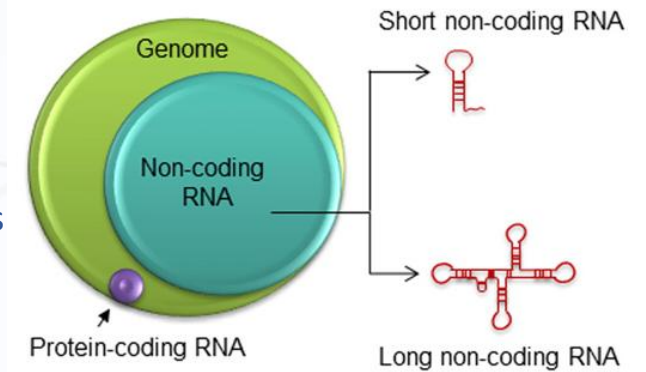
ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ

«non-protein-coding» RNAs (ncRNAs);

small nucleolar RNA, microRNA, short interfering RNA, small double stranded RNA, longer regulatory ncRNAs

Ρυθμίζουν

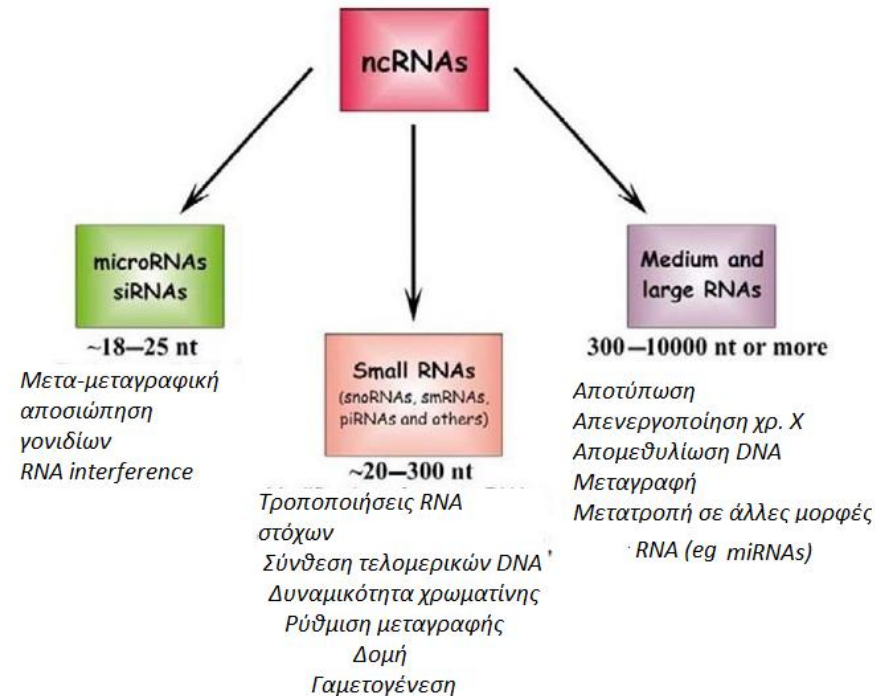
- τροποποιήσεις της χρωματίνης,
- γονιδιακή αποτύπωση,
- μεθυλίωση DMR
- Μεταφραστική αποσιώπηση



Genetic detection of congenital heart disease

Rachamadugu et al. Gynecology and Obstetrics Clinical Medicine 2 (2022) 109–123

....Both miRNA and LncRNA are essential to tissue and organ differentiation and morphogenesis, including that of the myocardium. Dysregulation of miRNAs by alterations in the miRNA binding site of a gene or within the miRNA proper can result in severe CHD. For instance, a single nucleotide variant in miRNA-499, which normally regulates a key enzyme in folate metabolism by expression inhibition, results in abnormal early development of the heart. Consequently, miR-499 has become useful as a diagnostic biomarker for CHD. Likewise, aberrant expression of LncRNA has been found in cardiac tissue of patients with VSDs, as well as in the plasma of pregnant mothers whose fetuses had echocardiography confirmed CHD....



ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ

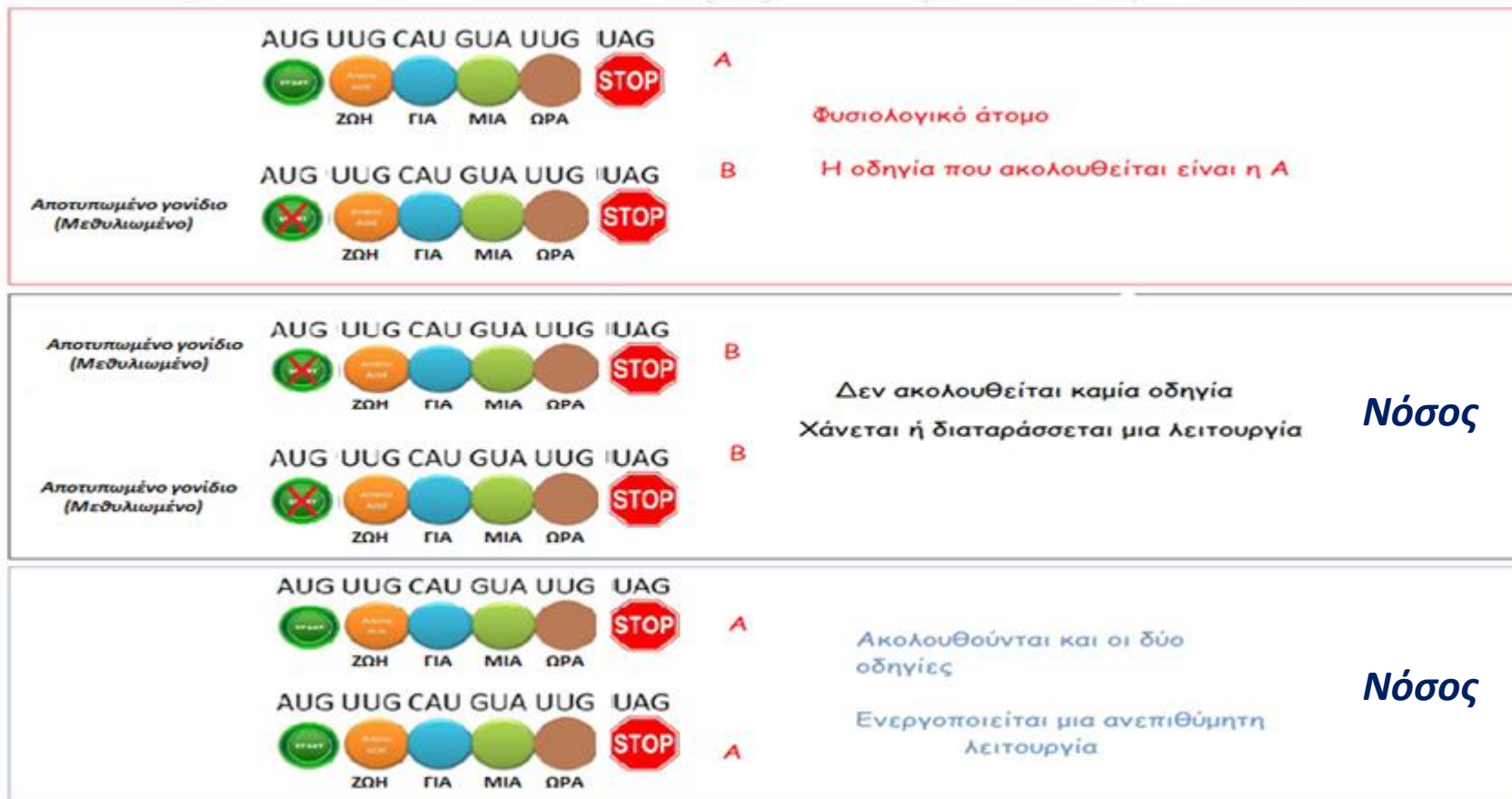
Γονιδιακή Αποτύπωση

- μορφή επιγενετικής ρύθμισης σύμφωνα με την οποία η έκφραση ενός γονιδίου εξαρτάται από την γονεϊκή προέλευση του.
- εξασφαλίζει μονοαλληλική έκφραση γονιδίων με αποτέλεσμα να παρατηρείται άνιση έκφραση μητρικών και πατρικών αλληλομόρφων.
- επιγενετικά σήματα (συνήθως μεθυλίωση) επισημαίνουν τη γονεϊκή προέλευση των αλληλομόρφων και καθορίζουν ποιο από τα δύο αλληλόμορφα θα διατηρηθεί ενεργό.



Γονιδιακή Αποτύπωση

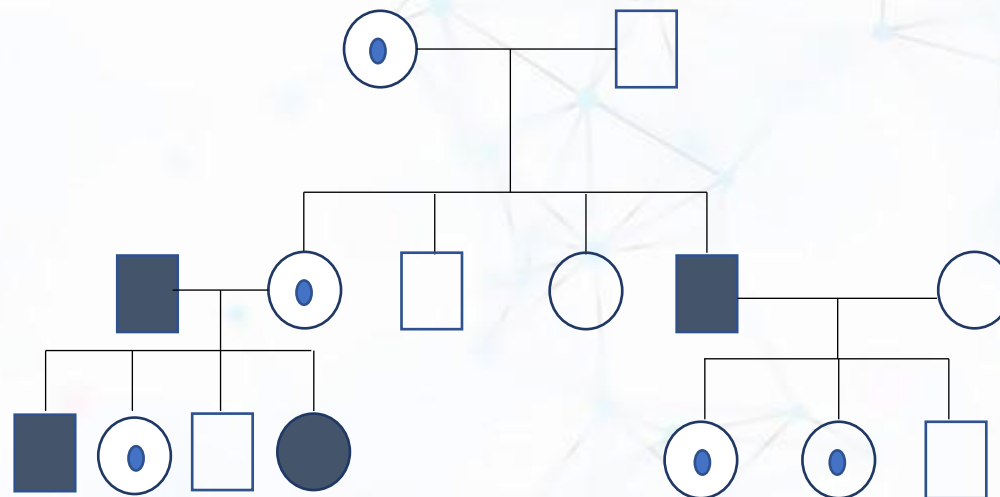
Σωστός αριθμός αλληλομόρφων **ΑΛΛΑ** εμφάνιση κλινικής εικόνας λόγω ποιοτικών διαταραχών. Σύμφωνα με το πρότυπο αποτύπωσης, αποτυπωμένα γονίδια είτε απουσιάζουν είτε παρατηρούνται σε δύο αντίγραφα.



ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ

Αδρανοποίηση Χρωμοσώματος Χ- Φυλοσύνδετα Νοσήματα

Φυλοσύνδετοι χαρακτήρες (X-linked): αφορούν γονίδια που εδράζονται στο χρωμόσωμα Χ και δεν διαθέτουν ομόλογο αλληλόμορφο στο χρωμόσωμα Υ. Τα θήλεα άτομα φέρουν δύο αλληλόμορφα ενώ τα αρρενα, ένα (ημιζυγώτες).

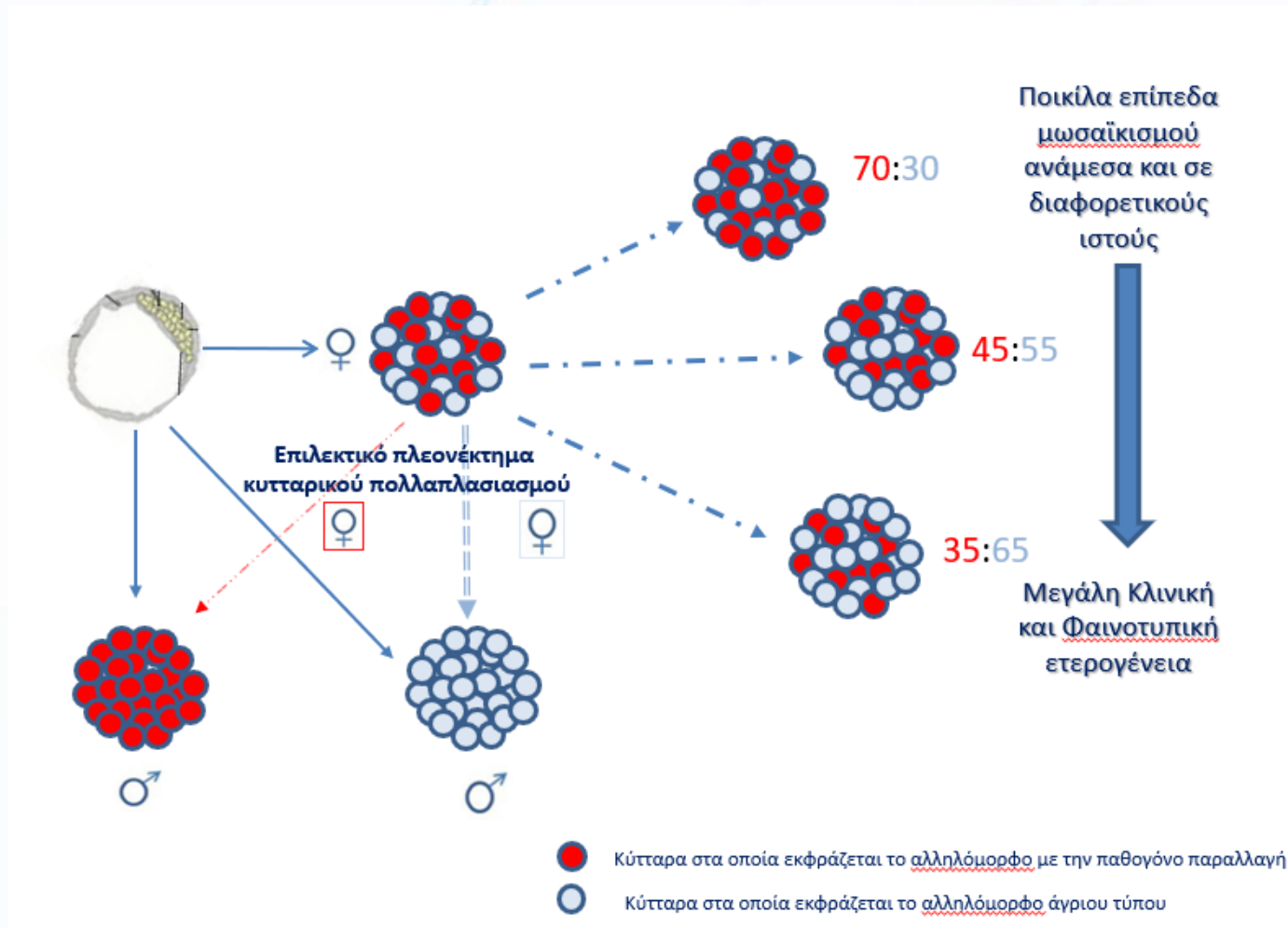


Οι βλάβες που παρατηρούνται περιλαμβάνουν κάθε πιθανή αλλοίωση της δομής του χρ. Χ και της αλληλουχίας του DNA



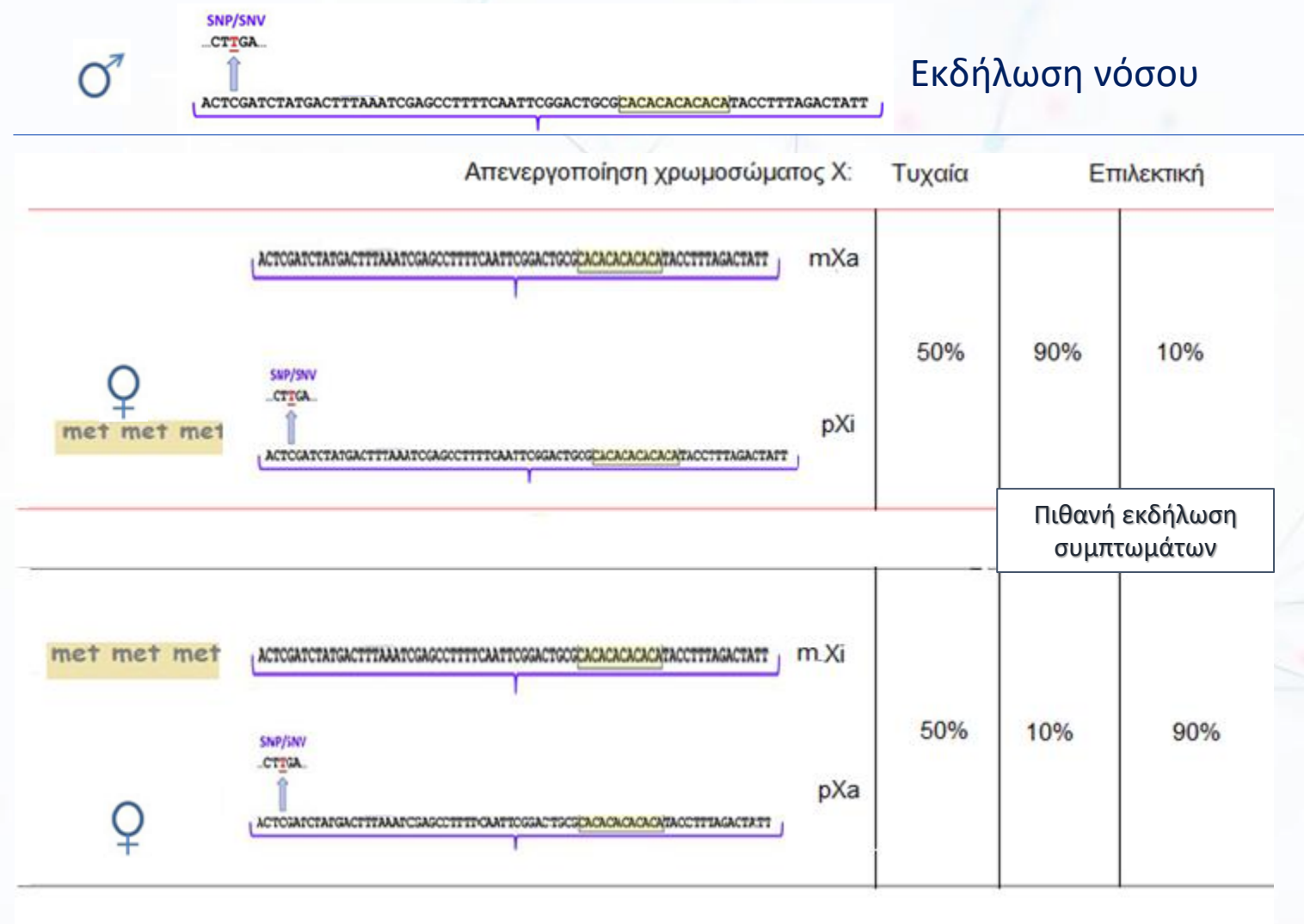
ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ

Αδρανοποίηση Χρωσώματος Χ- Φυλοσύνδετα Νοσήματα



Αδρανοποίηση χρωμοσώματος X- παραλλαγή σε φυλοσύνδετο γονίδιο

Πως μπορεί να επηρεάζει την εκδήλωση νόσου σε θήλεα άτομα



Αδρανοποίηση χρωμοσώματος Χ- παραλλαγή σε φυλοσύνδετο γονίδιο Πως μπορεί να επηρεάζει την εκδήλωση νήσου σε θήλεα άτομα

Ανάλογα με τα ποσοστά έκφρασης του αλληλομόρφου με τη βλάβη είναι δυνατόν να εκδηλώνονται συμπτώματα και σε θήλεα (manifesting carriers).

Παραδείγματα αποτελούν:

- οι αυξημένες τιμές CPK (βιοχημικός δείκτης καταστροφής των μυών) σε φορείς δυστροφινοπαθειών (Μυϊκή δυστροφία Duchenne /Becker)
- οι μειωμένες τιμές α-γαλακτοζιδάσης Α σε φορείς ν. Fabry (νόσημα διαταραχής λυσοσωμιακής αποθήκευσης)

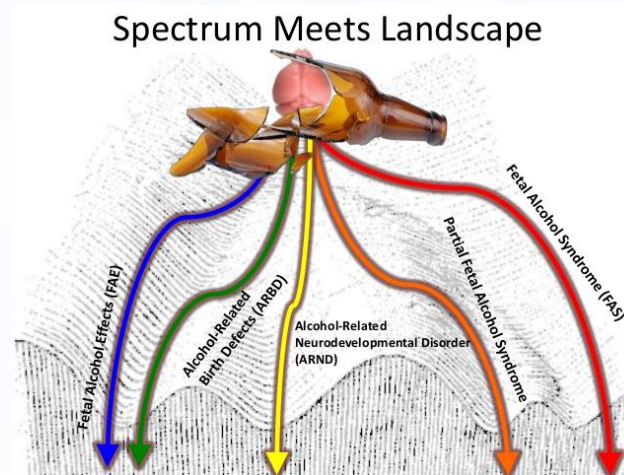
Και στα δύο παρατηρούνται καρδιακά προβλήματα

Από τις πρώτες παρατηρήσεις/ πρώτα παραδείγματα , η ανεπάρκεια της αφυδρογονάσης της 6 φωσφορικής γλυκόζης (G6PD)



ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ

- Απόκριση σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα-προσαρμογή/ πιθανότητα αναστροφής (διατροφή, κάπνισμα κλπ/ επίπεδα μεθυλίωσης γονιδίων διαφοροποιούνται με την έναρξη ή την διακοπή του καπνίσματος και σε σχέση με τη διάρκεια και τη ποσότητα)



*...Prenatal alcohol can result in **cardiac defects**, mainly those of the cardiac septa, cardiac valves, cardiac canals, and cardiac chambers. The mechanisms underlying CHD and its phenotypes caused by are associated with changes in retinoic acid biosynthesis and its signaling pathway, apoptosis and defective function of cardiac neural crest cells, disturbance of the Wnt β -catenin signaling pathway, suppression of bone morphogenetic protein (BMP) signaling, and other **epigenetic** mechanisms.*

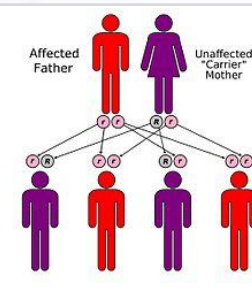
Chen et al 2020 Birth Defects Research 113;7 521-534

- Αρνητική απόκριση –εκτροπή από το αναμενόμενο –παρέκκλιση/ εκδήλωση νοσημάτων



Μονογονιδιακά νοσήματα

Μενδέλειος κληρονομικότητα: αυτοσωμική υπολειπόμενη/επικρατή

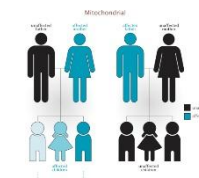


Μη Μενδελιανή κληρονομικότητα: επικρατή, συγγενική, τροποποιημένη

Τι συμβαίνει με τα μιτοχόνδρια;
Παραλλαγές σε mt DNA αλλά
και πυρηνικό DNA που κωδικοποιεί
συστατικά του μιτοχονδρίου

		eggs	
sperm	♂	I^A	i
	♀	I^B	i
	♂	$I^A I^B$	$I^A i$
	♀	$I^B i$	ii
		Offspring	

Μιτοχονδριακή κληρονομικότητα

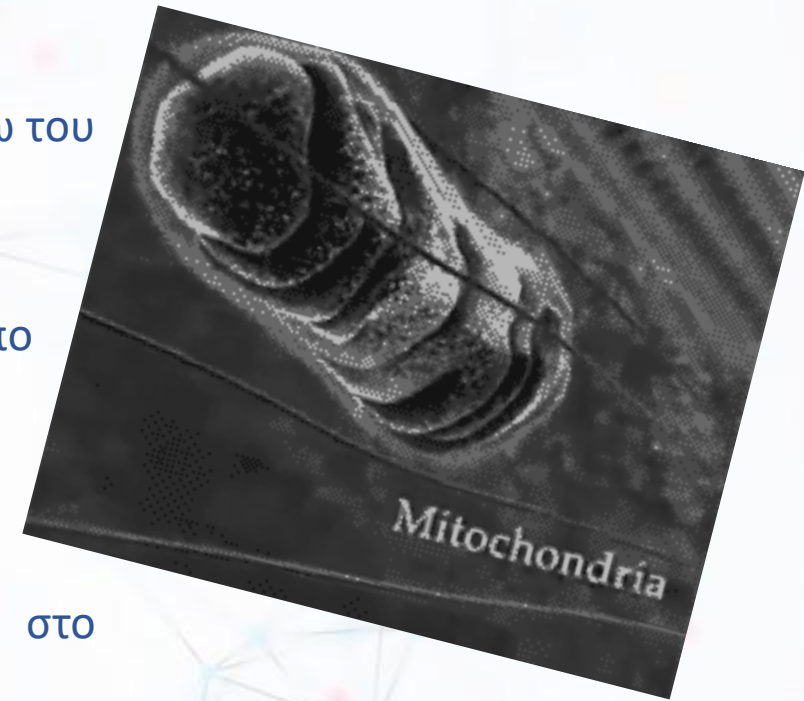


Τι συμβαίνει με τα μιτοχόνδρια?

- Ένα από τα σημαντικότερα οργανίδια των ευκαρυωτικών κυττάρων
- Τα «**κυτταρικά εργοστάσια παραγωγής ενέργειας**» (Παραγωγή ATP μέσω του κύκλου Krebs)
- Ο **αριθμός** τους στα κύτταρα ποικίλει, ανάλογα με τον ιστό/κυτταρικό τύπο

Τα μόνα κύτταρα από τα οποία  απουσιάζουν είναι τα **ερυθροκύτταρα**

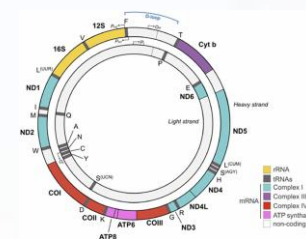
- **Δυναμική κατάσταση** μιτοχονδρίων: Μπορούν να κινούνται μέσα στο κυτταρόπλασμα και να αυξάνονται ή να μειώνονται σε αριθμό
- **Εμφανίζουν μεγαλύτερη συγκέντρωση σε κύτταρα με υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις** (π.χ. μυϊκά / καρδιακός μυς, νευρικά, γαμετικά κ.τ.λ.)



Τι συμβαίνει με τα μιτοχόνδρια?

➤ Το μιτοχονδριακό, mtDNA:

- ❖ Είναι **μικρό (16.569 bp)** και **κυκλικό**
- ❖ Το μεγαλύτερο τμήμα του περιέχει αλληλουχίες που κωδικοποιούν πρωτεΐνες (93%)
- ❖ Περιλαμβάνει **37 γονίδια**: 13 κωδικοποιούν πρωτεΐνες, 22 tRNAs και 2 rRNAs



➤ Εμφανίζει παραλλαγές 5-10 φορές πιο γρήγορα από το πυρηνικό DNA διότι:

1. Δεν υπάρχουν επιδιορθωτικοί μηχανισμοί
2. Δεν προστατεύεται από δομές, όπως οι ιστόνες
3. Βρίσκεται στη μήτρα του μιτοχονδρίου, δηλαδή σε περιβάλλον όπου συμβαίνουν οξειδωτικές αντιδράσεις

➤ **Ημιαυτόνομα οργανίδια**, η αντιγραφή του mtDNA και ο πολλαπλασιασμός τους πραγματοποιούνται ανεξάρτητα κατά τη διάρκεια του μιτωτικού κύκλου

➤ Οι πρωτεΐνες που δομούν τα μιτοχόνδρια κωδικοποιούνται κυρίως από γονίδια του πυρήνα, όχι του mtDNA!!!

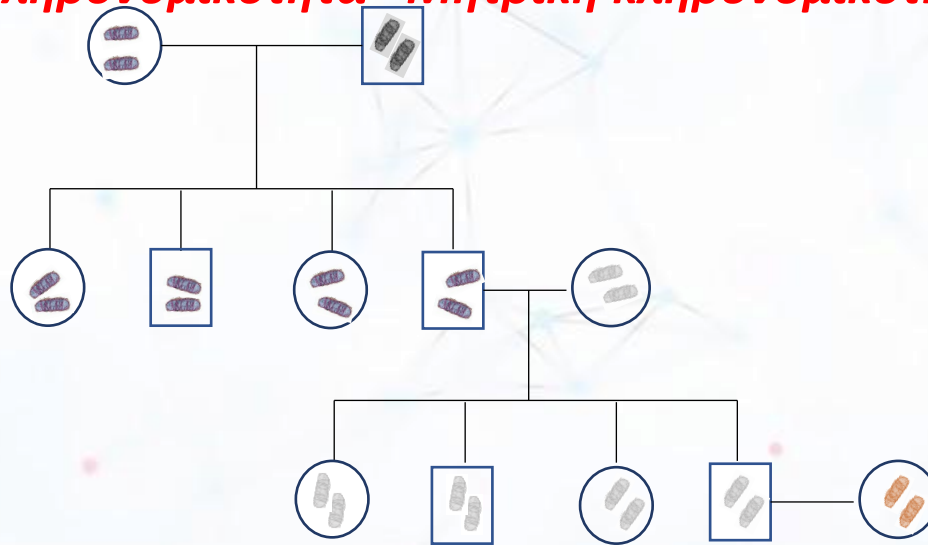


Τι συμβαίνει με τα μιτοχόνδρια?



Σε αντίθεση με το πυρηνικό DNA το οποίο κληρονομείται και από τους δύο γονείς, το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA προέρχεται από τα μιτοχόνδρια) μεταβιβάζεται κυρίως από τη μητέρα σε όλα τα παιδιά της (πρόσφατη βιβλιογραφία μεμονωμένη αναφορά πατρικής κληρονομής).

Μιτοχονδριακή κληρονομικότητα = Μητρική κληρονομικότητα



Τι συμβαίνει με τα μιτοχόνδρια?

- **Μιτοχονδριακά νοσήματα:** Όλα τα νοσήματα που οφείλονται σε δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων
- **Συχνότητα** μιτοχονδριακών νοσημάτων = **1:4300 άτομα**
- Μόνο ~15% οφείλονται σε παθογόνες παραλλαγές αποκλειστικά του mtDNA και εμφανίζουν **μιτοχονδριακή (μητρική) κληρονομικότητα!!!**
- Το **85%** των νοσημάτων οφείλεται σε παθογόνες παραλλαγές του **πυρηνικού DNA** και ακολουθούν **Μενδέλειο κληρονομικότητα!!!**

Επηρεάζονται **πολλά συστήματα και όργανα**. Κυρίως αυτά με αυξημένες ενεργειακές ανάγκες (εγκέφαλος, σκελετικοί και καρδιακός μυς, νεφρά, ήπαρ και νευρώνες)



Τι συμβαίνει με τα μιτοχόνδρια?

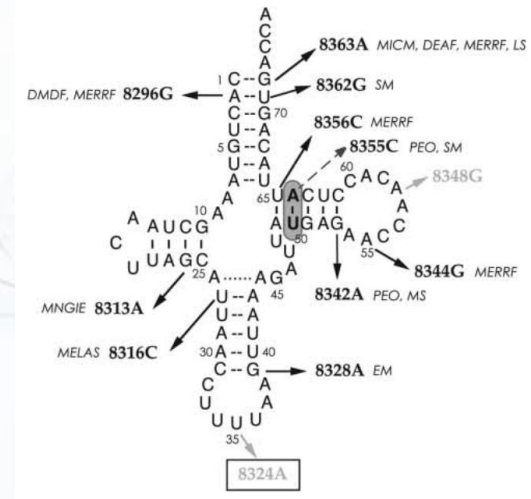
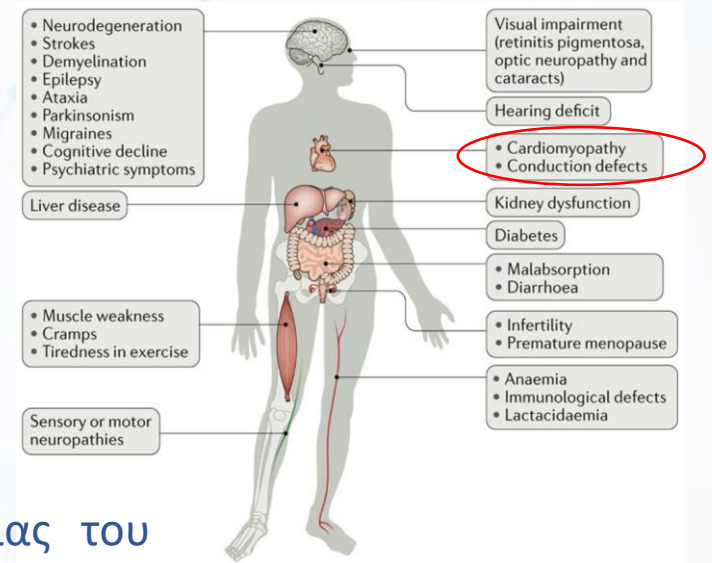
Χαρακτηρίζονται από **μεγάλη κλινική ετερογένεια**

➤ Αυτό μπορεί να οφείλεται:

- i. Στον τύπο ή τη θέση της παραλλαγής του mtDNA
- ii. Στον τύπο ιστού που προσβάλλεται από τη διαταραχή της λειτουργίας του μιτοχονδρίου (πολυσυστηματικά νοσήματα)
- iii. Στο ποσοστό του «παραλλαγμένου» mtDNA που βρίσκεται στον κάθε ιστό (ετεροπλάσμία)
- iv. Στο κρίσιμο όριο (threshold) κάθε παθογόνου παραλλαγής για την έκφραση παθολογικού φαινοτύπου



Σε πολλά νοσήματα με μητρική κληρονομικότητα εάν η παραλλαγή δεν ξεπερνά το 50% δεν εκφράζεται βαρύς φαινότυπος



Πηγή: Sissler, M., et al. (2004)

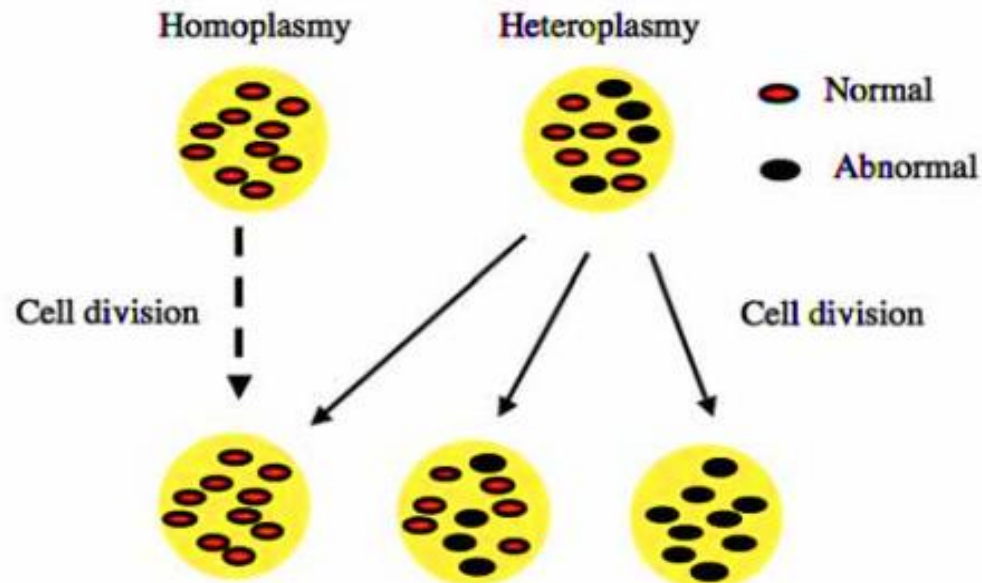


Τι συμβαίνει με τα μιτοχόνδρια?

Ετεροπλασμία: Συνύπαρξη μορίων mtDNA με φυσιολογική αλληλουχία και μορίων με παραλλαγές στο mtDNA. Υψηλή ετεροπλασμία =μεγαλύτερο ποσοστό mtDNA με την παραλλαγή.

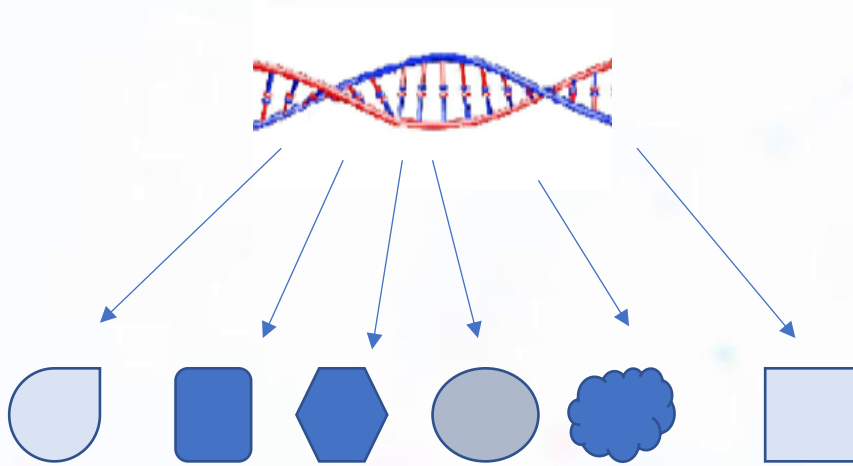
Τυπικά ποσοστό παραλλαγμένου mtDNA (>50%) επαρκεί για την εκδήλωση παθολογικού φαινοτύπου ενώ κάποιες παραλλαγές (ιδίως του mt-tRNA) απαιτούν πολύ υψηλότερο ποσοστό παραλλαγμένων μορίων.

Ομοπλασμία: όλα τα μόρια mtDNA φέρουν την ίδια αλληλουχία



Τι συμβαίνει με τα μιτοχόνδρια?

ΠΛΕΙΟΤΡΟΠΙΣΜΟΣ (PLEIOTROPY): η έκφραση ενός μόνο γονιδίου επηρεάζει περισσότερους του ενός φαινοτυπικούς χαρακτήρες



ΌΜΩΣ ισχύει και

1 ΝΟΣΗΜΑ πολλές παθολογικές παραλλαγές σε διαφορετικά γονίδια

Πχ. σύνδρομο Leigh (3 σε mtDNA και παραλλαγές στο πυρηνικό DNA)

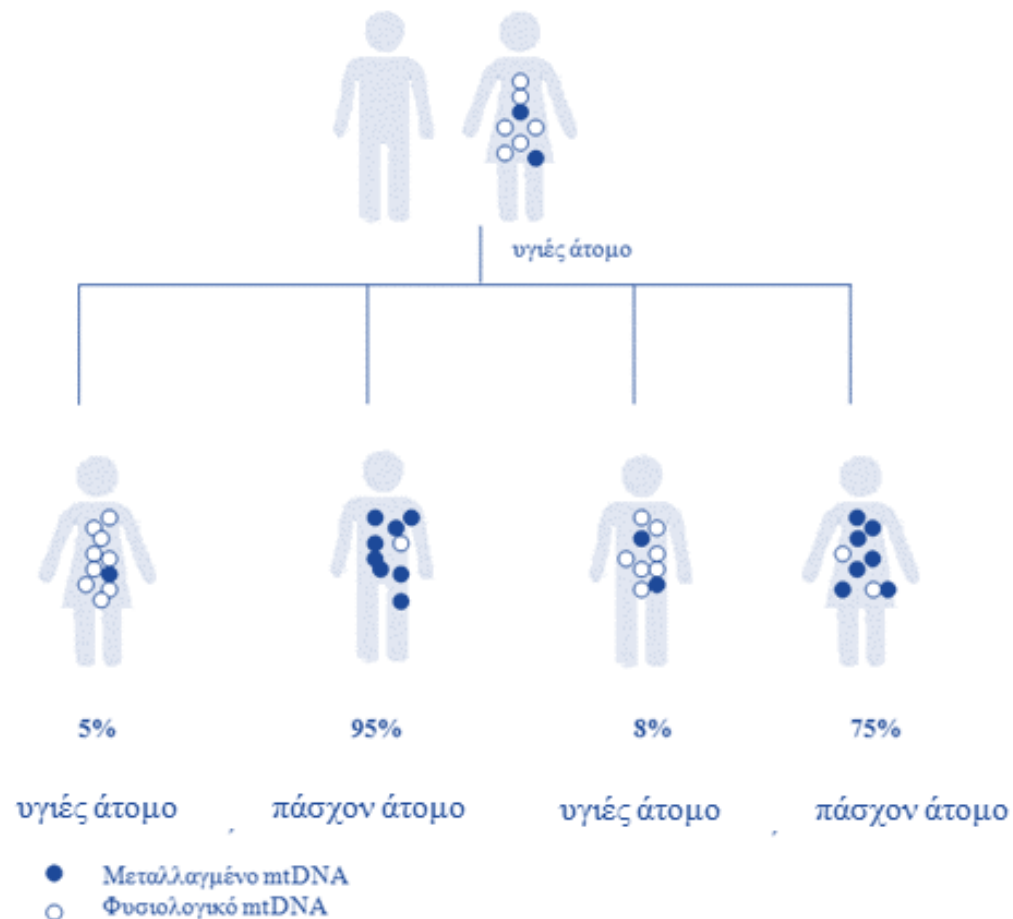
1 παθολογική παραλλαγή πολλά νοσήματα

πχ η παραλλαγή m.3243A>G (*MT-TL1*) προκαλεί CPEO ή MELAS ή MIDD.



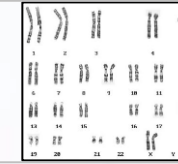
Τι συμβαίνει με τα μιτοχόνδρια?

Τα ποσοστά ετεροπλασμίας αναδεικνύουν και τον κίνδυνο εκδήλωσης συμπτωμάτων και την κλινική ετερογένεια ακόμα και σε άτομα της ίδιας οικογένειας

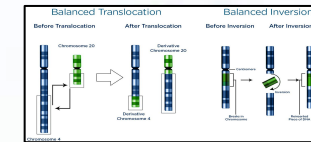


Διερεύνηση Καρδιοπαθειών – Γενετική διάγνωση

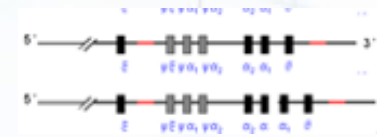
Αλλαγή στον αριθμό των χρωσωμάτων
(Αριθμητικές χρωσωμικές ανωμαλίες – ανευπλοϊδίες)



Αλλαγή της ποσότητας/θέσης της αλληλουχίας
(Δομικές χρωσωμικές ανωμαλίες)



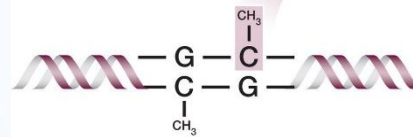
Αλλαγή στον αριθμό αντιγράφων της αλληλουχίας
(Copy Number Variants-CNVs)



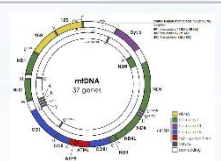
Αλλαγή σε νουκλεοτιδικό επίπεδο
(Νουκλεοτιδικές Παραλλαγές)

C	T	G	A	C	T	C	C	T	G	A	G	G	A	G	A	A	G
C	T	G	A	C	T	C	T	T	G	A	G	G	A	G	A	A	G
C	T	G	A	C	T	C	-	T	G	A	G	G	A	G	A	A	G
C	T	G	A	C	T	C	G	T	G	A	G	G	A	G	A	A	G

Αλλαγή προτύπου μεθυλίωσης
(Σύνδρομο Γονιδιακής Αποτύπωσης)



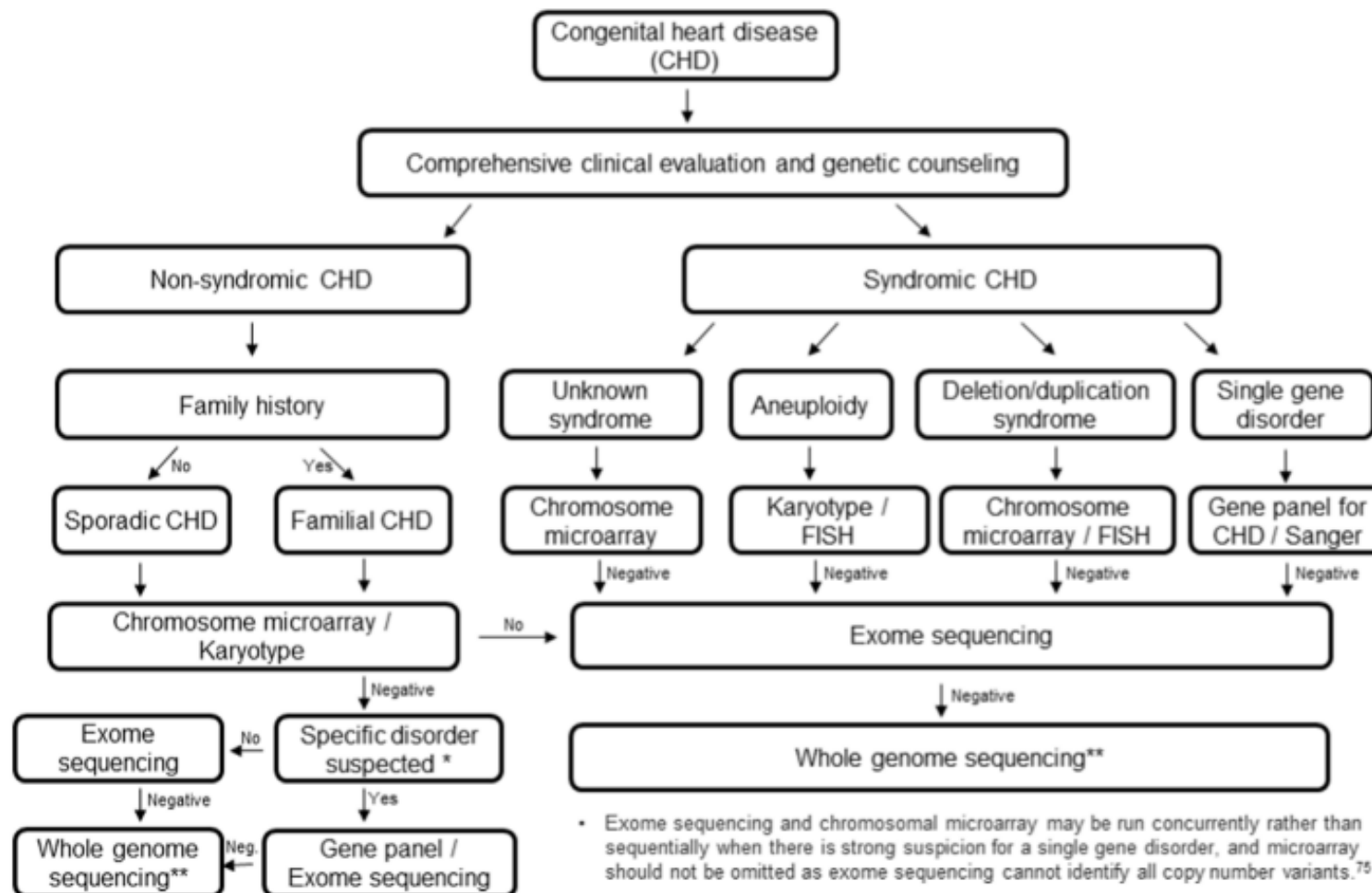
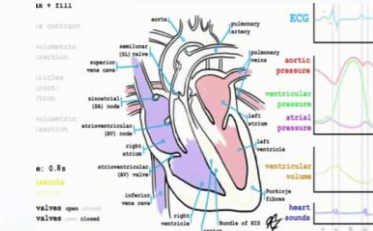
Αλλαγές στο μιτοχονδριακό DNA
(ελλείμματα/νουκλεοτιδικές παραλλαγές)



Διαγνωστικός Αλγόριθμος

Genetic detection of congenital heart disease

Rachamadugu et al. *Gynecology and Obstetrics Clinical Medicine 2* (2022) 109–123



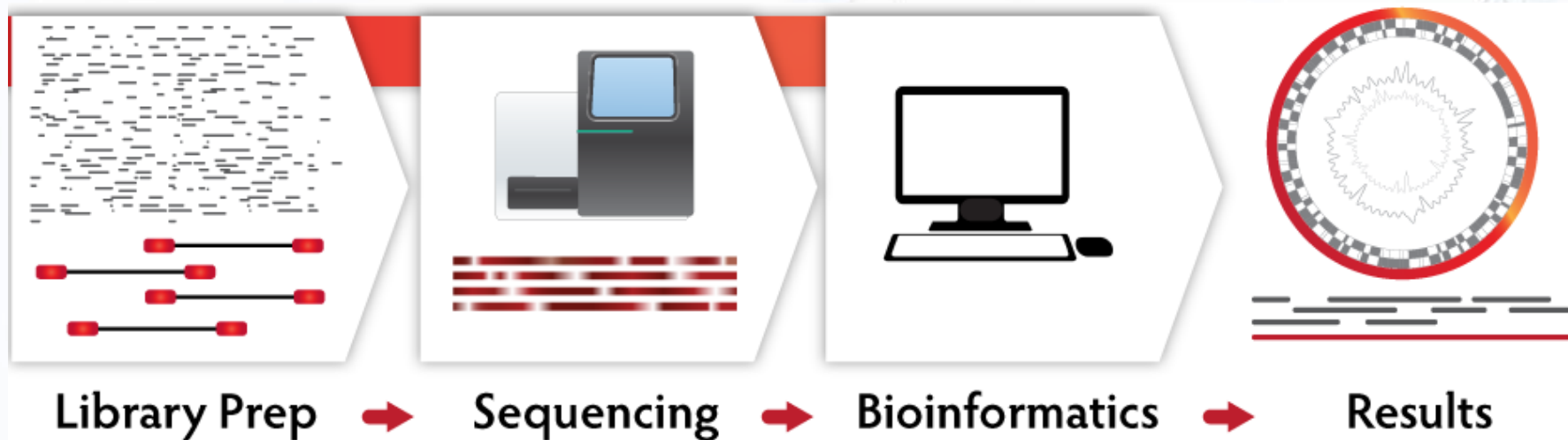
Το στοίχημα με την αλληλούχηση επόμενης γενιάς

Η διαχείριση και η ερμηνεία τεράστιου όγκου δεδομένων



Next-Generation Sequencing (NGS)/Αλληλούχηση επόμενης γενιάς

- Σύγχρονη και υψηλής απόδοσης τεχνολογία προσδιορισμού αλληλουχιών.
- Αναλύονται μαζικά και παράλληλα εκατοντάδες νουκλεοτίδια σε σύντομο χρονικό διάστημα (Μαζική Παράλληλη Αλληλούχηση).
- Μείωση του κόστους, του χρόνου, της πολυπλοκότητας ροής εργασίας και ποσοστού σφαλμάτων.
- Τεράστια αύξηση της ποσότητας των δεδομένων που απαιτούν ειδικά βιοπληροφορικά εργαλεία και χώρο αποθήκευσης.

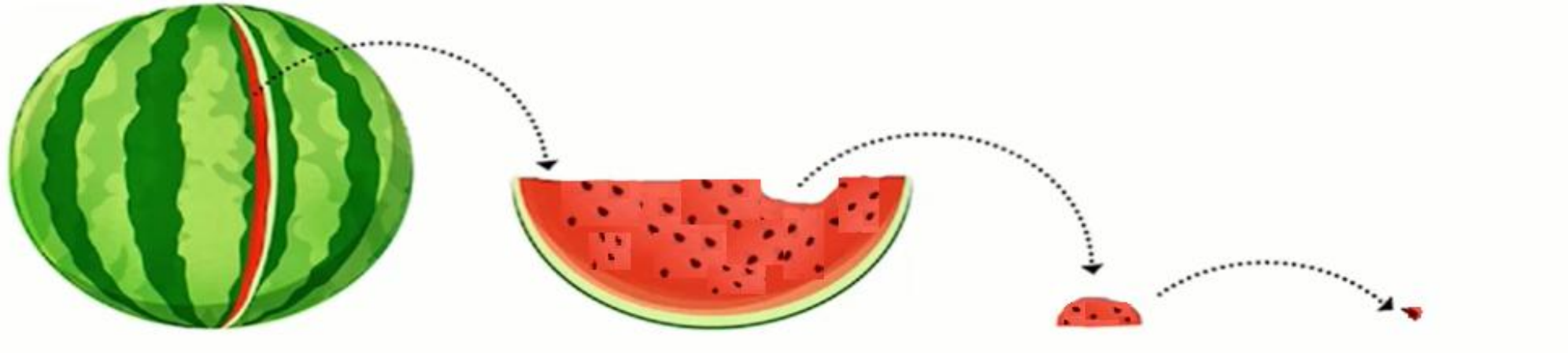


Next-Generation Sequencing (NGS)/Αλληλούχηση επόμενης γενιάς

Σύνολο τεχνικών μοριακής βιολογίας και υπολογιστικών προγραμμάτων για τον μαζικό και παράλληλο προσδιορισμό αλληλουχιών.

Χρησιμοποιείται κυρίως για την ανίχνευση παραλλαγών σε νουκλεοτιδικό επίπεδο

Επιλογή κλίμακας



Whole Genome Sequencing

Αλληλούχηση
ολόκληρου του
γονιδιώματος

Whole Exome Sequencing

Αλληλούχηση όλων
των εξονίων του
γονιδιώματος (<2%)
~180.000 εξόνια σε
~20.000 γονίδια

Targeted Gene Panel

Αλληλούχηση
συγκεκριμένων γονιδίων
(έως εκατοντάδες)

Single Gene

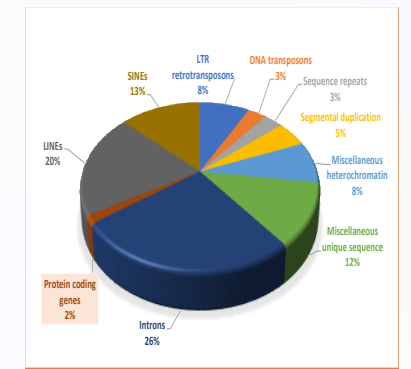
Αλληλούχηση
ενός γονιδίου



Αλληλούχηση όλου του γονιδιώματος

Whole Genome Sequencing (WGS)

Καλύπτει όλο το γονιδίωμα - κωδικοποιούσες & μη περιοχές.

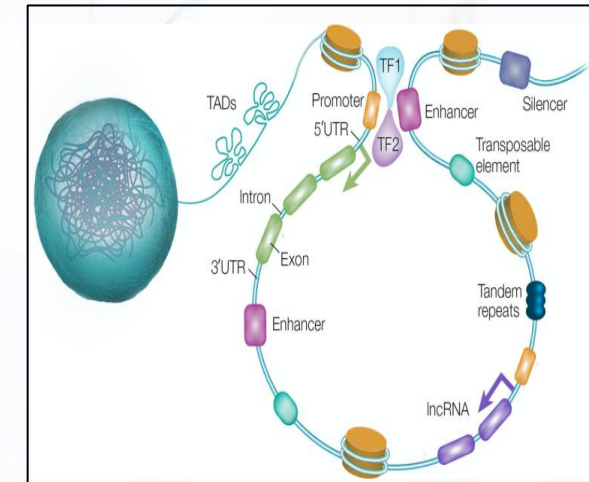
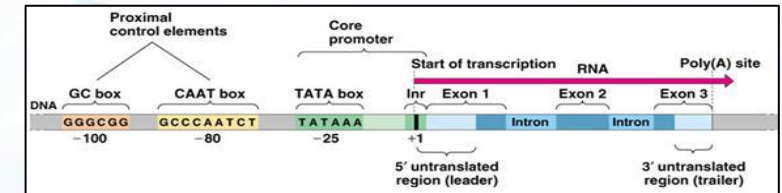


Στις μη κωδικοποιούσες περιοχές περιλαμβάνονται:

- Εσόνια
- Ρυθμιστικές αλληλουχίες
- Υποκινητές
- Ενισχυτές

Και θεωρητικά μπορεί να ανιχνεύει όλα τα είδη παραλλαγών:

- Παραλλαγές ενός ή μερικών νουκλεοτιδίων
- Ελλείμματα
- **Αλλαγές στον αριθμό αντιγράφων**
- **Επεκτάσεις επαναλήψεων**
- Χαμηλότερο βάθος κάλυψης ~30x.

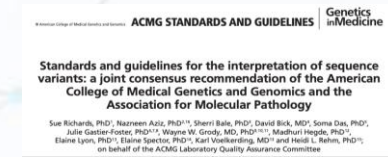


French JD, Edwards SL. Trends Genet. 2020 Nov;36(11):880-891.



Αλληλούχηση Επόμενης Γενιάς στην μοριακή γενετική διάγνωση

Ανεξάρτητα από τον τύπο NGS



Οδηγίες Αμερικανικού Κολλεγίου Ιατρικής Γενετικής (ACMG) για τον χαρακτηρισμό των παραλλαγών

28 κριτήρια εφαρμόζονται ως αλγόριθμος, αφορούν το είδος της παραλλαγής, τη συχνότητα, in-silico εργαλεία, βιβλιογραφία, λειτουργικές μελέτες και εξασφαλίζουν κοινό τρόπο εκτίμησης και αποδοχής

Κατατάσσουν τις παραλλαγές σε 5 κατηγορίες:



(Πιθανώς) καλοήθης παραλλαγή:
οποιαδήποτε μη-παθολογική αλλαγή

(Πιθανώς) Παθογόνος παραλλαγή:
οποιαδήποτε παθολογική αλλαγή

Αβέβαιης Κλινικής Σημασίας (VUS)



Η αλληλούχηση επόμενης γενιάς



Αποτελεί αδιαμφισβήτητα ένα πολύτιμο εργαλείο στη φαρέτρα όσων εμπλέκονται στη διάγνωση γενετικών νοσημάτων.

Απαιτεί ΌΜΩΣ προσεκτική προσέγγιση για να εξασφαλίζονται χαρακτηριστικά όπως :

Αναλυτική εγκυρότητα (analytic validity, η ακρίβεια με την οποία το τεστ εντοπίζει μια γενετική βλάβη)

Κλινική εγκυρότητα (clinical validity, ο βαθμός της σχέσης της βλάβης που ανιχνεύεται με νόσο)

Κλινική χρησιμότητα (clinical utility, η πρακτική αξία του τεστ στη διαχείριση της νόσου) και συνδεόμενα ζητήματα ELSI (Ethical, Legal and Social Issues).

Απαιτείται πολυεπιστημονική συνεργασία για υψηλής ποιότητας διάγνωση.

Απαιτείται εκπαίδευση και εξειδίκευση του ιατρικού-επιστημονικού προσωπικού γύρω από τις νέες τεχνολογίες και την ερμηνεία αποτελεσμάτων.

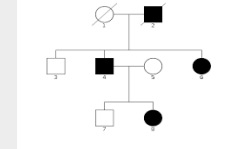


Αλληλούχηση Επόμενης Γενιάς στην κλινική πράξη

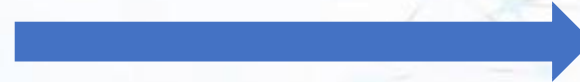
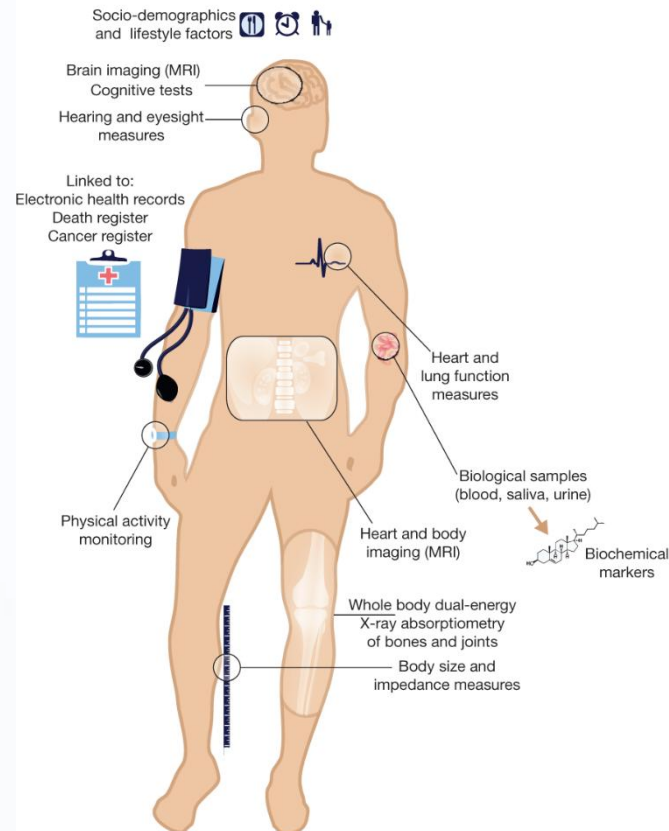
ΠΡΟ-ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΦΑΣΗ

Pre-test συμβουλευτική:

- Ιατρικό/οικογενιακό ιστορικό
- Κλινική εξέταση
- Ενημέρωση & συγκατάθεση



Deep phenotyping



Phenomizer

Rank disease differential diagnosis by clinical features.



Profile Search

Discover diseases with a phenotype profile.



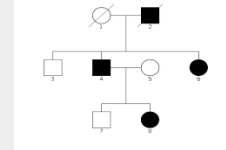
Αλληλούχηση Επόμενης Γενιάς στην κλινική πράξη

ΠΡΟ-ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΦΑΣΗ

Pre-test συμβουλευτική:

- Ιατρικό/οικογενιακό ιστορικό
- Κλινική εξέταση
- Ενημέρωση & συγκατάθεση

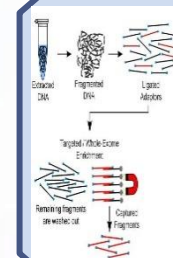
ΚΛΙΝΙΚΗ



LAB

Αλληλούχηση:

- Βιβλιοθήκη
- Στοίχιση
- Παραλλαγές
- Φιλτράρισμα
- Ερμηνεία

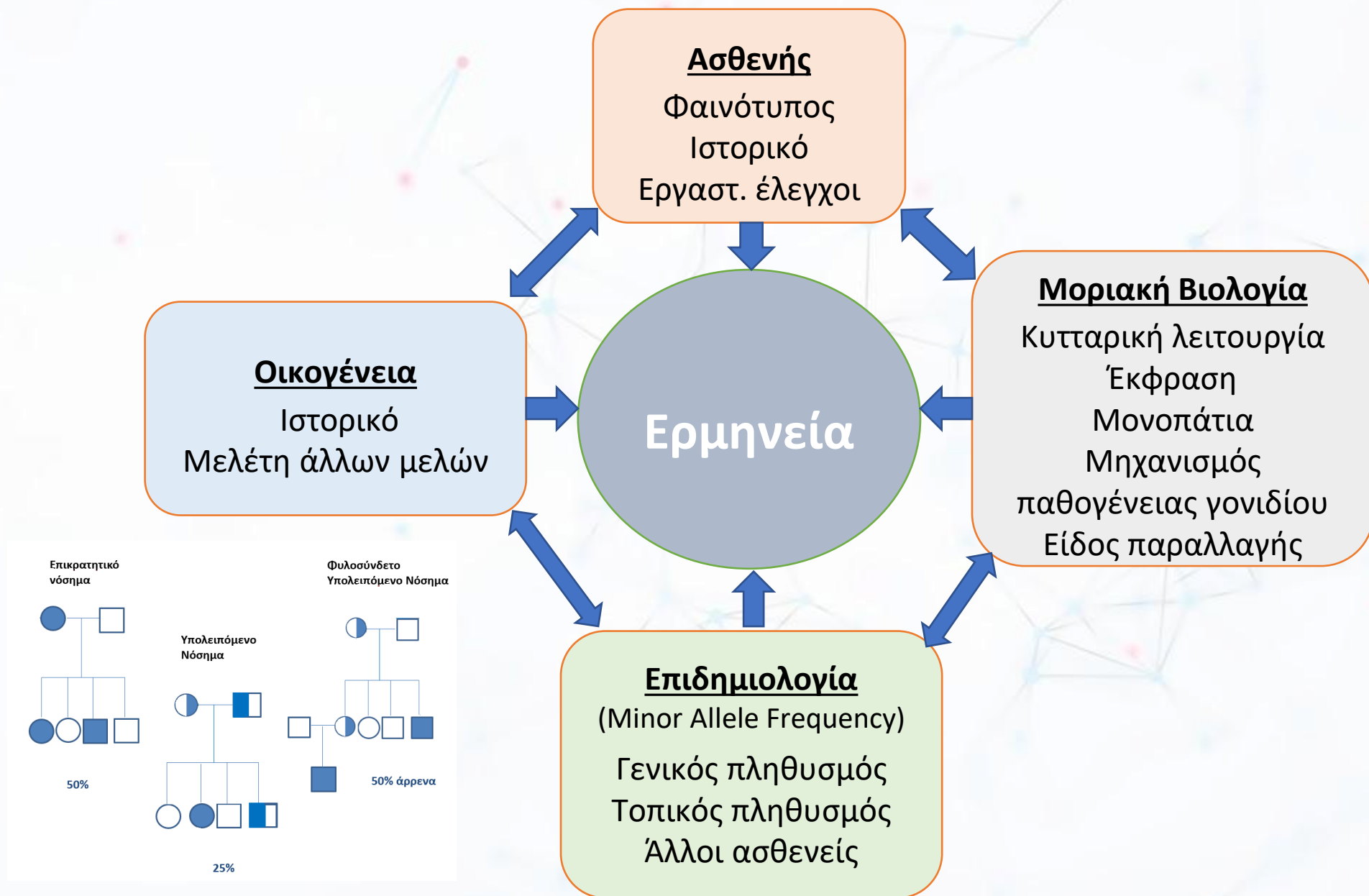


Εργαστηριακό μέρος – Αλληλούχηση

- Πιστοποιημένα εργαστηριακά kits
- Χρήση διαπιστευμένων αλληλουχητών
- Βιοπληροφορική ανάλυση με επικυρωμένους αλγορίθμους
- Ενημερωμένες βάσεις δεδομένων
- Κατευθυντήριες οδηγίες
- **Πολύπλευρη αξιολόγηση και ερμηνεία ευρημάτων**



Χρειάζεται πολυδιάστατη ανάλυση



Η κατηγοριοποίηση των νουκλεοτιδικών παραλλαγών γίνεται με βάση τις οδηγίες του ACMG

- Αποτελούν την αρχή για τον κοινό τρόπο εκτίμησης των γενετικών αλλαγών που ανιχνεύονται κατά τη διάρκεια γενετικών αναλύσεων
- Η αποδοχή τους είναι παγκόσμια, ζητούνται σε δημοσιεύσεις, αλλά και εκθέσεις αποτελεσμάτων (cited >10.000 φορές)
- '



Όταν η παραλλαγή αφορά έλλειμμα μεγαλύτερων περιοχών (αποκαλύπτονται με in silico προγράμματα ανάλυσης) τότε η κατηγοριοποίηση ακολουθεί τις οδηγίες των ACMG και CLIGEN

ACMG-Technical-Standards

Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen)

[Erin Rooney Riggs MS, CGC¹](#), [Erica F. Andersen PhD^{2,3}](#), [Athena M. Cherry PhD⁴](#), [Sibel Kantarci PhD⁵](#), [Hutton Kearney PhD⁶](#), [Ankita Patel PhD⁷](#), [Gordana Raca MD, PhD⁸](#), [Deborah I. Ritter PhD⁹](#), [Sarah T. South PhD¹⁰](#), [Erik C. Thorland PhD⁶](#), [Daniel Pineda-Alvarez MD¹¹](#), [Swaroop Aradhya PhD^{4,11}](#), [Christa Lese Martin PhD¹](#)

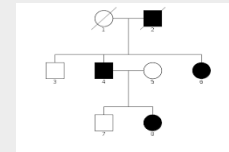


Αλληλούχηση Επόμενης Γενιάς στην κλινική πράξη

ΠΡΟ-ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΦΑΣΗ

Pre-test συμβουλευτική:

- Ιατρικό/οικογενιακό ιστορικό
- Κλινική εξέταση
- Ενημέρωση & συγκατάθεση



ΚΛΙΝΙΚΗ

Κλινικό-εργαστηριακή συνεργασία:

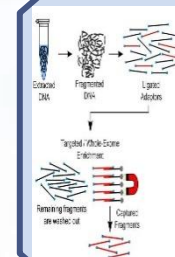
- Κλινική αξιολόγηση ευρημάτων
- From genotype to phenotype
- Στοχευμένες εξετάσεις
- Διαφοροδιάγνωση
- Βιβλιογραφία



LAB

Αλληλούχηση:

- Βιβλιοθήκη
- Στοίχιση
- Παραλλαγές
- Φιλτράρισμα
- Ερμηνεία



ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΦΑΣΗ

Post-test αξιολόγηση:

- Συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου
- Οικογενειακή μελέτη
- Re-phenotyping
- Αποτέλεσμα



ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΦΑΣΗ



Ερμηνεία αποτελεσμάτων - Κατηγορίες

Θετικό αποτέλεσμα

- Ανιχνεύθηκαν παθογόνες (~99% βεβαιότητα) ή πιθανώς παθογόνες (~90% βεβαιότητα) παραλλαγές σε γονίδια που σχετίζονται με τον κλινικό φαινότυπο.

Αρνητικό αποτέλεσμα

- Δεν ανιχνεύθηκαν παθογόνες ή πιθανώς παθογόνες παραλλαγές σε γονίδια σχετιζόμενα με τον κλινικό φαινότυπο σύμφωνα με τα σημερινά δεδομένα.
- Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει μία γενετική αιτιολογία της νόσου.
 - ✓ Δεν καλύπτεται από την παρούσα μεθοδολογία
 - ✓ 7.000 νοσήματα έχουν σχετιζόμενα γονίδια μέχρι σήμερα
 - ✓ Παραλλαγές αβέβαιης κλινικής σημασίας

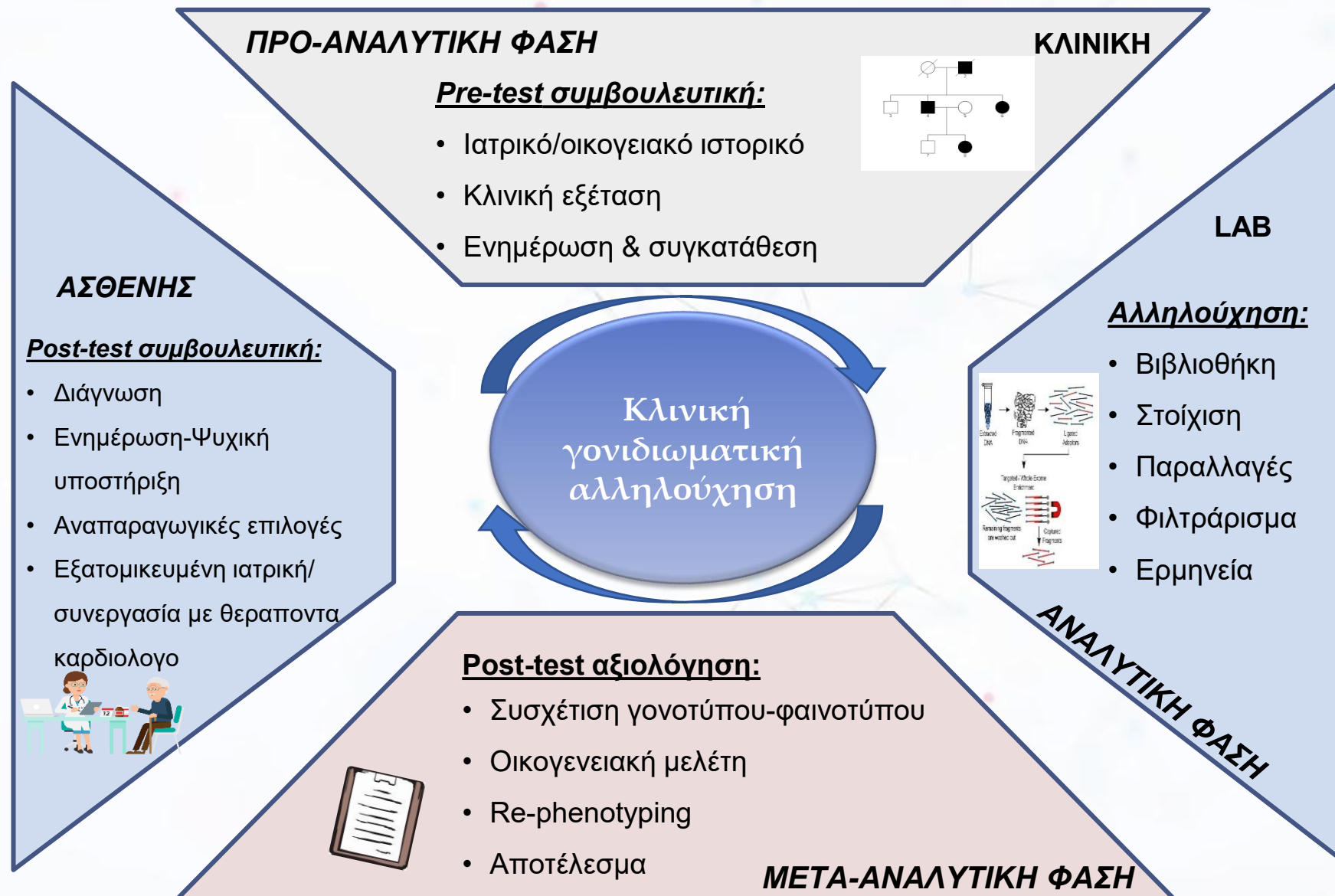
Αβέβαιης Κλινικής Σημασίας (VUS)

- παραλλαγή, πιθανά σχετιζόμενη με τον φαινότυπο αλλά με αδυναμία χαρακτηρισμού της επίπτωσής στη λειτουργία του γονιδίου ή της σχέσης με τη νόσο που μελετάται.
- Δεν συνιστάται τα VUS να χρησιμοποιούνται για κλινικές αποφάσεις.

Κλινική επανεξέταση και επανάλυση των δεδομένων σε 2-3 χρόνια



Αλληλούχηση Επόμενης Γενιάς στην κλινική πράξη

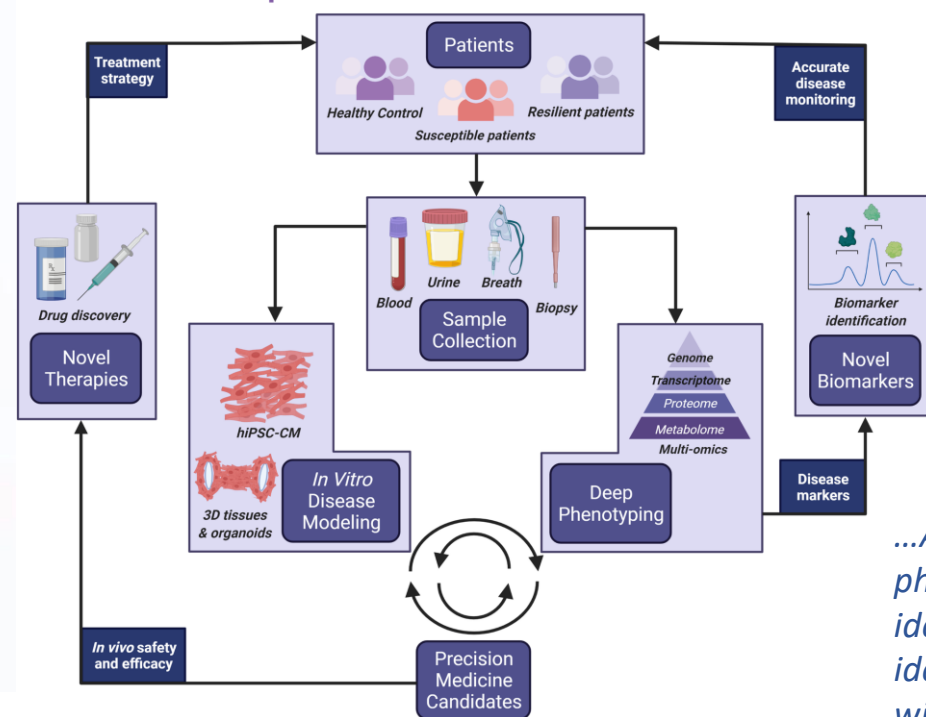




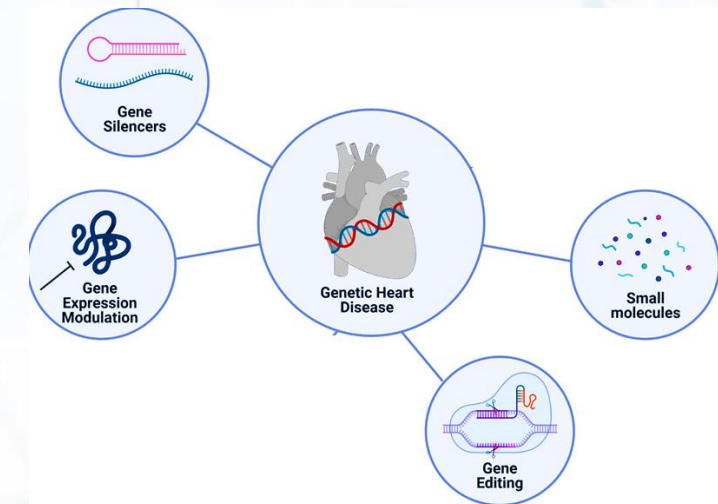
Review: Precision Medicine Approaches for Genetic Cardiomyopathy: Targeting Phospholamban R14del

Frederik E. Deiman¹ · Nils Bomer¹ · Peter van der Meer¹ · Niels Grote Beverborg¹

Workflow to precision medicine in Genetic heart disease

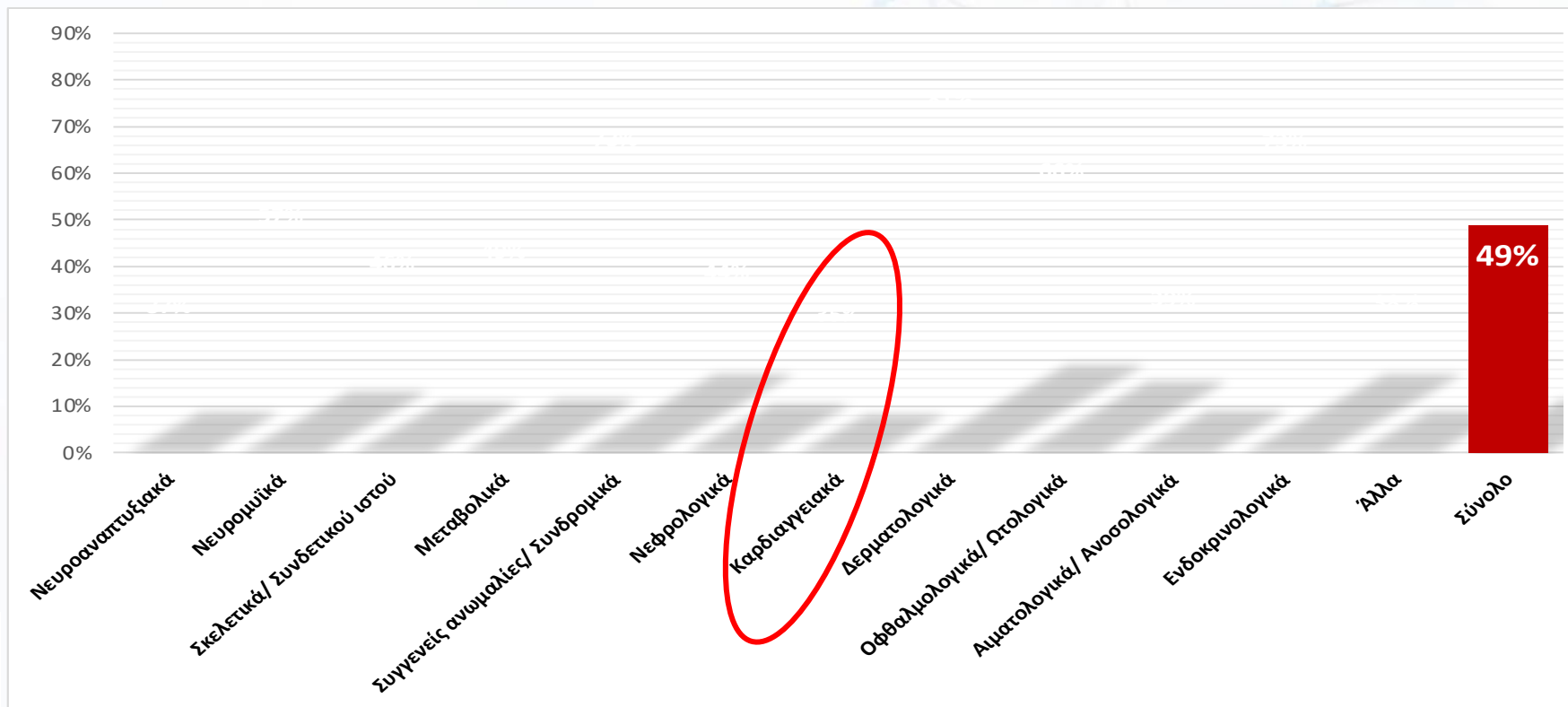


...A workflow for precision medicine in genetic heart disease. A workflow based on deep phenotyping of patient-derived material and in vitro disease modeling. This will allow identification of therapeutic targets and disease modifiers, which will be used for the identification of novel biomarkers and the development of precision medicine. These biomarkers will allow accurate disease monitoring and precision medicine will allow the development of novel treatment strategies that taken together will ultimately help in optimizing patient care.



Exome Sequencing στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής

- **2018-2022:** 1436 δείγματα ασθενών για ES με υποψία σπάνιου γενετικού νοσήματος
- Η διαγνωστική απόδοση κυμαίνεται από το 35% έως 81%,
μέση διαγνωστική απόδοση 49% (n=703)
- Ταυτοποιήθηκαν 195 νέες παραλλαγές και 245 ήδη καταγεγραμμένες παραλλαγές



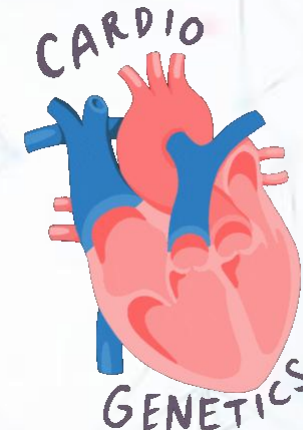
- Marinakis NM et al., Am J Med Genet A, 2021
- Veltra D. Tilemis F. N., Marinakis M. N. et al, Exp Rev, 2023



Exome Sequencing στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής

Γονίδια στα οποία αποκαλύφθηκαν βλάβες σε ασθενείς που παραπέμφθηκαν για καρδιαγγειακές παθήσεις

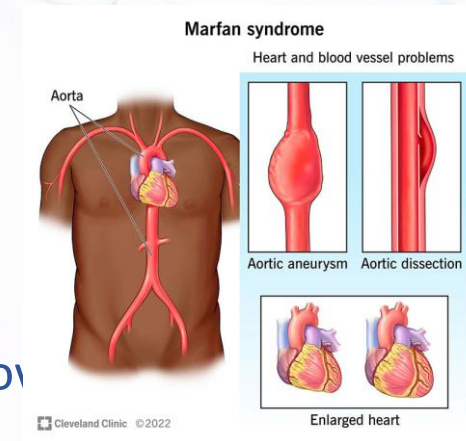
ANDERSEN-TAWIL SYNDROME	KCNJ2
Arrhythmogenic right ventricular dysplasia	TGFB3
MoyaMoya syndrome	RNF213
Hereditary hemorrhagic telangiectasia	ACVRL1
Osler-weber-rendu syndrome	ENG
Osler-weber-rendu syndrome	ACVRL1
Dilated cardiomyopathy	TPM1
Cadasil syndrome	NOTCH3
Long qt syndrome 3	SCN5A
Cardiomyopathy, familial hypertrophic 27	ALPK3
Cardiomyopathy, dilated, 1D	TNNT2
Long QT syndrome 1	KCNQ1
Brugada syndrome 1	SCN5A
Brain small vessel disease with or without ocular anomalies	COL4A1
Cardiomyopathy, hypertrophic, 4	MYBPC3
Alstrom syndrome	ALMS1
Cardiomyopathy, dilated, 1P	PLN
Glomuvenous malformations	GLMN
Mitochondrial complex I deficiency, nuclear type 20	ACAD9
Cardiomyopathy, hypertrophic, 1	MYH7
Tetralogy of Fallot	GATA4



Γονίδια στα οποία αποκαλύφθηκαν βλάβες σε ασθενείς που παραπέμφθηκαν για Νοσήματα/σύνδρομα που περιλαμβάνουν και καρδιαγγειακές παθήσεις

Σε 34 ασθενείς με Marfan/Marfan-like (Ehlers-Danlos, Loeys-Dietz syndrome) σύνδρομα
αποκαλύφθηκαν βλάβες στα γονίδια
FBN1, TGFB1, TGFB2, COL5A1, COL3A1

Σε 29 ασθενείς με σύνδρομο Noonan αποκαλύφθηκαν βλάβες στα γονίδια KRAS, RIT1, MAPK1, MAP2K1



Γενετικός Έλεγχος Πληθυσμού

- Απαιτείται **προσεκτική αξιολόγηση** πριν την εφαρμογή στην κλινική πρακτική:

- Δυνατότητα εφαρμογής
- Οφέλη και κίνδυνοι
- Κλινική χρησιμότητα
- Αποτελέσματα στην υγεία
- Οικονομικό κόστος

Genomics and Population Health Action Collaborative (**GPHAC**)/Population Screening Working Group (2017):

- Ανάπτυξη καταλόγου γονιδίων κατάλληλων για πληθυσμιακό έλεγχο
- Κατάταξη σύμφωνα με CDC Office of Genomics and Precision Public Health:

Tier 1 :

- Ισχυρή επίδραση σε επίπεδο δημόσιας υγείας
- Βάσει τεκμηριωμένων οδηγιών και προληπτικών παρεμβάσεων
- Περιλαμβάνει 3 γονίδια **οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας (FH)**

Tier 2 :

- Κάποια στοιχεία ιατρικής αξιοποίησης
- Όχι ακόμη κατάλληλα για ρουτίνα πληθυσμιακού ελέγχου

Tier 3:

- Περιορισμένα δεδομένα ιατρικής εφαρμογής
- Αντικείμενο περαιτέρω έρευνας

Μελέτη 2023 (ΗΠΑ):

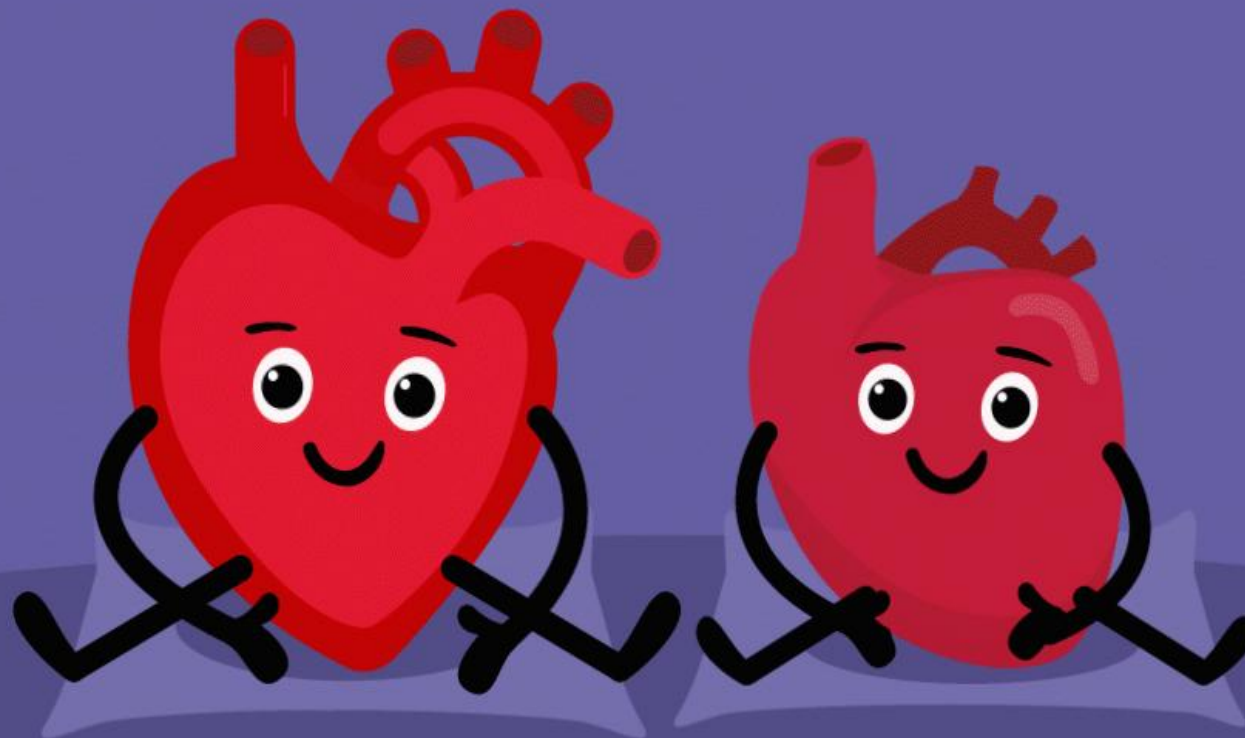
- Έλεγχος γονιδίων της κατηγορίας 1 είναι πιθανώς οικονομικά αποδοτικός για ενήλικες <40 ετών
- Απαιτεί χαμηλό κόστος εξέτασης και διαθεσιμότητα προληπτικών παρεμβάσεων
- Γονίδια των κατηγοριών 2 και 3 παραμένουν υπό αξιολόγηση



Ανακεφαλαίωση εισήγησης

1. Στοιχεία γενετικής. Τι περιλαμβάνει το γενετικό υλικό;
2. Ευρήματα που μπορεί να αποκαλυφθούν με γενετικές εξετάσεις, μελέτη χρωμοσωμάτων και ανάλυση DNA.
3. Φαινόμενα που διαφοροποιούν τους κανόνες του Mendel. Ποικίλη εκφραστικότητα, διεισδυτικότητα.
3. Γνωριμία με την έννοια της επιγενετικής/Μηχανισμοί επιγενετικής ρύθμισης.
4. Μιτοχονδρικό DNA και πρότυπο κληρονομής.
5. Γενετική διάγνωση / Αλληλούχηση επόμενης γενιάς . Δυνατότητες -περιορισμοί.
6. Ευρήματα Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής





ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΟΧΗ ΣΑΣ

