



ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ

Φροντιστήριο 7^ο



Reporting: Αναφορά γενετικής ανάλυσης

Reporting -Αναφορά γενετικής ανάλυσης

Συνοπτικό παράδειγμα δομής:

1. Ταυτότητα ασθενούς και εξέτασης
2. Κλινική ένδειξη – φαινότυπος
3. Περιγραφή μεθόδου (NGS τύπος, πλατφόρμα, κάλυψη, περιορισμοί)
4. Πολιτική ταξινόμησης / αναφοράς παραλλαγών
5. Αναλυτική παράθεση ευρημάτων (πίνακας παραλλαγών)
6. Ερμηνεία – γονότυπος/φαινότυπος, επιπτώσεις για ασθενή και οικογένεια
7. Συμπέρασμα
8. Συστάσεις και γενετική συμβουλευτική
9. Υπογραφές – διαπίστευση

.....3. Τεχνική περιγραφή μεθόδου NGS

- Ποιότητα και κάλυψη
 - Μέση κάλυψη (average depth) π.χ. «Μέση κάλυψη εξονίων 100x»
 - Ποσοστό των στόχων >20x ή 30x (π.χ. «>95% των εξονικών περιοχών των γονιδίων του πάνελ καλύφθηκαν με βάθος $\geq 20x$ »).
 - Αναφορά περιοχών με συστηματικά προβλήματα κάλυψης (π.χ. GC-rich περιοχές, ομόλογες περιοχές, ψευδογονίδια)
- Περιορισμοί της μεθόδου (υποχρεωτικό στοιχείο)

Η εξέταση δεν ανιχνεύει συνήθως:

 - Μεγάλες αναδιατάξεις (CNVs, μεγάλες del/dup) αν δεν υπάρχει ειδική ανάλυση
 - Επαναλήψεις (repeat expansions)
 - Μεταλλάξεις σε μη καλυπτόμενες περιοχές (βαθιά ενδογονιδιακές, ρυθμιστικές)
 - Μωσαϊκισμό χαμηλού βαθμού

Αναφορά εάν έγιναν επιπλέον αναλύσεις (π.χ. CNV calling, mtDNA).

4. Πολιτική αναφοράς και ταξινόμηση παραλλαγών

Κλίμακα ταξινόμησης (ACMG/AMP)

- Class 5: Παθογόνος (Pathogenic)
- Class 4: Πιθανώς παθογόνος (Likely pathogenic)
- Class 3: Αβέβαιης κλινικής σημασίας (Variant of Uncertain Significance, VUS)
- Class 2: Πιθανώς καλοήθης
- Class 1: Καλοήθης

5. Αποτελέσματα

- Τύπος παραλλαγής: missense / nonsense / frameshift / splice-site / in-frame indel κ.λπ.
- Γονιδιακή θέση: χρωμόσωμα, συντεταγμένες (GRCh37 ή GRCh38)
- Ζυγωτία: ετερόζυγη, ομόζυγη, σύνθετος ετεροζυγωτισμός, hemizygous κ.ά.
- Κληρονομικότητα (όπου υπάρχει οικογενειακή μελέτη): de novo, κληρονομημένη
- Συχνότητα σε πληθυσμιακές βάσεις (gnomAD κ.λπ., αν σχετικό)
- Κατάταξη παραλλαγής (ACMG class)
- Σύντομη φράση για τη συνάφεια με το φαινότυπο (π.χ. «Συμβατή με την κλινική εικόνα αυτοσωμικού υπολειπόμενου [νόσου]»)

5.2 Ευρήματα μη ανίχνευσης

Ρητή φράση:

«Δεν ανιχνεύθηκε παθογόνος ή πιθανώς παθογόνος παραλλαγή σε γονίδια που σχετίζονται με την υποκείμενη κλινική εικόνα, εντός των περιορισμών της μεθόδου που περιγράφονται στην αναφορά.»

.....6. Ερμηνεία – Κλινική συσχέτιση

Αυτή η ενότητα είναι το “κορμί” της κλινικής ερμηνείας και πρέπει να είναι σαφώς διακριτή από την καθαρά τεχνική περιγραφή.

Περιλαμβάνει:

- **Συσχέτιση γονότυπου – φαινότυπου**

Περιγραφή της γνωστής σχέσης του γονιδίου με το κλινικό σύνδρομο (με αναφορά σε κληρονομικότητα, ηλικία έναρξης, φάσμα συμπτωμάτων).

Εξήγηση πώς η συγκεκριμένη παραλλαγή υποστηρίζει ή όχι τη διάγνωση (in silico δεδομένα, λειτουργικές μελέτες, προηγούμενες αναφορές στη βιβλιογραφία/βάσεις δεδομένων).

- **Κλινική σημασία του ευρήματος**

Π.χ. «Το αποτέλεσμα υποστηρίζει/επιβεβαιώνει τη διάγνωση [νόσου].»

Βαθμός βεβαιότητας της διάγνωσης (τεκμηριωμένη, πιθανή, αβέβαιη).

6. Ερμηνεία – Κλινική συσχέτιση

- **Συνέπειες για τον ασθενή**

Πιθανές επιπτώσεις στην πρόγνωση, παρακολούθηση, επιλογές θεραπείας ή φαρμακογενετική, όπου υπάρχουν δεδομένα.

- **Συνέπειες για την οικογένεια**

- Κίνδυνος υποτροπής σε μελλοντική κύηση (ανάλογα με την κληρονομικότητα).
- Προτάσεις για έλεγχο συγγενών, προγεννητικό ή προεμφυτευτικό έλεγχο στις κατάλληλες περιπτώσεις, σύμφωνα με συστάσεις διεθνών οργανισμών που χρησιμοποιούν NGS στην προγεννητική διάγνωση.

- **Διαχείριση παραλλαγών αβέβαιης σημασίας (VUS), όταν υπάρχουν**

- Σαφής φράση ότι η παραλλαγή «δεν μπορεί επί του παρόντος να θεωρηθεί είτε παθογόνος είτε καλοήθης».
- Πρόταση για επανεκτίμηση στο μέλλον, ειδικά αν συγκεντρωθούν νέα δεδομένα.

Προαιρετικά, σύσταση για οικογενειακή μελέτη ως μέσο επαναταξινόμησης.

7. Συμπέρασμα (Summary statement)

- **Παθογόνο εύρημα**

«Βρέθηκε παθογόνος παραλλαγή στο γονίδιο [X], συμβατή με αυτοσωμική επικρατή/υπολειπόμενη [νόσο]. Το εύρημα αυτό εξηγεί την κλινική εικόνα του/της ασθενούς.»

- **Μόνο VUS**

«Δεν εντοπίστηκε παθογόνος ή πιθανώς παθογόνος παραλλαγή σε γονίδια σχετιζόμενα με την κλινική εικόνα. Εντοπίστηκε παραλλαγή αβέβαιης κλινικής σημασίας στο γονίδιο [X], της οποίας η σχέση με τη νόσο παραμένει αδιευκρίνιστη.»

- **Αρνητικό αποτέλεσμα**

«Δεν ανιχνεύθηκε παραλλαγή που να εξηγεί την κλινική εικόνα, εντός των περιορισμών της μεθόδου. Το αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει γενετική αιτιολογία.»

8. Συστάσεις – Γενετική συμβουλευτική

Οι οδηγίες τονίζουν ότι τα NGS αποτελέσματα πρέπει να εντάσσονται σε πλαίσιο γενετικής συμβουλευτικής πριν και μετά την εξέταση.

Σύσταση για:

- Γενετική συμβουλευτική από εξειδικευμένο κλινικό γενετιστή.
- Πιθανές συμπληρωματικές εξετάσεις (π.χ. MLPA/CNV αν υποπτευόμαστε μεγάλες αναδιατάξεις, στοχευμένος έλεγχος σε συγγενείς).
- Επανεξέταση δεδομένων NGS στο μέλλον, ειδικά σε WES/WGS, με βάση νέες γνώσεις για γονίδια και παραλλαγές.



Ένζυμα επιδιόρθωσης DNA

Επιδιόρθωση DNA

Η επιδιόρθωση αταίριαστων ζευγών βάσεων (mismatch repair, MMR): επιδιόρθωση με εκτομή που συνδέεται λειτουργικά με την αντιγραφή του DNA.

Τα αταίριαστα ζεύγη μεταξύ των αλυσίδων του DNA που προκύπτουν κατά την αντιγραφή, εντοπίζονται για αντικριστές βάσεις ή ενθέσεις/ελλείψεις που δεν ζευγαρώνουν σωστά.

1. Mismatch repair (MMR)

- ✓ Διορθώνει λάθη που διέφυγαν από το proofreading της πολυμεράσης.
- ✓ Κρίσιμο για τη σταθερότητα μικροδορυφορικών περιοχών.

MMR και καρκινογένεση

- Διαταραχή MMR αυξάνει μεταλλάξεις και συνδέεται με κληρονομικά σύνδρομα καρκίνου.

MutS/MutL:

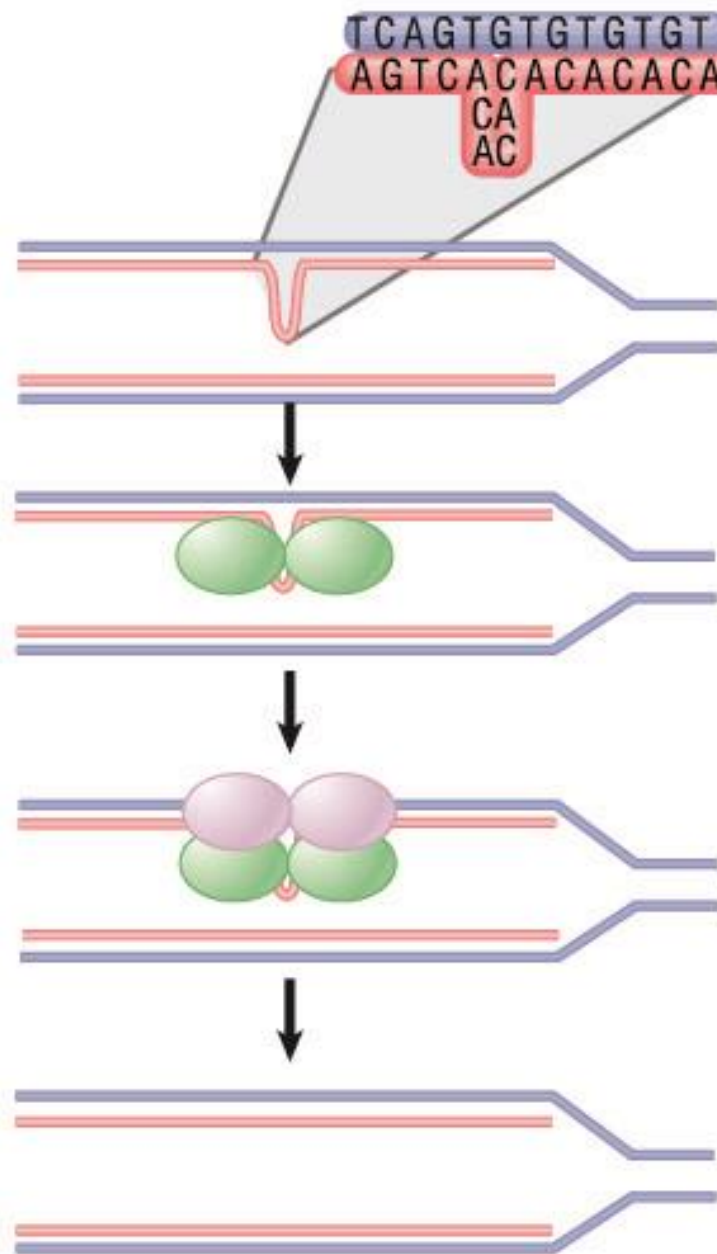
επιδιόρθωση αταίριαστων ζευγών
βάσεων που παράγονται από
ολίσθηση κατά την αντιγραφή

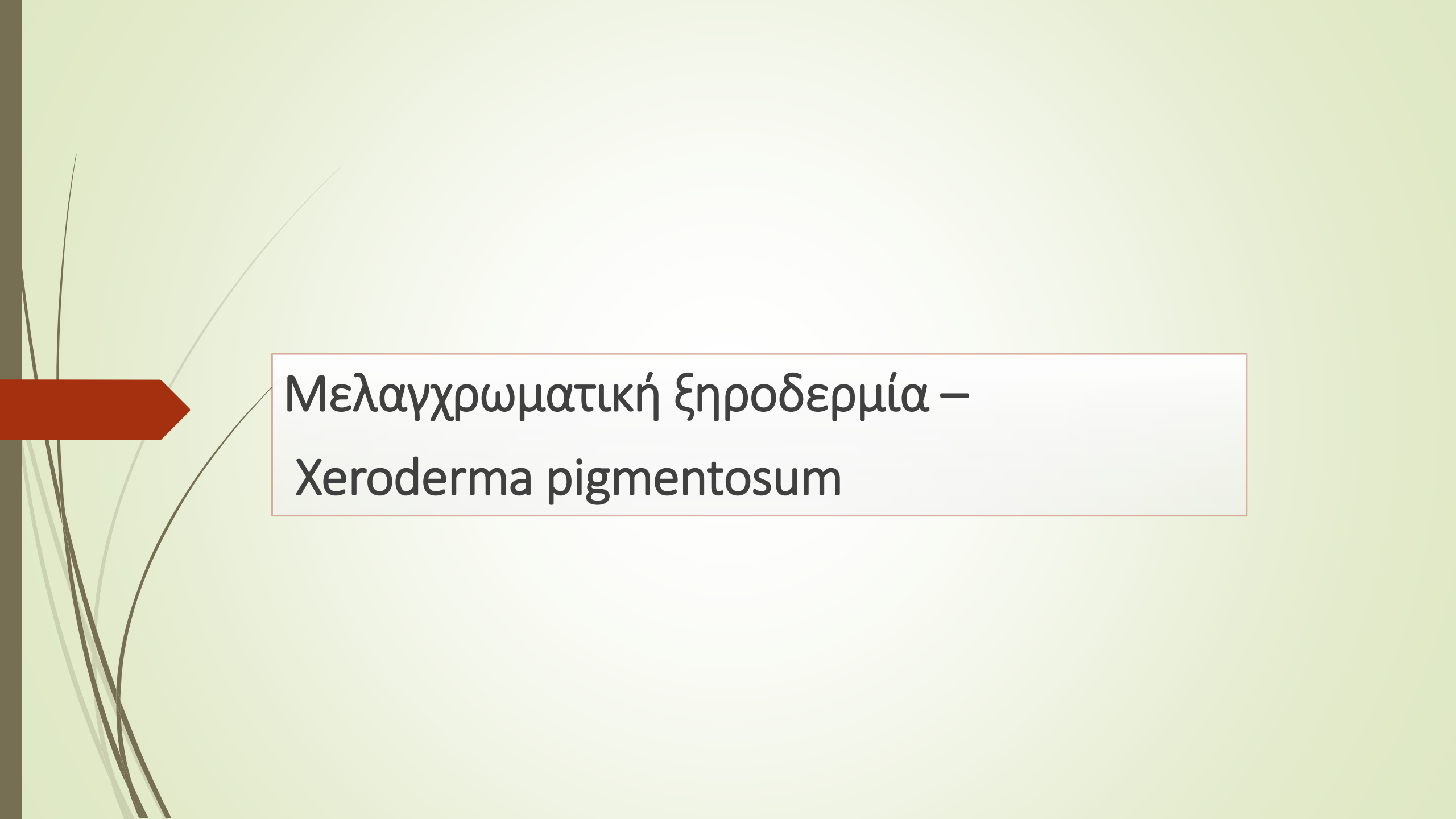
Η ολίσθηση κατά την
αντιγραφή δημιουργεί
έναν μονόκλωνο βρόχο

Η MutS προσδένει
στο αταίριαστο ζεύγος
βάσεων

Προσδένεται η MutL

Το αταίριαστο ζεύγος
βάσεων αφαιρείται με
τη δράση εξωνουκλεάσης,
ελικάσης, DNA πολυμε-
ράσης και λιγάσης





Μελαγχρωματική ξηροδερμία –
Xeroderma pigmentosum

Μελαγχρωματική ξηροδερμία – Xeroderma pigmentosum

- ✓ Σπάνιο κληρονομικό σύνδρομο υπερευαισθησίας στην υπεριώδη ακτινοβολία.
- ✓ Οφείλεται σε ελαττωματική επιδιόρθωση UV προκαλούμενων βλαβών DNA.
- ✓ Κύριο μοριακό υπόβαθρο: διαταραχή του NER.

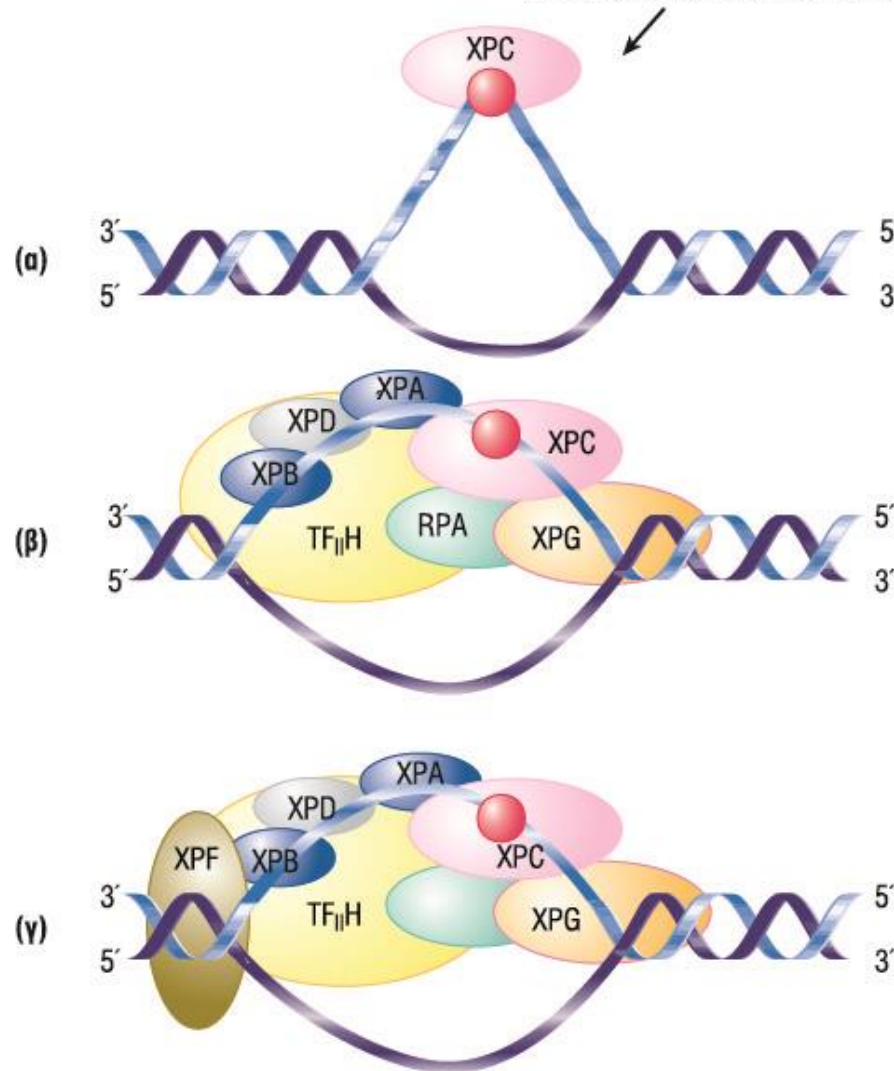
Μελαγχρωματική ξηροδερμία – Xeroderma pigmentosum

Βλάβη από UV ή άλλη ογκώδης αλλοίωση



Μονοπάτι της καθολικής
επιδιόρθωσης του γονιδιώματος
(*global genome repair, GG-NER*)

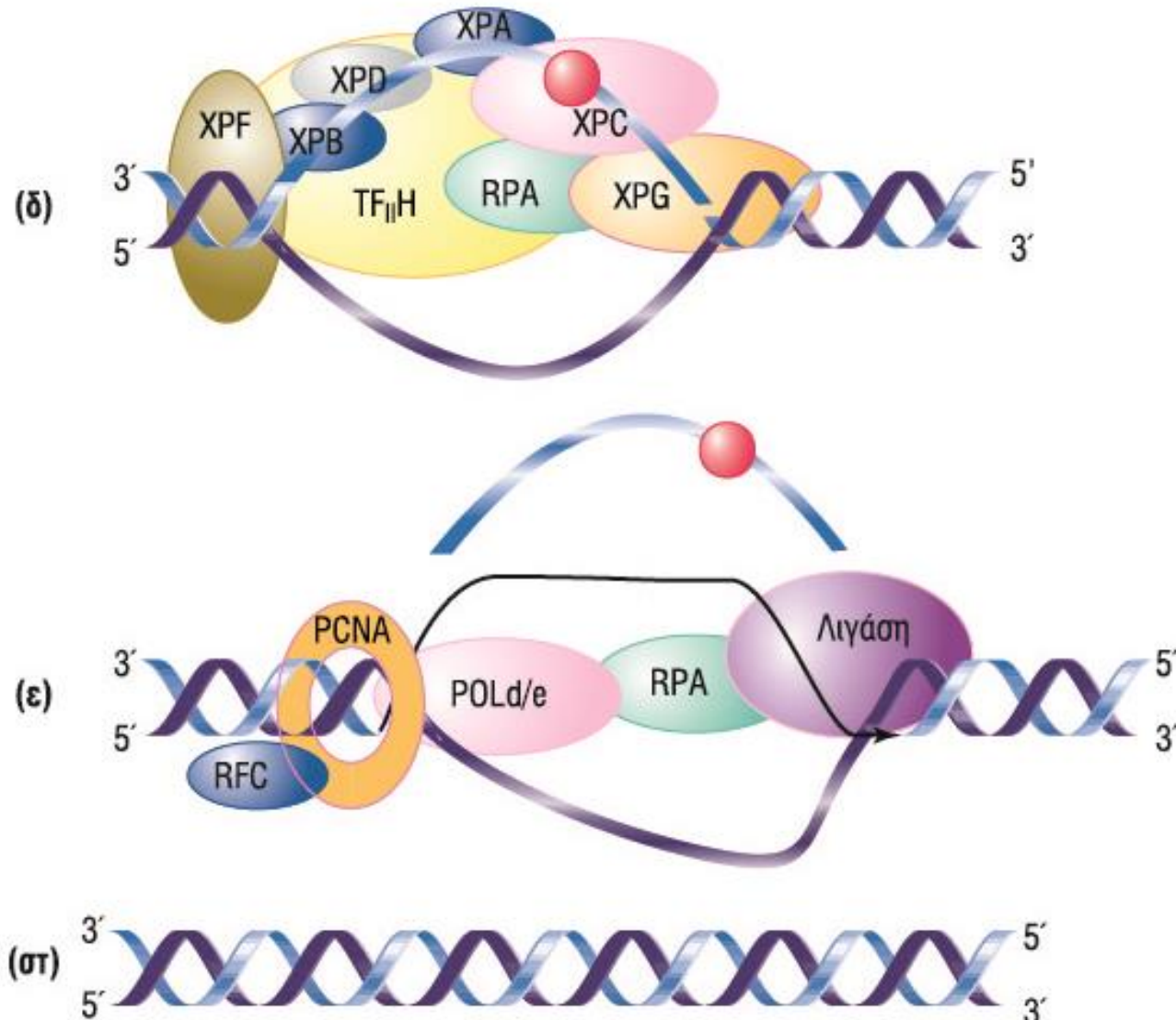
Μονοπάτι της επιδιόρθωσης
συζευγμένης με τη μεταγραφή
(*Transcription-coupled repair, TC-NER*)



Μονοπάτι καθολικής επιδιόρθωσης του γονιδιώματος (*global genome repair, GG-NER*), :

- η **XPC** αναγνωρίζει βλάβη στο γονιδίωμα
- στρατολογεί τον μεταγραφικό παράγοντα **TFIIH**, που περιέχει τις **XPB** και **XPD**.
- ένα σύμπλοκο που περιέχει τις ενδονουκλεάσες **XPF/ERCC1** και **XPG** κάνει διπλές εντομές (εγκοπές) για την εκτομή της περιοχής που έχει υποστεί βλάβη.
- Οι πρωτεΐνες **TFIIH**, **XPF** και **XPG** έχουν κοινές λειτουργίες και στα δύο μονοπάτια, όπου η διαδικασία ολοκληρώνεται με κάλυψη κενών από τη DNA πολυμεράση και τελικά σύνδεση με τη λιγάση.

Μελαγχρωματική ξηροδερμία – Xeroderma pigmentosum



Μονοπάτι καθολικής επιδιόρθωσης του γονιδιώματος (global genome repair, GG-NER), :

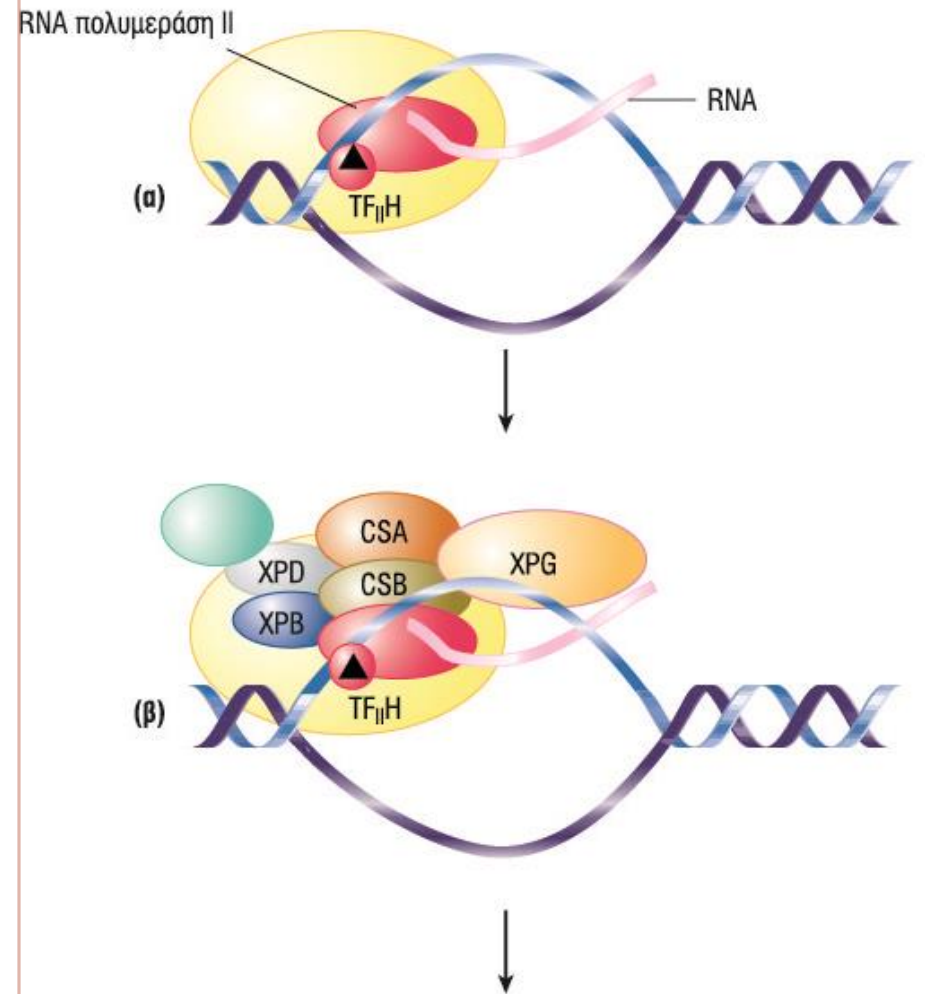
- η XPC αναγνωρίζει βλάβη στο γονιδίωμα
- στρατολογεί τον μεταγραφικό παράγοντα TFIIH, που περιέχει τις XPB και XPD.
- ένα σύμπλοκο που περιέχει τις ενδονουκλεάσες XPF/ERCC1 και XPG κάνει διπλές εντομές (εγκοπές) για την εκτομή της περιοχής που έχει υποστεί βλάβη.
- Οι πρωτεΐνες TFIIH, XPF και XPG έχουν κοινές λειτουργίες και στα δύο μονοπάτια, όπου η διαδικασία ολοκληρώνεται με κάλυψη κενών από τη DNA πολυμεράση και τελικά σύνδεση με τη λιγάση.

Μελαγχρωματική ξηροδερμία

- ✓ Μονοπάτι της επιδιόρθωσης συζευγμένης με τη μεταγραφή (Transcription-coupled repair, TC-NER)- επιδιορθώνει τη μεταγραφόμενη αλυσίδα των ενεργών γονιδίων.
- ✓ Η αναγνώριση της βλάβης ξεκινά από το συμβάν της καθηλωμένης RNA πολυμεράσης II, η οποία στη συνέχεια στρατολογεί την **CSB**, έναν ATP-εξαρτώμενο αναδιαμορφωτή της χρωματίνης.
- ✓ Οι πρωτεΐνες TFIIH, XPF και XPG έχουν κοινές λειτουργίες και στα δύο μονοπάτια, όπου η διαδικασία ολοκληρώνεται με κάλυψη κενών από τη DNA πολυμεράση και τελικά σύνδεση με τη λιγάση.

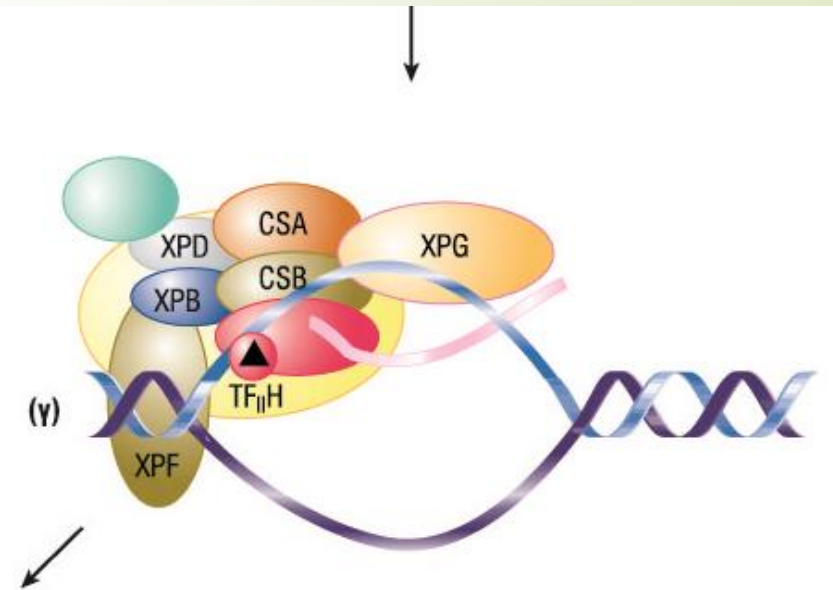
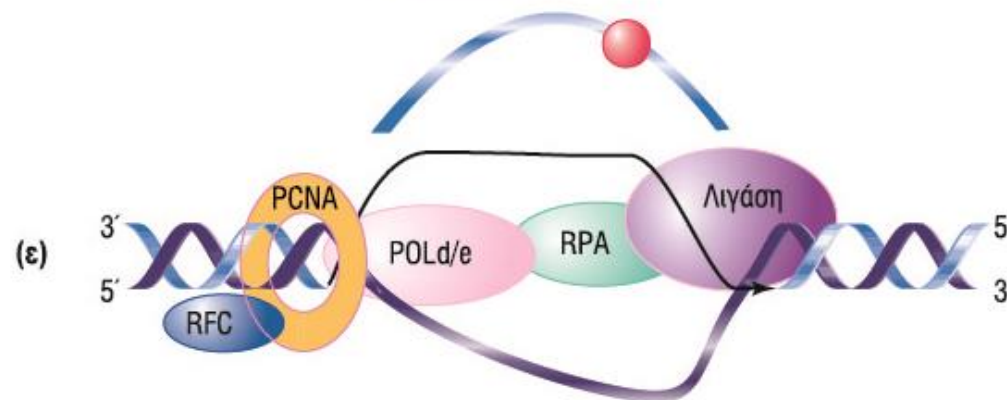


Μονοπάτι της επιδιόρθωσης συζευγμένης με τη μεταγραφή (Transcription-coupled repair, TC-NER)



Μελαγχρωματική ξηροδερμία – Xeroderma pigmentosum

- ✓ Μονοπάτι της επιδιόρθωσης συζευγμένης με τη μεταγραφή (Transcription-coupled repair, TC-NER)- επιδιορθώνει τη μεταγραφόμενη αλυσίδα των ενεργών γονιδίων.
- ✓ Η αναγνώριση της βλάβης ξεκινά από το συμβάν της καθηλωμένης RNA πολυμεράσης II, η οποία στη συνέχεια στρατολογεί την CSA, έναν ATP-εξαρτώμενο αναδιαμορφωτή της χρωματίνης.
- ✓ Οι πρωτεΐνες TFIIH, XPF και XPG έχουν κοινές λειτουργίες και στα δύο μονοπάτια, όπου η διαδικασία ολοκληρώνεται με κάλυψη κενών από τη DNA πολυμεράση και τελικά σύνδεση με τη λιγάση.



Μελαγχρωματική ξηροδερμία – Xeroderma pigmentosum

Κλινικά χαρακτηριστικά της ΧΡ

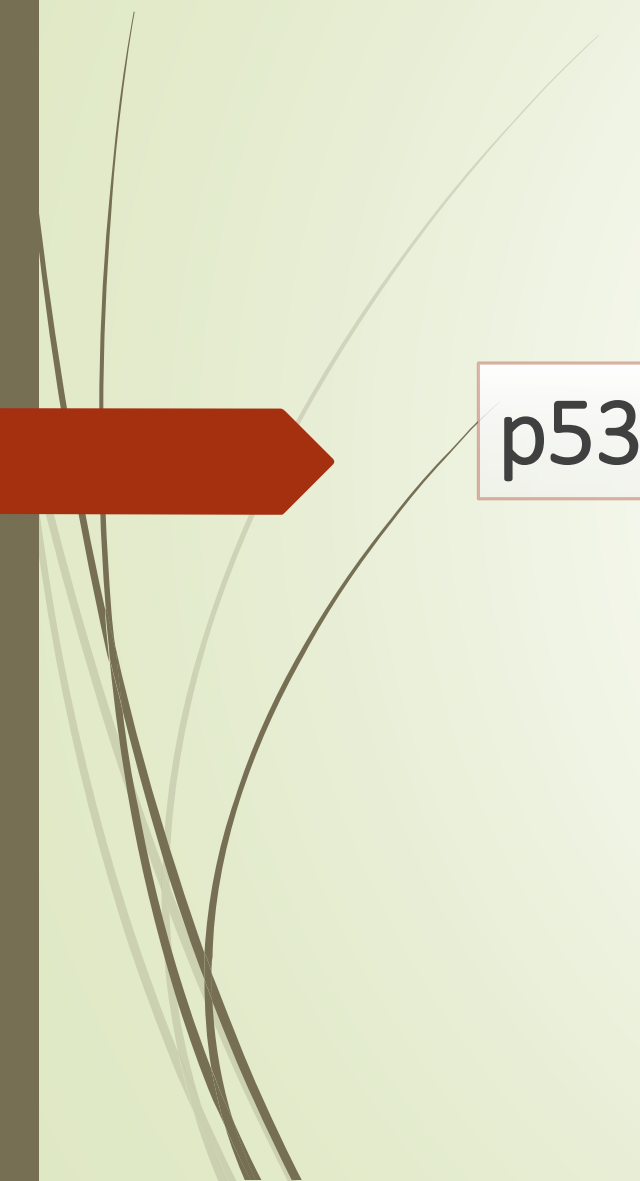
- ✓ Ακραία φωτοευαισθησία και πρώιμες δερματικές αλλοιώσεις.
- ✓ Πολύ αυξημένος κίνδυνος για βασικοκυτταρικό, ακανθοκυτταρικό και μελάνωμα.
- ✓ Σε ορισμένους ασθενείς εμφανίζονται νευρολογικές εκδηλώσεις.

Άλλες νόσοι που σχετίζονται με τα ίδια ένζυμα

- ✓ Cockayne syndrome (CS).
- ✓ Trichothiodystrophy (TTD).
- ✓ επικαλυπτόμενα σύνδρομα ΧΡ/CS.

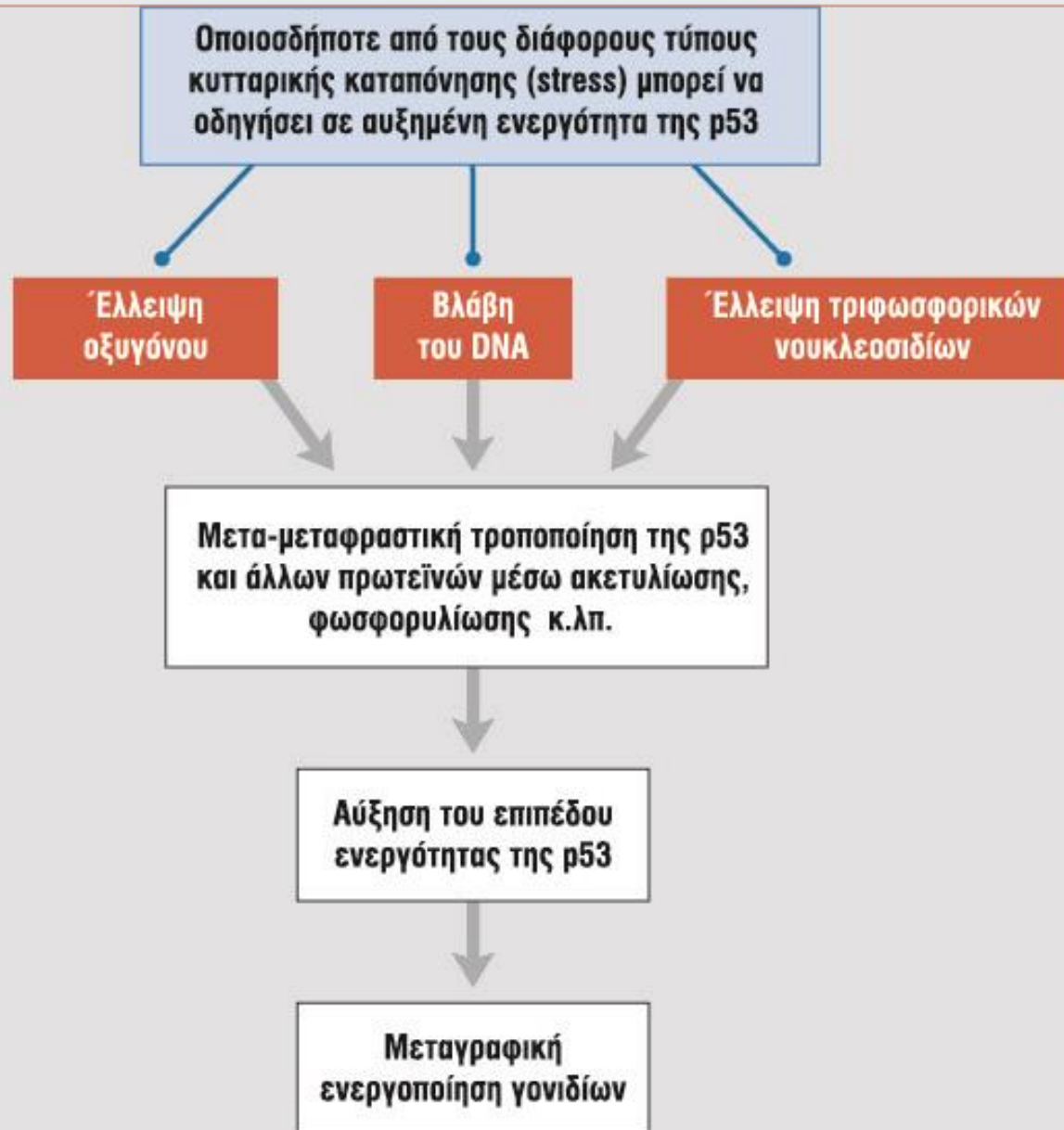
Μελαγχρωματική ξηροδερμία – Xeroderma pigmentosum

- ✓ Η ΧΡ κληρονομείται συνήθως αυτοσωμικά υπολειπόμενα.
- ✓ Το ίδιο ισχύει γενικά και για CS και TTD.
- ✓ Κίνδυνος επανεμφάνισης για αδέρφια: 25% όταν και οι δύο γονείς είναι φορείς.



p53

Ο ρόλος του p53 στην ενεργοποίηση της μεταγραφής και της απόπτωσης



Ο ρόλος του p53 στην ενεργοποίηση της μεταγραφής και της απόπτωσης

