

ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟΣ ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΥΣΤΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ

**Α.ΜΠΑΛΑΣΟΠΟΥΛΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗΣ
ΚΕΝΤΡΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ
ΛΑΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ**

- **ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΥΣΤΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ**
- **ΣΕ ΠΟΙΟΥΣ ΠΑΡΕΧΕΤΑΙ**
- **ΑΠΟ ΠΟΙΟΥΣ ΠΑΡΕΧΕΤΑΙ**
- **ΠΩΣ ΠΑΡΕΧΕΤΑΙ**

- **ΖΕΥΓΑΡΙΑ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ (έμφαση σε περιπτώσεις IVF) Συγγενείς πασχόντων ή ήδη διαπιστωμένων ετεροζυγωτών**
- **Περιστατικά υπογονιμότητας**
- **Περιστατικά με ευρήματα υπερηχογενούς εντέρου στο έμβρυο**
- **Συνήθως κατά την κύηση (συχνά σε προχωρημένη ηλικία κύησης)**
- **Στην πλειονότητα των περιπτώσεων ελέγχεται αρχικά ό ένας εκ των δύο συντρόφων (λόγω και του υψηλού κόστους της εξέτασης)**

- **ΠΑΡΑΠΟΜΠΗ**
- **Συνήθως από τον μαιευτήρα**
- **Συχνά αυτοβούλως λόγω προσωπικής ενημέρωσης (φιλικό περιβάλλον, internet κ.α)**
- **Σημαντικός αριθμός μαιευτήρων εξακολουθεί να μην ενημερώνει για τον έλεγχο**
- **Αναγκαιότητα εντατικοποίησης ενημέρωσης**

- Στην πλειονότητα των περιπτώσεων οι εξεταζόμενοι δεν είναι ενήμεροι πριν τον έλεγχο για το νόσημα (κλινική εικόνα, συχνότητα) ούτε και για τις δυνατότητες του ελέγχου

- Ο έλεγχος πραγματοποιείται σε εργαστήρια του Δημόσιου [Πανεπιστήμιο: (Χωρέμειο, Παν. Ιωαννίνων, Παν. Λάρισα) ΕΣΥ (Λαϊκό Νοσοκομείο)]

και Ιδιωτικού Τομέα

- Δεν υπάρχει επίσημη καταγραφή των παρόχων του πληθυσμιακού ελέγχου ούτε και του αριθμού των εξεταζομένων ετησίως
- Αδυναμία υπολογισμού της επίπτωσης του ελέγχου στις γεννήσεις πασχόντων
- Παρατηρείται μικρή μείωση γεννήσεων πασχόντων (προφορική επικοινωνία με κλινικό κέντρο)
- Πιθανόν να οφείλεται στη μείωση των γεννήσεων τα τελευταία έτη

10. Γεννήσεις - Θάνατοι, 2010 - 2014					
	2010	2011	2012	2013	2014
Γεννήσεις	114.766	106.428	100.371	94.134	92.148
Θάνατοι	109.084	111.099	116.668	111.794	113.740
Διαφορά	5.682	-4.669	-16.297	-17.660	-21.592

7 Οκτωβρίου 2015 ΕΛΣΤΑΤ

ΣΙΓΕ "Σύγχρονα δεδομένα, τρέχουσες προσεγγίσεις στη μοριακή διαγνωστική Θαλασσαιμίας και Κυστικής Ίνωσης-Μη επεμβατικός προγεννητικός έλεγχος" 29/1/2016

Μας ενδιαφέρει ως ΣΙΓΕ μια τέτοια καταγραφή?

ΣΙΓΕ “Σύγχρονα δεδομένα, τρέχουσες προσεγγίσεις στη μοριακή
διαγνωστική Θαλασσαιμίας και Κυστικής Ίνωσης-Μη επεμβατικός
προγεννητικός έλεγχος” 29/1/2016

μεθοδολογία

- Η μεθοδολογία ανάλυσης των μεταλλάξεων ποικίλλει
- Scanning, screening methods
- Sequencing, MLPA
- Απαραίτητος ο καθορισμός ποσοστού κάλυψης του συγκεκριμένου πληθυσμού βάσει βιβλιογραφικής αναφοράς

- **Δεδομένα για τον Ελληνικό πληθυσμό**

“Μοριακή μελέτη και Πρόληψη Κυστικής Ίνωσης στον Ελληνικό πληθυσμό

**Ε.Καναβάκης, Μ.Τζέτη ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2006, 23(5):
455–472 ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2006, 23(5):455–472**

Πίνακας 1. Συχνότητα μεταλλάξεων γονιδίου κυστικής ίνωσης σε 500 πάσχοντες Έλληνες.

Μετάλλαξη	Θέση στο γονίδιο εξόνιο/ιντρόνιο	Αριθμός χρωμοσωμάτων (συχνότητα %)	Απόλυτος μικροδορυφορικών αλληλουχιών ^δ	Πληθυσμιακή ομάδα ^ε
508del	10	545 (54,5)	25-31/32-13	Πανευρωπαϊκή
Δ21+1G>T	Intron 4	63 (6,3)	23-32-13	Ουαλία
3542X	11	39 (3,9)	25-33/34-13	Μεσόγειος
Δ1303K	21	23 (2,3)	25/26-32-13	Μεσόγειος
Δ789+5G>A	Intron 14 ^δ	20 (2,0)	8-18/28-18	Μεσόγειος
Δ822X ^α	13	18 (1,8)	17-30-13	Ελλάδα
Δ1833AA>G	13	15 (1,5)	17-29/31-13	Ισπανία
Δ1158X	19	11 (1,1)	25-34-13	Μεσόγειος
Δ85E	3	9 (0,9)	18-8/24-18/13	
Δ334W	7	8 (0,8)		Πανευρωπαϊκή
Δ74delA	4	8 (0,8)		
Δ1282X	20	8 (0,8)	18-8-17	Ασθενάτι Εβραίοι
Δ677delTA	10	7 (0,7)		Ρωσία
Δ120+1G>A	Intron 16	7 (0,7)		Αφρο-αμερικανική/Αραβ
Δ496X	10	7 (0,7)	18-32-13	
Δ272-26A>G	Intron 17 ^α	7 (0,7)	18-8-18	Μεσόγειος
507del	10	6 (0,6)	26-32-13	Ισπανία
Δ11+3A>G	Intron 5	6 (0,6)		Μεσόγειος
Δ21+3A>G ^β	Intron 4	6 (0,6)		Μεσόγειος
Δ1070Q	17 ^δ	5 (0,5)		Βουλγαρία
Δ1070Q+Δ466X	17 ^α και 10	4 (0,4)		Βουλγαρία
Δ525-1G>A	Intron 9	4 (0,4)		Μεσόγειος
Δ137P ^α	4	4 (0,4)		Ελλάδα
Δ46D ^α	2	3 (0,3)	25-33-13	Ελλάδα
Δ120+1kdelΔ8.5kb	Intron 16	3 (0,3)		Αραβική
Δ184insA	13	3 (0,3)		
Δ351D	11	3 (0,3)		Κέλτικη
Δ110H	4	3 (0,3)		Μεσόγειος
Δ276X	6 ^δ	3 (0,3)		
Δ117C	4	3 (0,3)		
ΔTRdel2,3(21kb)	Διαγραφή των εξονίων 2 και 3	3 (0,3)		Ανατολικο-σλαβική
Δ524X	10	2 (0,2)		
Δ553X	11	2 (0,2)		Ελβετία
Δ152delT ^α	17 ^α	2 (0,2)	18-34-13 και 17-49-18	Ελλάδα
Δ110E ^α	4	2 (0,2)		Ελλάδα
Δ382delA	24	2 (0,2)		Μεσόγειος
Δ898+1G>A	Intron 12	2 (0,2)		Ουαλία
Δ790-1G>C	Intron 14 ^δ	2 (0,2)		
Δ348K	7	2 (0,2)		Μεσόγειος
Δ831X	13	2 (0,2)		Συρία
Δ1065F ^α	17 ^δ	2 (0,2)		Ελλάδα
Δ46D+c.3272-4A>G ^α	2 και Intron 17 ^α	1 (0,1)		Ελλάδα
Δ898+1G>T	Intron 12	1 (0,1)	19-8-13	Ανατολική Ασία

Πίνακας 1. Συχνότητα μεταλλάξεων γονιδίου κυστικής ίνωσης σε 500 πάσχοντες Έλληνες (συνέχεια).

Μετάλλαξη	Θέση στο γονίδιο εξόνιο/ιντρόνιο	Αριθμός χρωμοσωμάτων (συχνότητα %)	Απόλυτος μικροδορυφορικών αλληλουχιών ^δ	Πληθυσμιακή ομάδα ^ε
Δ1445N ^α	24	1 (0,1)		Ελλάδα
Δ1152H	18	1 (0,1)		
Δ296+1G>C ^α	Intron 2	1 (0,1)		Ελλάδα
Δ75L	3	1 (0,1)		
Δ3849+4A>G	Intron 19	1 (0,1)		
Δ1162X	19	1 (0,1)		Πανευρωπαϊκή
Δ1069R	17 ^δ	1 (0,1)		
Δ725K ^α	13	1 (0,1)		Ελλάδα
Δ1052V	17 ^δ	1 (0,1)		
Δ525delT	4	1 (0,1)		Γουγκοσλαβία
Δ347P	7	1 (0,1)		
Δ347H	7	1 (0,1)		
Δ1732X	13	1 (0,1)		
Δ836Y	14 ^α	1 (0,1)		
Δ2751+2T>A ^α	Intron 14 ^α	1 (0,1)	18-32-13	Ελλάδα
Δ1074L	17 ^δ	1 (0,1)		
Δ1497delGG ^α	Intron 9	1 (0,1)	18-30-17	Ελλάδα
Δ813P ^α	13	1 (0,1)		Ελλάδα
Δ1571delG	10	1 (0,1)		Σλαβική
Δ2118del4	13	1 (0,1)		
Δ547insTA	4	1 (0,1)		
Δ1244V	20	1 (0,1)		
ΔQ2X, p.R3W	1	1 (0,1)		
Δ75X	3	1 (0,1)		Ισπανία
Δ1716+1G>A ^α	Intron 10	1 (0,1)		Ελλάδα
Δ41delA	4	1 (0,1)		
Δ565G ^α	12	1 (0,1)		Ελλάδα
Δ352W	7	1 (0,1)		
ΔY247X ^α	6 ^α	1 (0,1)	17-34-13	Ελλάδα
Δ945L	15	1 (0,1)		Ιταλία
Δ1021A ^α	17 ^α	1 (0,1)		Ελλάδα
Δ997F	16	1 (0,1)		Ιταλία
Δ823X ^α	13	1 (0,1)		Ελλάδα
Δ4040delA	21	1 (0,1)		
Δ2752-26A>G ^α	Intron 14 ^α	1 (0,1)	17-25-13	Ελλάδα
Δ11093P	17 ^δ	1 (0,1)		
Δ406-6T>C	Intron 3	1 (0,1)		Μεσόγειος
Δ457TAT>G	4	1 (0,1)		Μεσόγειος
Δ3849+10kbC>T	Intron 19	1 (0,1)		Ασθενάτι Εβραίοι
Δ2418GG>T ^α	13	1 (0,1)		Ελλάδα
Αγνωστες		79 (7,9)		
Όλο		83 (91,9)		

^δΜεταλλάξεις που έχουν βρεθεί μόνο στην Ελλάδα. ^εΤίτλος κοινός μικροδορυφορικός απόλυτος. ^αBobadilla et al 2002, Estivill et al 1997, CFGAC database. Ονοματολογία μεταλλάξεων DNA και πρωτεΐνης: Για τις αλλαγές στα ιντρόνια, ελλείμματα, ενθέσεις και αλλαγές πλαισίου ανάγνωσης δίνεται ο αριθμός του νουκλεοτιδίου για την αλληλουχία cDNA (c-) για αλλαγές αμινοξέων δίνεται ο αριθμός του αμινοξέος στο επίπεδο της πρωτεΐνης (p).

ΣΙΓΕ “Σύγχρονα δεδομένα, τρέχουσες προσεγγίσεις στη μοριακή διαγνωστική Θαλασσαιμίας και Κυστικής Ύνωσης- Μη επεμβατικός προγεννητικός έλεγχος” 29/1/2016

Ποσοστό κάλυψης του Ελληνικού πληθυσμού \approx 92%
Μεγαλύτερο από αυτό το ποσοστό δεν προκύπτει από
βιβλιογραφική αναφορά

Ποσοστό κάλυψης 100% (αναφέρεται απο εργ. Ιδιωτικού
τομέα) είναι ουτοπικό... [Castelliani et al. \(2008\) ...1-5% of CF
alleles remaining undetermined,](#)

[...However, even the most extensive CFTR mutation screening
tests fail to detect all CF alleles in most CF populations.](#)

- Η Ελληνική βιβλιογραφική παραπομπή δεν συμπεριλαμβάνει μεγάλες ελλείψεις και διπλασιασμούς
- Castelliani et al (2008)Evidence has accumulated that a group of intragenic rearrangements (i.e. large deletions and to lesser a extent insertions) (18) account for about 1-3 % of all CFTR mutations
- Συνεπώς δεν υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα τα οποία δικαιολογούν ποσοστό κάλυψης του Ελληνικού πληθυσμού μεγαλύτερο του 95%

Το ποσοστό κάλυψης διαφοροποιείται ανάλογα με την εθνική καταγωγή του εξεταζόμενου

Απαραίτητη η γνώση δημογραφικών στοιχείων του εξεταζόμενου και η ενημέρωσή του σχετικά ([Bobadilla JL, Macek M Jr, Fine JP, Farrell PM. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations —correlation with incidence data and application to screening. Hum Mutat 2002 Jun;19 \(6\):575–606. \[PubMed: 12007216\]](#))

Σε περιπτώσεις όπου αναφέρεται οικογενειακό ιστορικό της νόσου, θα πρέπει να αναζητείται ο γονότυπος του πάσχοντος/ετεροζυγώτη

- **CFTR mutations may be clustered into four groups according to their predicted clinical consequences:**

1) - Mutations that cause CF disease

2) - Mutations that result in a CFTR-related disorder

3) - Mutations with no known clinical consequence

4) - New alterations

- Για τις τρεις πρώτες κατηγορίες γίνεται αναφορά σε
- <http://www.genet.sickkids.on.ca>
- <http://www.cftr2.org/>
- **Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice.** D. Castellania,^{*} H. Cuppensb, M. Macek Jr.c, J.J. Cassimanb, E. Keremd, P. Duriee, E. Tullisf, B.M. Assaela, C. Bombierig, A. Brownh, T. Casalsi, M. Claustresj, G.R. Cuttingk, E. Dequekerb, J. Dodgel, I. Doullm, P. Farrelln, C. Fereco, E. Girodonp, M. Johannessonq, B. Keremr, M. Knowless, A. Munckt, P.F. Pignattig, D. Radojkovicu, P. Rizzottiv, M. Schwarzw, M. Stuhmannx, M. Tzetisy, J. Zielenskie, and J.S. Elbornz *J Cyst Fibros.* 2008 May ; 7(3): 179–196. doi:10.1016/j.jcf.2008.03.009
- **Πλήθος βιβλιογραφικών αναφορών**

Νέες- μη καταγεγραμμένες αλλαγές

- **Αυξάνεται η συχνότητα ανίχνευσης τους, λόγω χρήσης νέων τεχνολογιών**
- **Ανίχνευση κυρίως σε άτομα του γενικού πληθυσμού**
- **Μείζον πρόβλημα στην παροχή γενετικής συμβουλευτικής**

- Χρήση *in silico* ανάλυσης (κατα προτίμηση περισσότερων του ενός προγραμμάτων) ως ένδειξη μόνον
- Εκτίμηση της επίπτωσης ανάλογα με το είδος της αλλαγής
- Αν δεν προκύπτει σαφές συμπέρασμα, αναφορά ως εύρημα άγνωστης κλινικής σημασίας
- Χρήσιμη βιβλιογραφική αναφορά : “Cystic fibrosis genetic counseling difficulties due to the identification of novel mutations in the CFTR gene.” Myrto Poulou a, Irini Fylaktou a, Maria Fotoulaki b, Emmanuel Kanavakis a, Maria Tzetis a,* Journal of Cystic Fibrosis 11 (2012) 344-348

Απαντητικά έντυπα

- Οι συχνότερες μεταλλάξεις είναι γνωστές με την παραδοσιακή ονοματολογία τους
- Η legacy nomenclature είναι αποδεκτή αλλά θα πρέπει να συνοδεύεται και από την κατά HGVS ονοματολογία

Τα ευρήματα αναφέρονται αναλόγως ως:

- ***Παθογόνες μεταλλάξεις***
- ***Αλλαγές αβέβαιης κλινικής σημασίας***
- ***Αλλαγές άγνωστης κλινικής σημασίας***
- ***Πολυμορφισμοί- αλλαγές άνευ κλινικής σημασίας
Δεν πρέπει να συμπεριλαμβάνονται στην απάντηση,
γεγονός το οποίο πρέπει να δηλώνεται στο απαντητικό
έντυπο.***

INFORMED CONSENT

Επιβεβλημένο για όλες τις γενετικές αναλύσεις