



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ  
*επένδυση στην κοινωνία της γνώσης*

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

## ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΑΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΑΙΡΟΠΟΙΗΣΗ ΓΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟΦΟΙΤΩΝ ΑΕΙ (ΠΕΓΑ)

*«Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή»*

**ΜΕΝΔΕΛΙΚΑ  
ΚΛΗΡΟΝΟΜΟΥΜΕΝΑ  
ΝΟΣΗΜΑΤΑ**

Νοσήματα κληρονομούμενα με μενδελικό τρόπο : ~4000

Από αυτά, τα ~3300 οφείλονται σε μεταλλάξεις σε ~2000 γονίδια

≥50% → αυτοσωματικά επικρατή

~35% → αυτοσωματικά υπολειπόμενα

≤10% → συνδεδεμένα με το χρωμόσωμα X

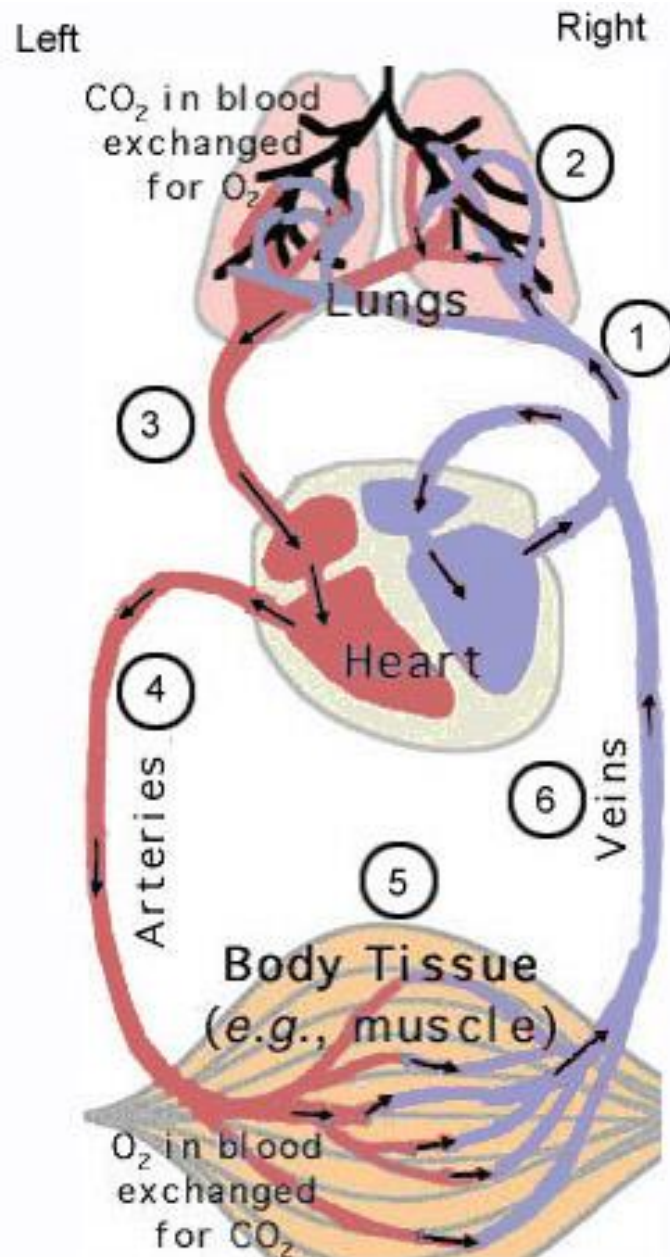
**OMIM**  
*Online Mendelian Inheritance in Man*



Johns  
Hopkins  
University

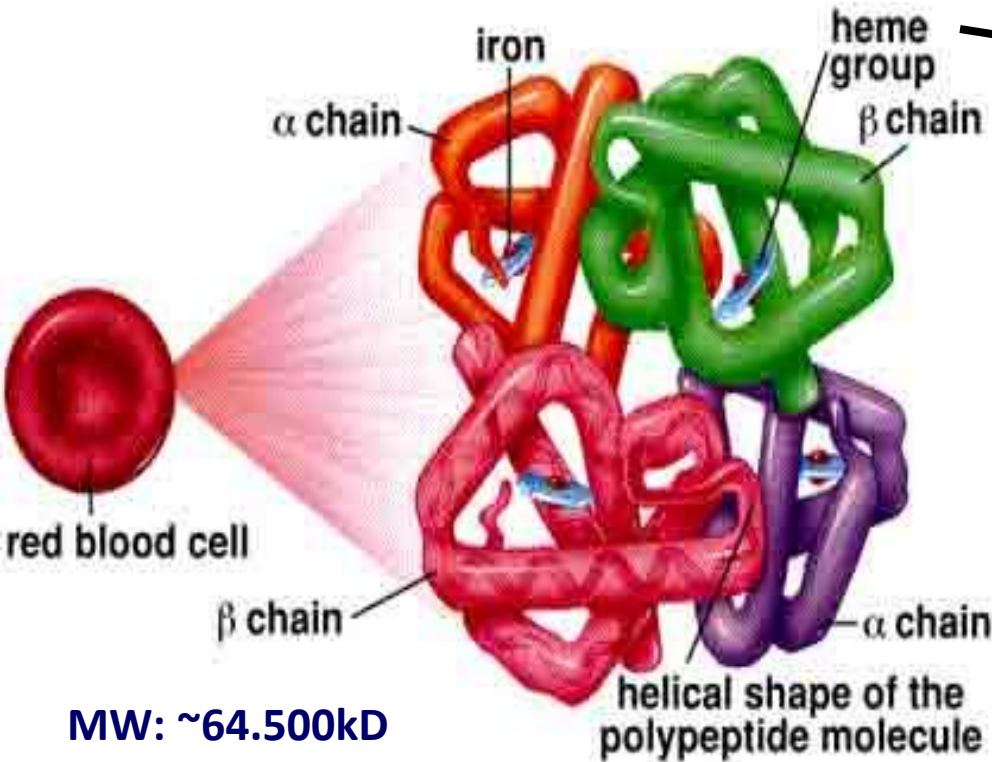
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>

# Αιμοσφαιρινοπάθειες



Η κυκλοφορία του αίματος και η ανταλλαγή  $O_2$ - $CO_2$

# Η αιμοσφαιρίνη

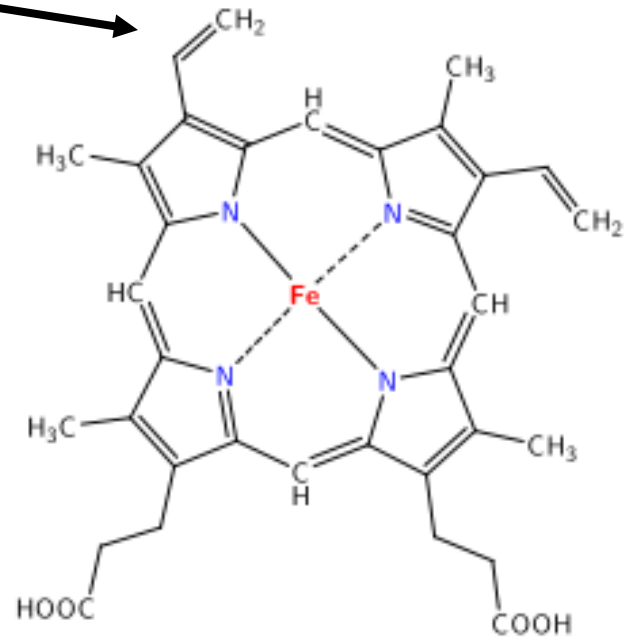


MW: ~64.500kD

Η φυσιολογική αιμοσφαιρίνη των ενηλίκων (HbA) είναι μία σφαιρική πρωτεΐνη που αποτελείται από 4 πολυπεπτιδικές αλυσίδες,  $\alpha_2\beta_2$

141aa

146aa



- Ετεροκυκλικός οργανικός δακτύλιος-πορφυρίνη
- Παράγεται στα μιτοχόνδρια και στο κυτταρόπλασμα των ανώριμων ερυθρών αιμοσφαιρίων
- Κάθε αίμη περιλαμβάνει ένα άτομο Fe που συνδέεται με ένα μόριο οξυγόνου

## Η αιμοσφαιρίνη



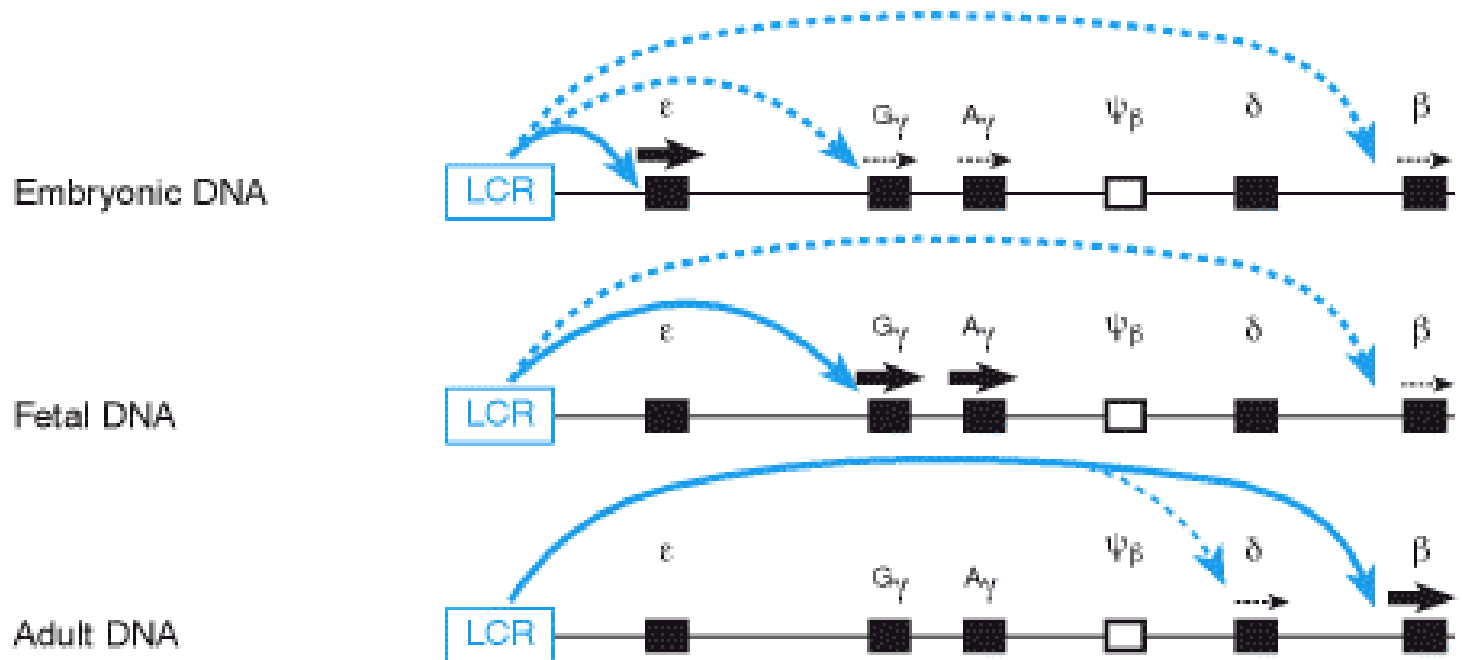
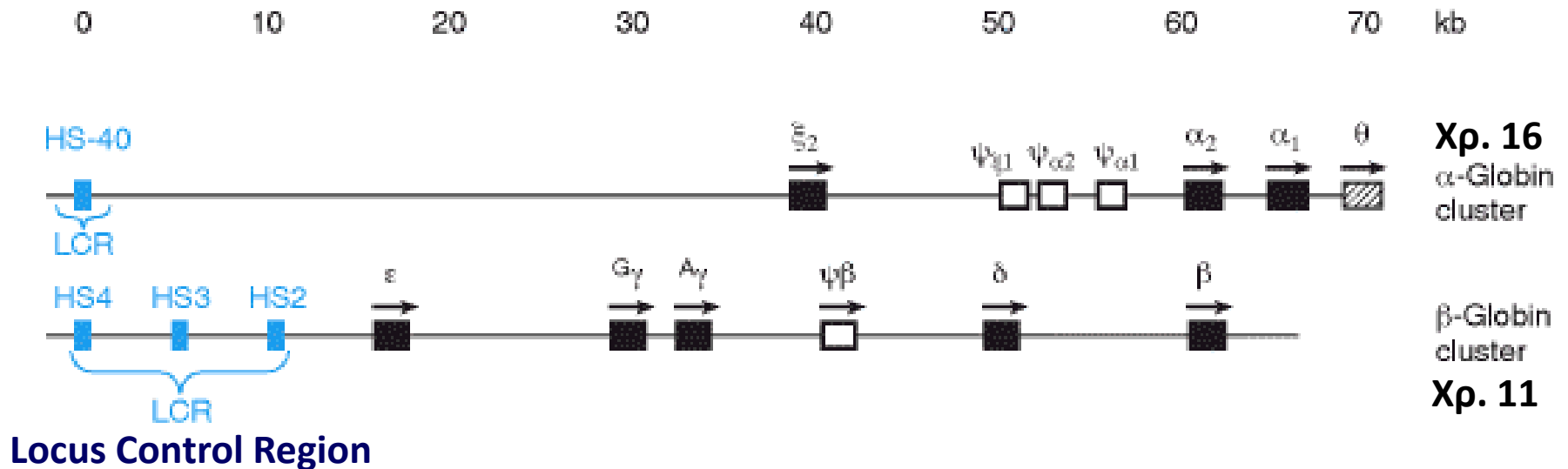
Max Ferdinand  
Perutz  
(1914 - 2002)



John Cowdery  
Kendrew  
(1917 - 1997)

**Βραβείο Νόμπελ Χημείας (1962) για τις μελέτες τους στη δομή της αιμοσφαιρίνης**

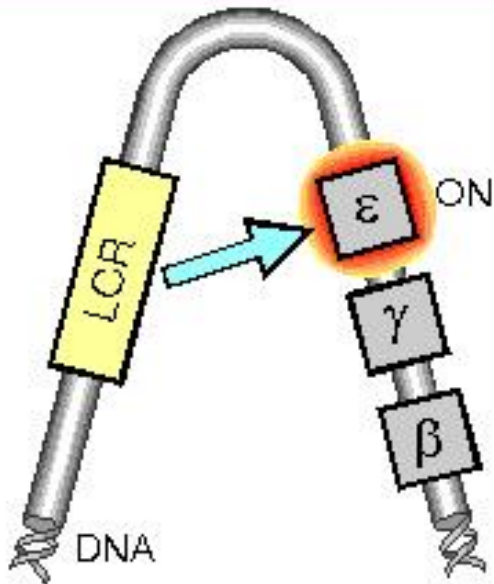
## Τα συμπλέγματα γονιδίων των σφαιρινών



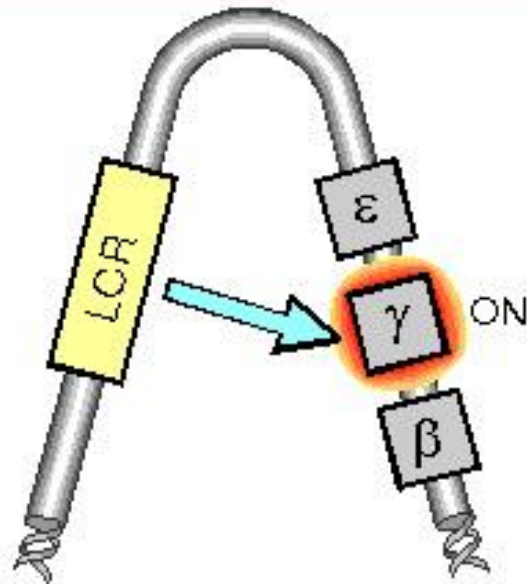
# Έκφραση των γονιδίων των σφαιρινών

## Locus Control Region

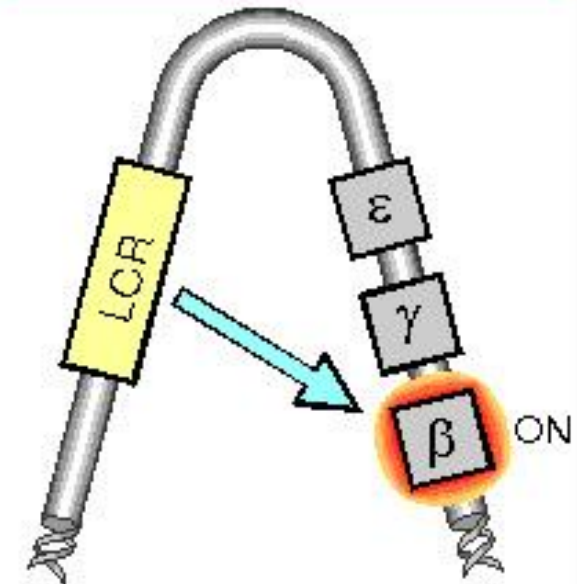
Embryonic (yolk sac)



Fetal liver



Adult bone marrow



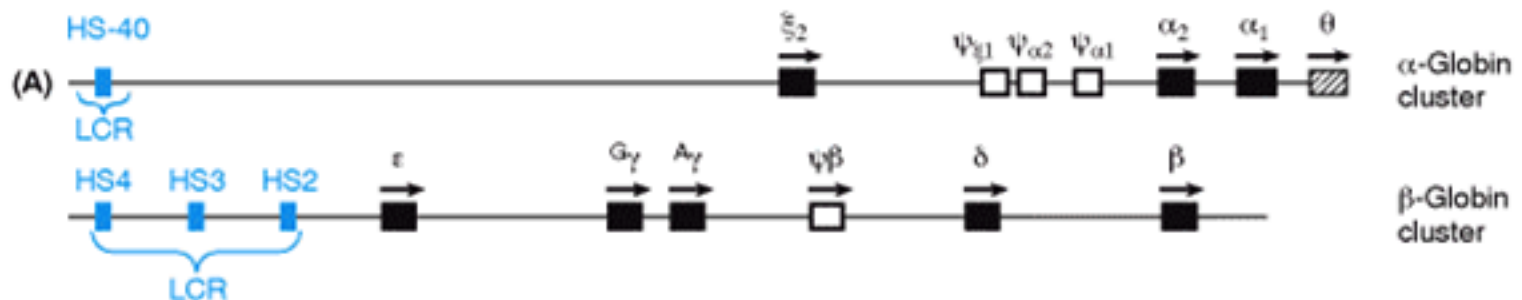


## Έκφραση των γονιδίων των σφαιρινών

### Globin Chains Hemoglobin Stage of Development

$\alpha_2\epsilon_2$	Gower 2	Embryo
$\zeta_2\epsilon_2$	Gower 1	
$\zeta_2\gamma_2$	Portland	
$\alpha_2^A\gamma_2$	F	Fetus
$\alpha_2^G\gamma_2$	F	
$\alpha_2\beta_2$	A	Adult
$\alpha_2\delta_2$	A <sub>2</sub>	

0 10 20 30 40 50 60 70 kb



## **ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΠΑΘΕΙΕΣ**

- 1. Δομικά παραλλάγματα αιμοσφαιρίνης (ποιοτικές ανωμαλίες)**
- 2. Θαλασαιμίες (ποσοτικές ανωμαλίες)**

# Αιμολυτικές αναιμίες

## Μεταλλαγές του κωδικονίου 6 της β – αλυσίδας

$\beta^A$	CCT <sup>5</sup>	GAG <sup>6</sup>	GAG <sup>7</sup>	DNA
$\beta^S$	CCT	GTG	GAG	
$\beta^C$	CCT	AAG	GAG	
$\beta^A$	Pro	Glu	Gln	Πρωτεΐνη
$\beta^S$	Pro	Val	Glu	
$\beta^C$	Pro	Lys	Gln	

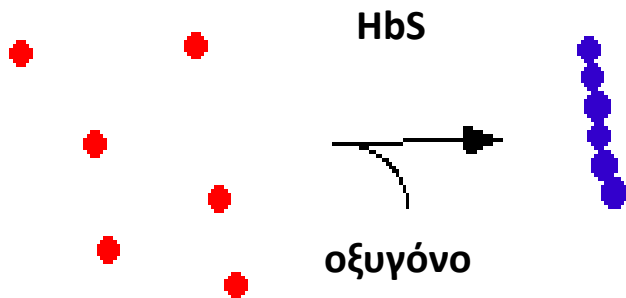
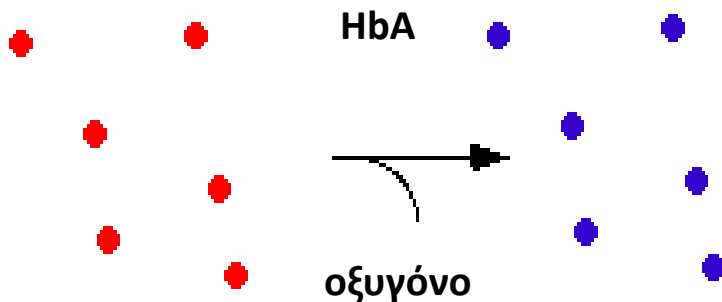
# Αιμολυτικές αναιμίες

## Δρεπανοκυτταρική αναιμία

Glu → Val

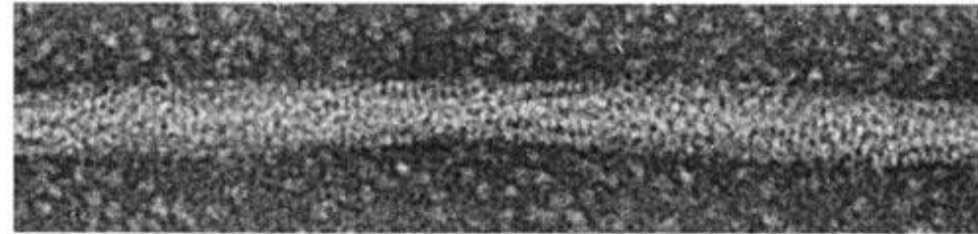
1:500 στους μαύρους

H-W: φορείς ~8%



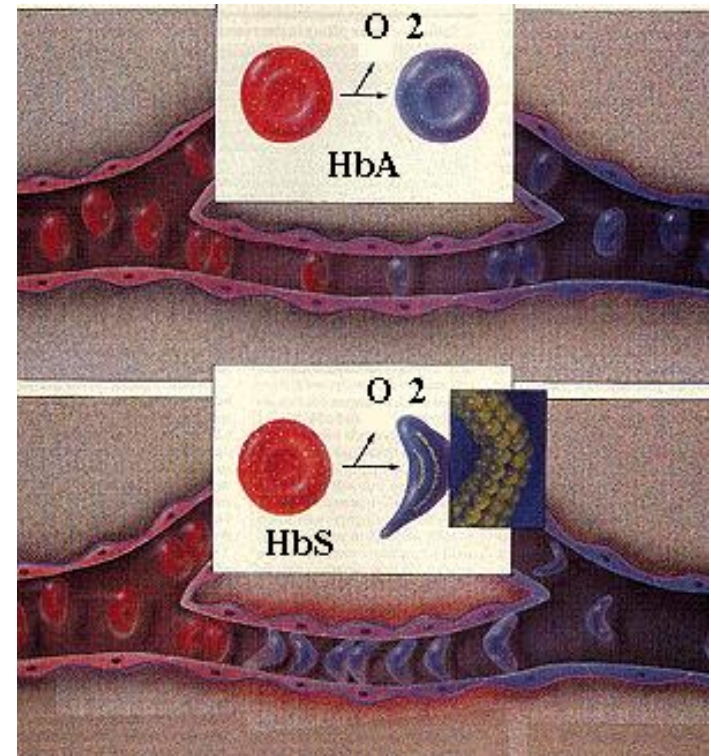
• Όταν η αιμοσφαιρίνη αποξυγονώνεται σχηματίζει συσσωματώματα, κρυσταλλικά στη δομή που καθιζάνουν

• Δρεπάνωση κυττάρων, μερικές φορές μη αντιστρεπτά, απόφραξη κυκλοφορίας στα τριχοειδή



50 nm

Ενδοκυτταρικός σχηματισμός ινιδίων της HbS (ηλεκτρονικό μικροσκόπιο)

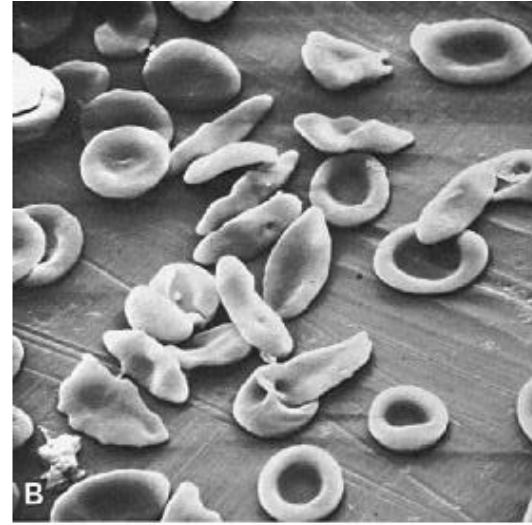
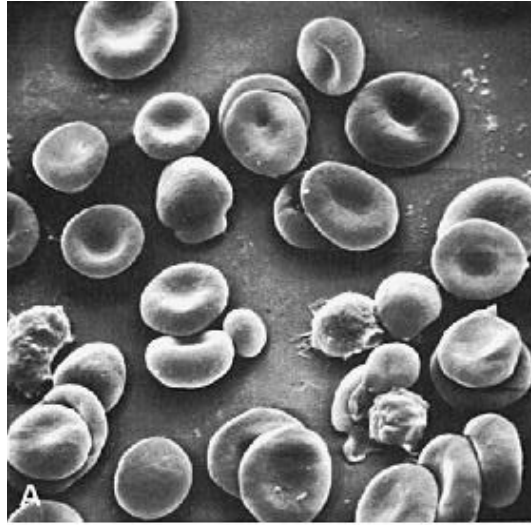


# Αιμολυτικές αναιμίες

## Δρεπανοκυτταρική αναιμία

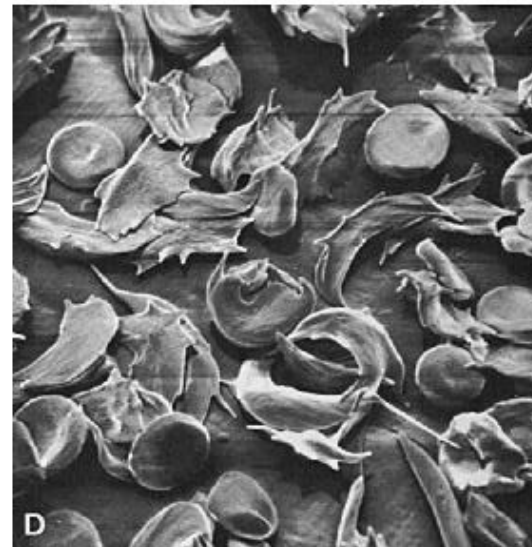
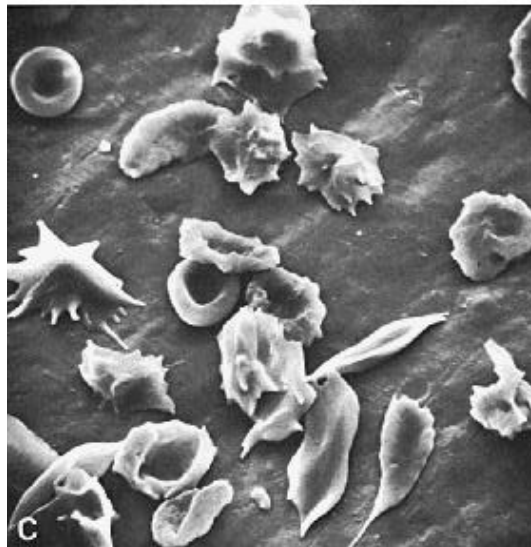
Ερυθρά αιμοσφαίρια ασθενούς με δρεπανοκυτταρική αναιμία

Οξυγονωμένο



Οξυγονωμένο αλλά αρκετά κύτταρα έχουν υποστεί μη αντιστρεπτή δρεπάνωση

Μερική αποξυγονοποίηση



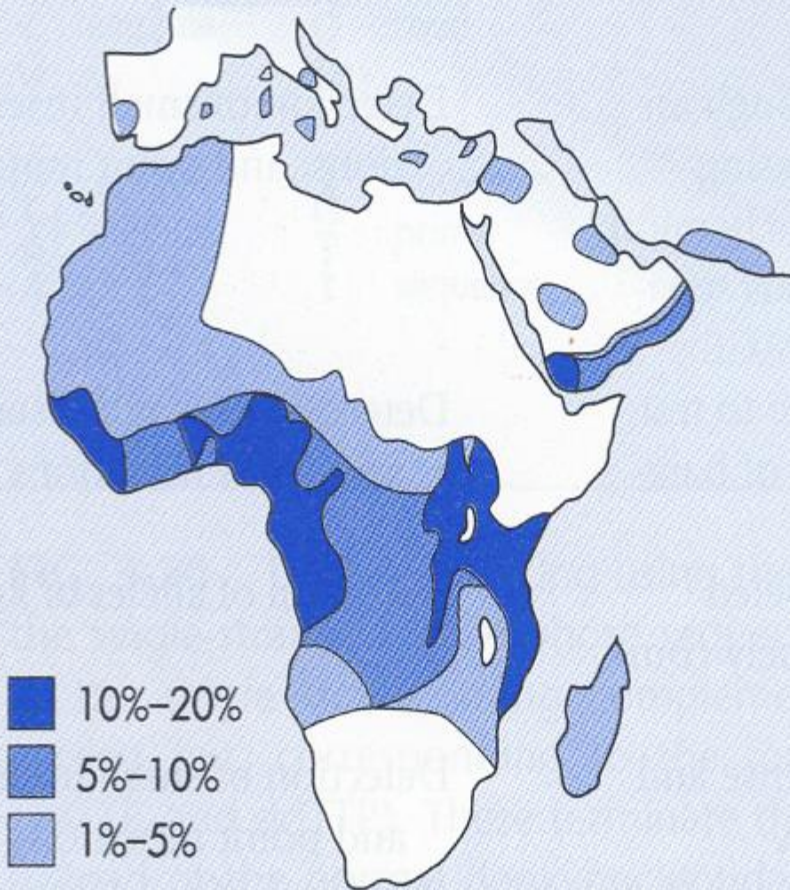
Περισσότερη αποξυγονοποίηση

(ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης)

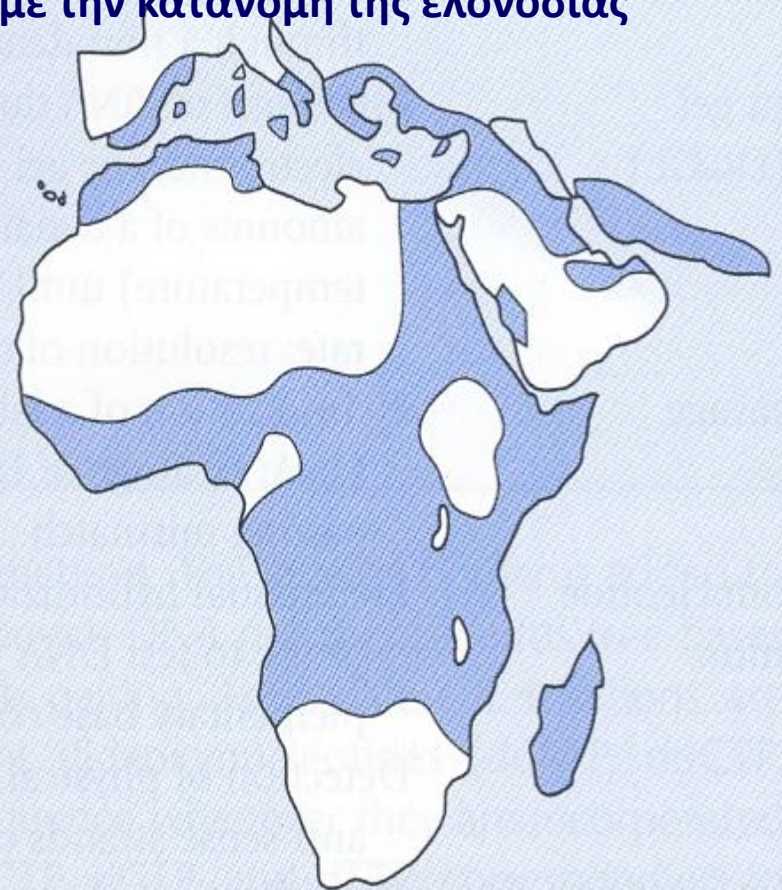
# Αιμολυτικές αναιμίες

Συχνότητα δρεπανοκυτταρικής αναιμίας ( $\beta^s$ )

σε σχέση με την κατανομή της ελονοσίας



Frequency of sickle cell gene



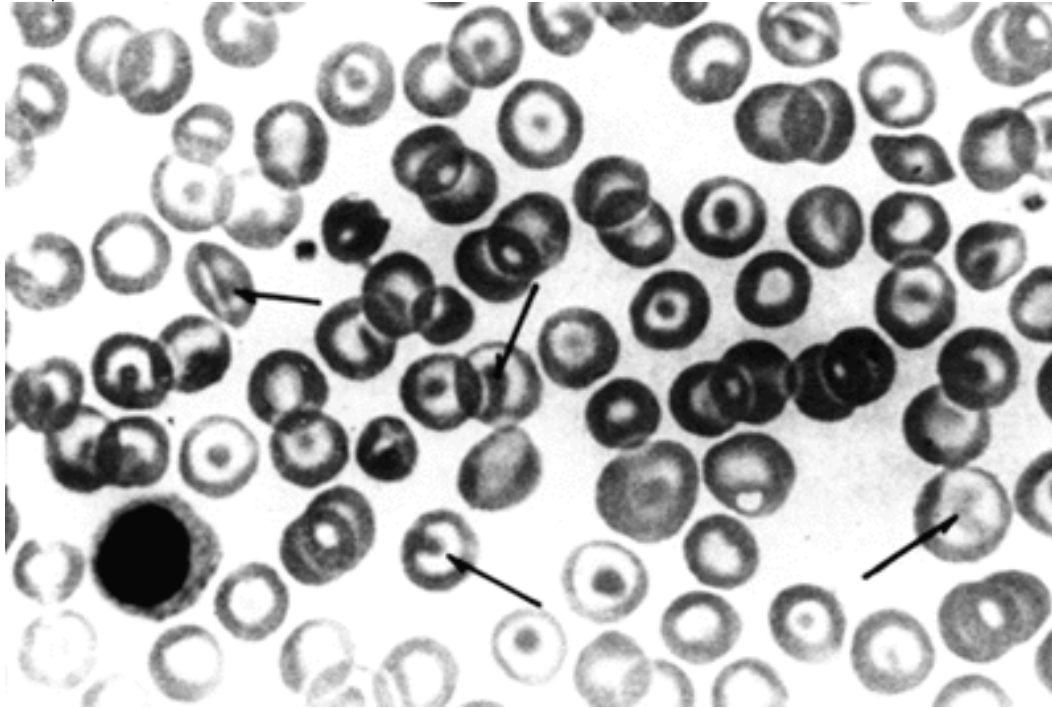
Distribution of falciparum malaria

# Αιμολυτικές αναιμίες

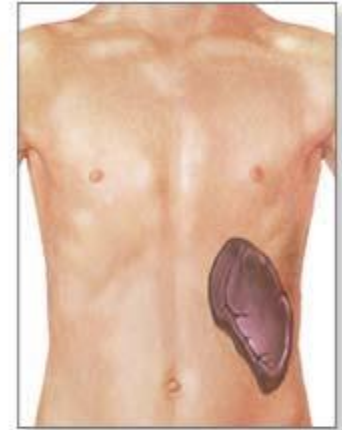
Αιμοσφαιρίνη C

Glu → Lys

- Η HbC έχει μικρότερη διαλυτότητα από την HbA και σχηματίζει μικρούς κρυστάλλους
- Μείωση ελαστικότητας και χρόνου ζωής (~35 μέρες) των RBCs
- Ήπια αιμολυτική νόσος και σπληνομεγαλία (CC)



Normal spleen



Splenomegaly

# Αιμολυτικές αναιμίες

## Διάγνωση

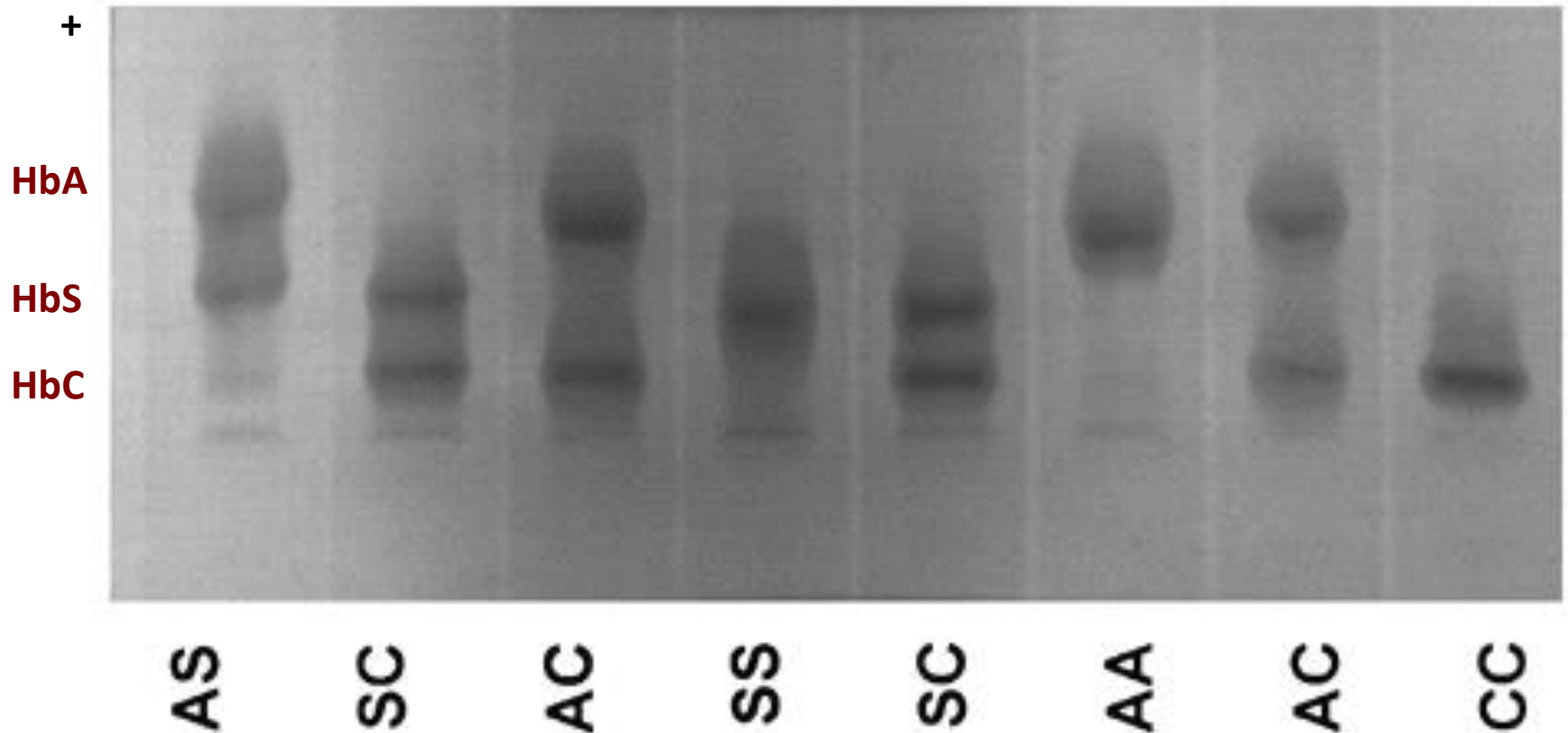
Ηλεκτροφόρηση-διαχωρισμός βάσει φορτίου

HbS: γλουταμικό οξύ (αρνητικά φορτισμένο)

HbC: γλουταμικό οξύ (αρνητικά φορτισμένο)

βαλίνη (ουδέτερο)

λυσίνη (θετικά φορτισμένο)

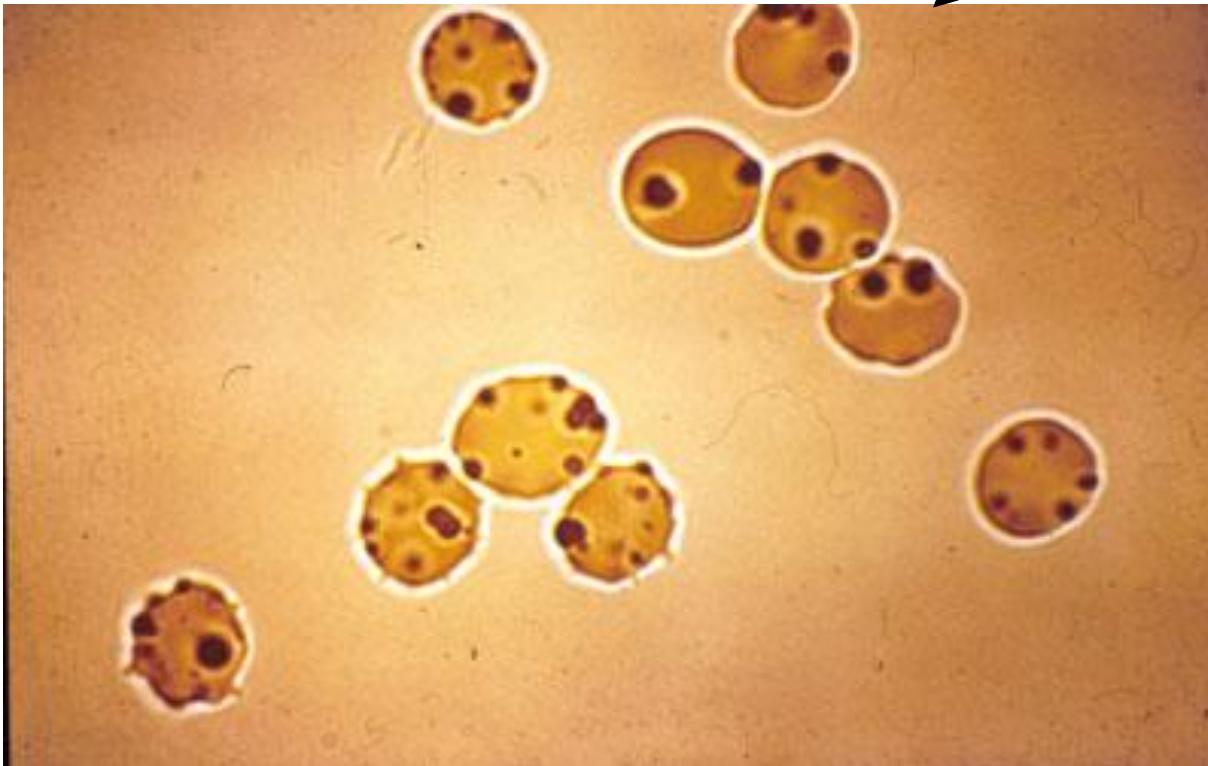




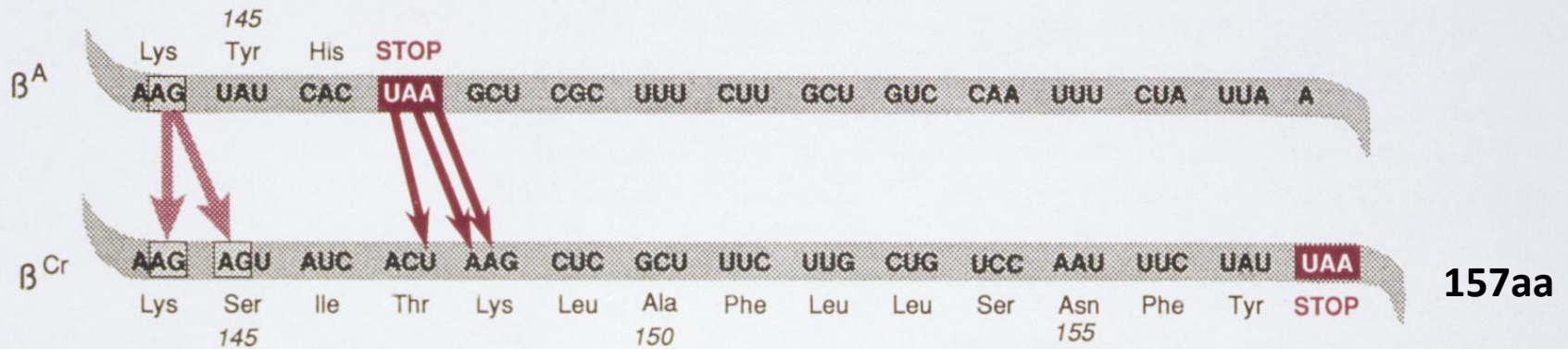
# Αιμολυτικές αναιμίες

## Αιμοσφαιρίνη Hammersmith

Σημειακή μεταλλαγή (αντικατάσταση συντηρημένης Phe 42 με σερίνη)  
Αποδιάταξη πρωτεΐνης, σχηματισμός συσσωματωμάτων (Heinz bodies), καταστροφή  
μεμβράνης RBC, ελαφριά αιμόλυση  
Ασταθής αιμοσφαιρίνη  
Μειωμένη συγγένεια με το οξυγόνο-κυάνωση

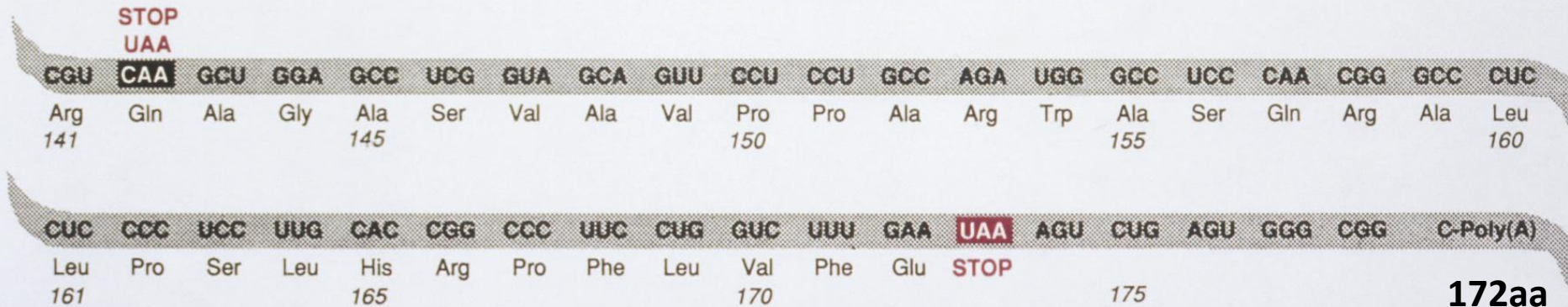


## Παθολογικές αιμοσφαιρίνες λόγω μετατόπισης πλαισίου ανάγνωσης



### Αιμοσφαιρίνη Cranston:

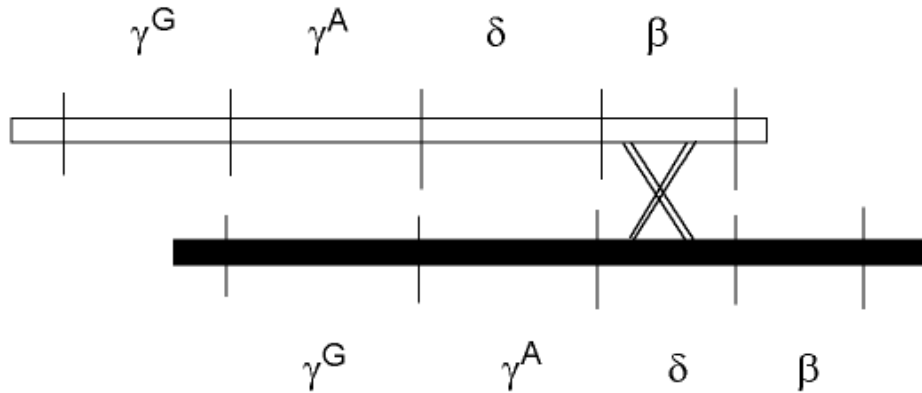
Ένθεση 2nt μεταξύ των κωδικονίων 144-145 στο γονίδιο β  
 Ποιοτική ανωμαλία



### Αιμοσφαιρίνη Constant Spring:

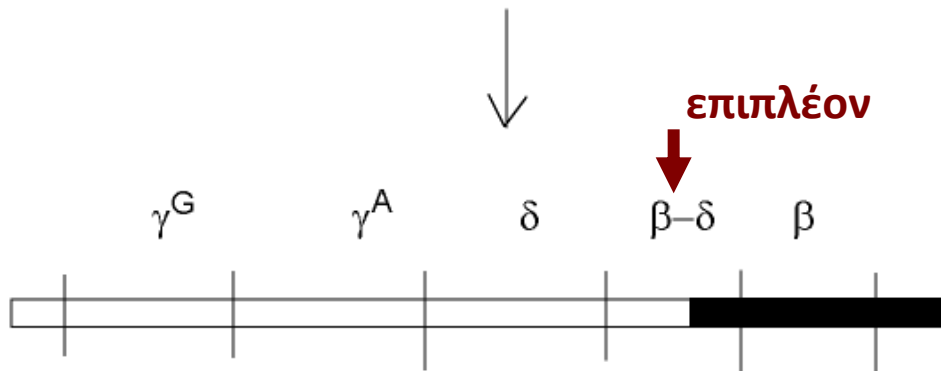
Νουκλεοτιδική αντικατάσταση στο κωδικόνιο λήξης στο γονίδιο α  
 Πιο ασταθής αιμοσφαιρίνη  
 Ποιοτική και ποσοτική ανωμαλία

## Παθολογικές αιμοσφαιρίνες λόγω άνισου επιχιασμού



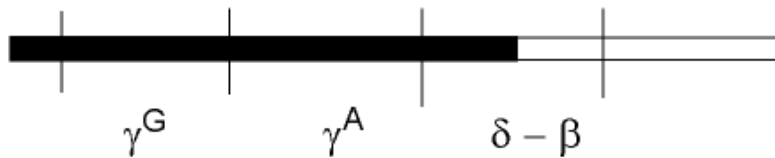
Λάθος στοίχιση των ομολόγων  
Άνισος επιχιασμός μεταξύ των  
γονιδίων  $\beta$  και  $\delta$  (90% ομολογία)

$\delta$ : χαμηλά επίπεδα έκφρασης



Αντι-Lepore

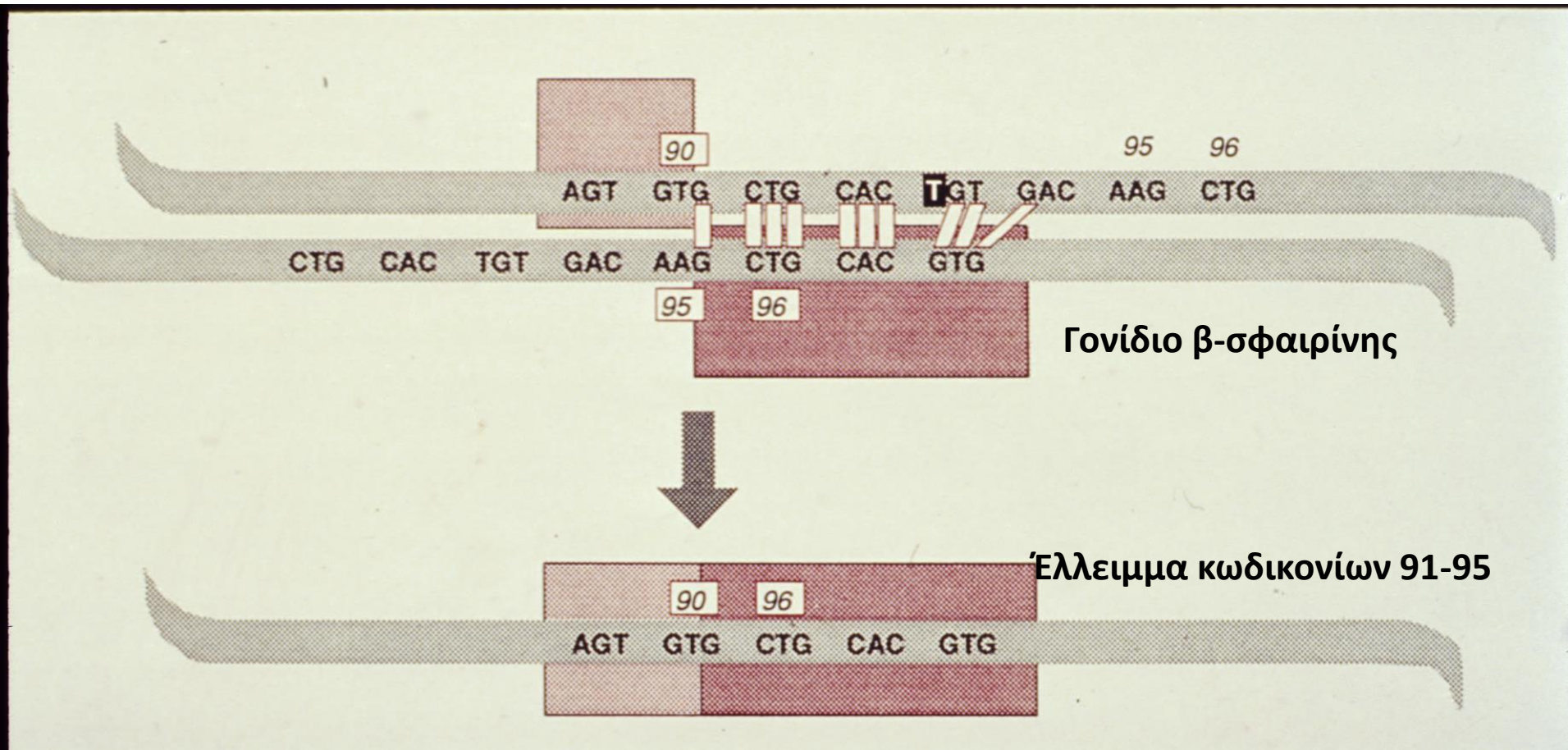
➤ Ποσοτική και  
ποιοτική ανωμαλία



Lepore

Υβριδική & σε χαμηλά επίπεδα (υποκινητής  $\delta$ )

## Παθολογικές αιμοσφαιρίνες λόγω άνισου επιχιασμού

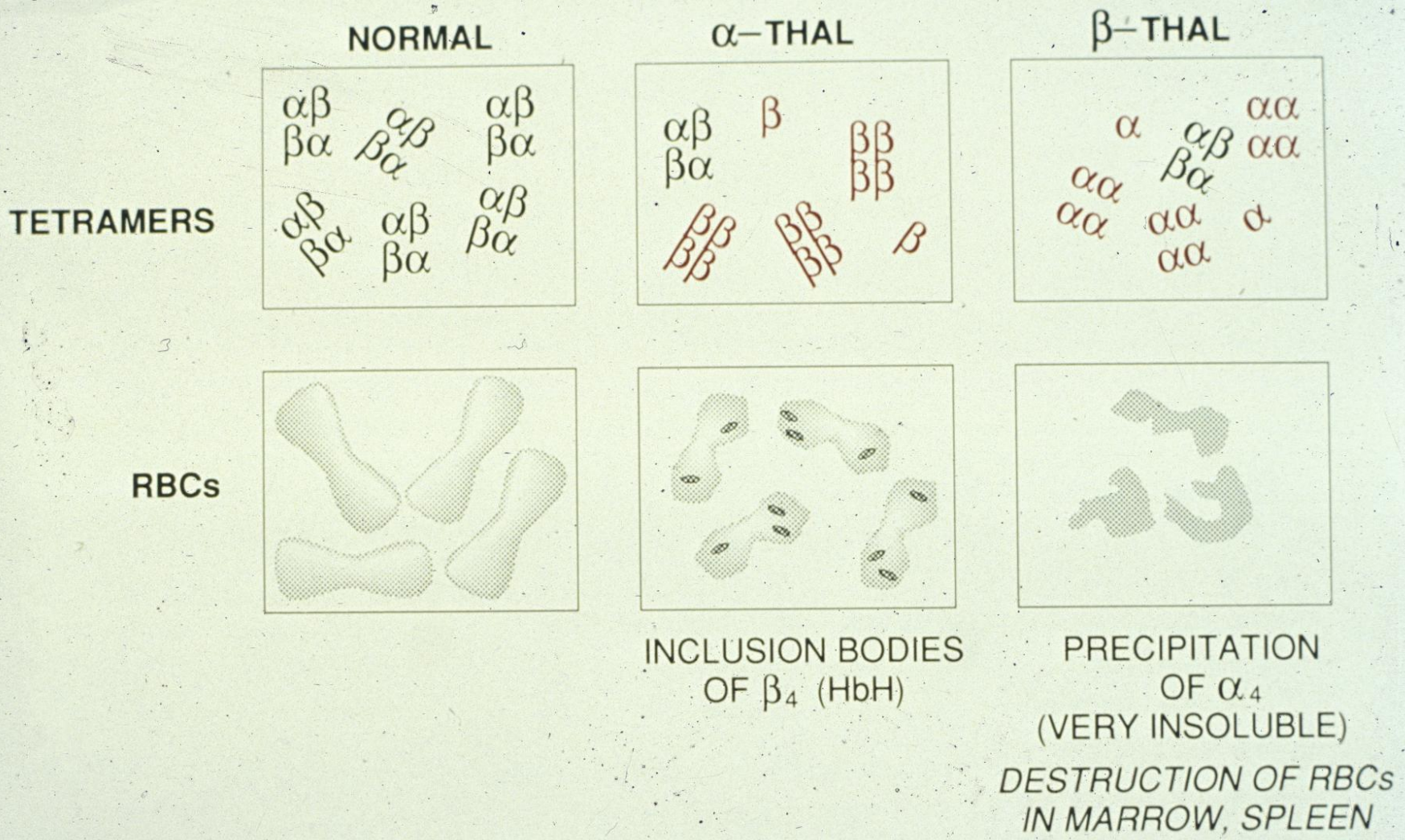


### Αιμοσφαιρίνη Gun Hill

Αμινοξύ 92: σύνδεση με αίμη

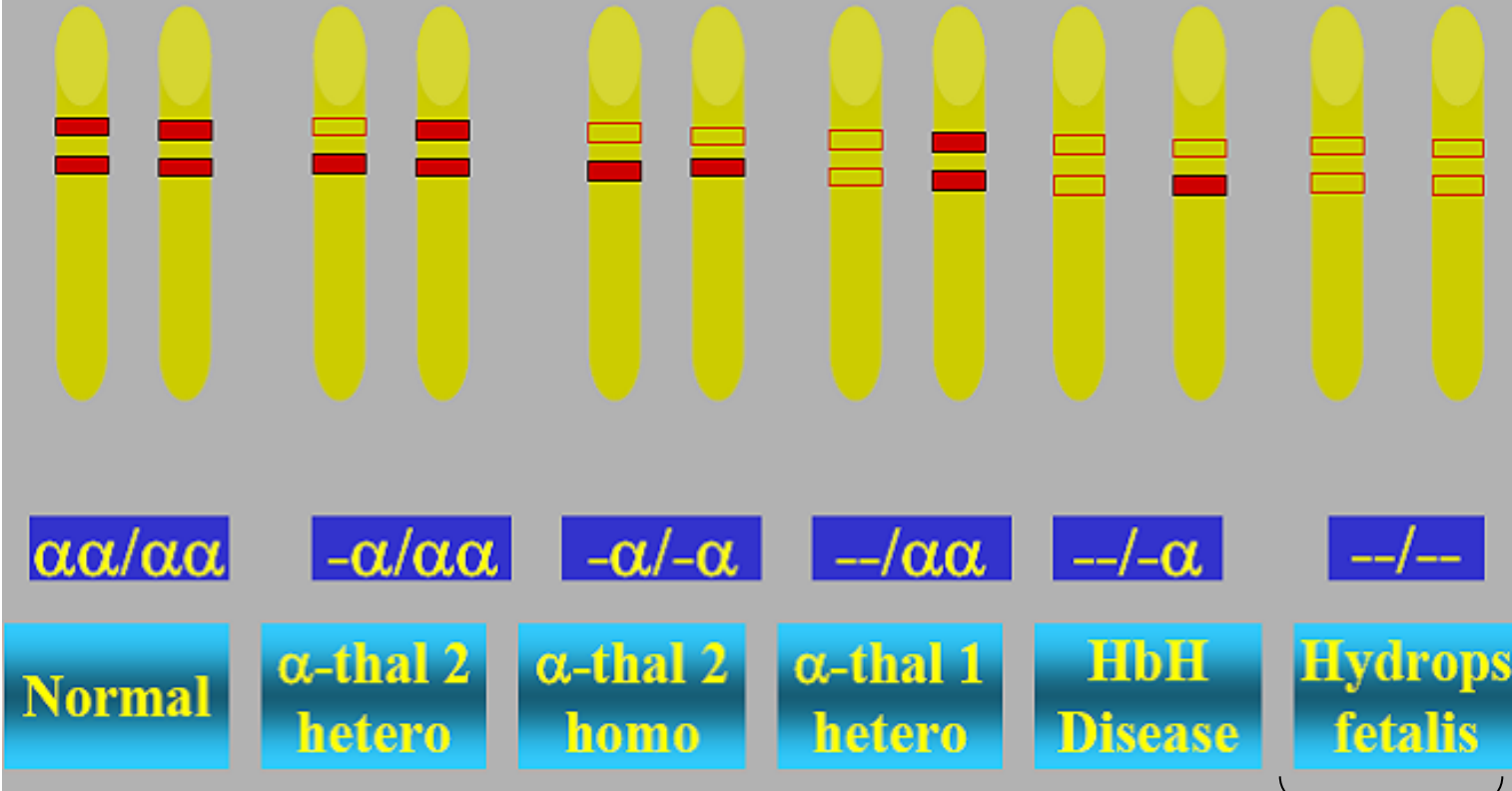
Οι β-αλυσίδες της Hb Gun Hill στερούνται αίμης

# Ανισορροπία στη σύνθεση των σφαιρινικών αλυσίδων (Θαλασσαιμίες)



# α-Θαλασαιμία

Χρ. 16



Ασυμπτωτικά  
(σιωπηλός φορέας)

Σχεδόν  
ασυμπτωτικά  
(φορέας α-  
θαλασαιμίας)

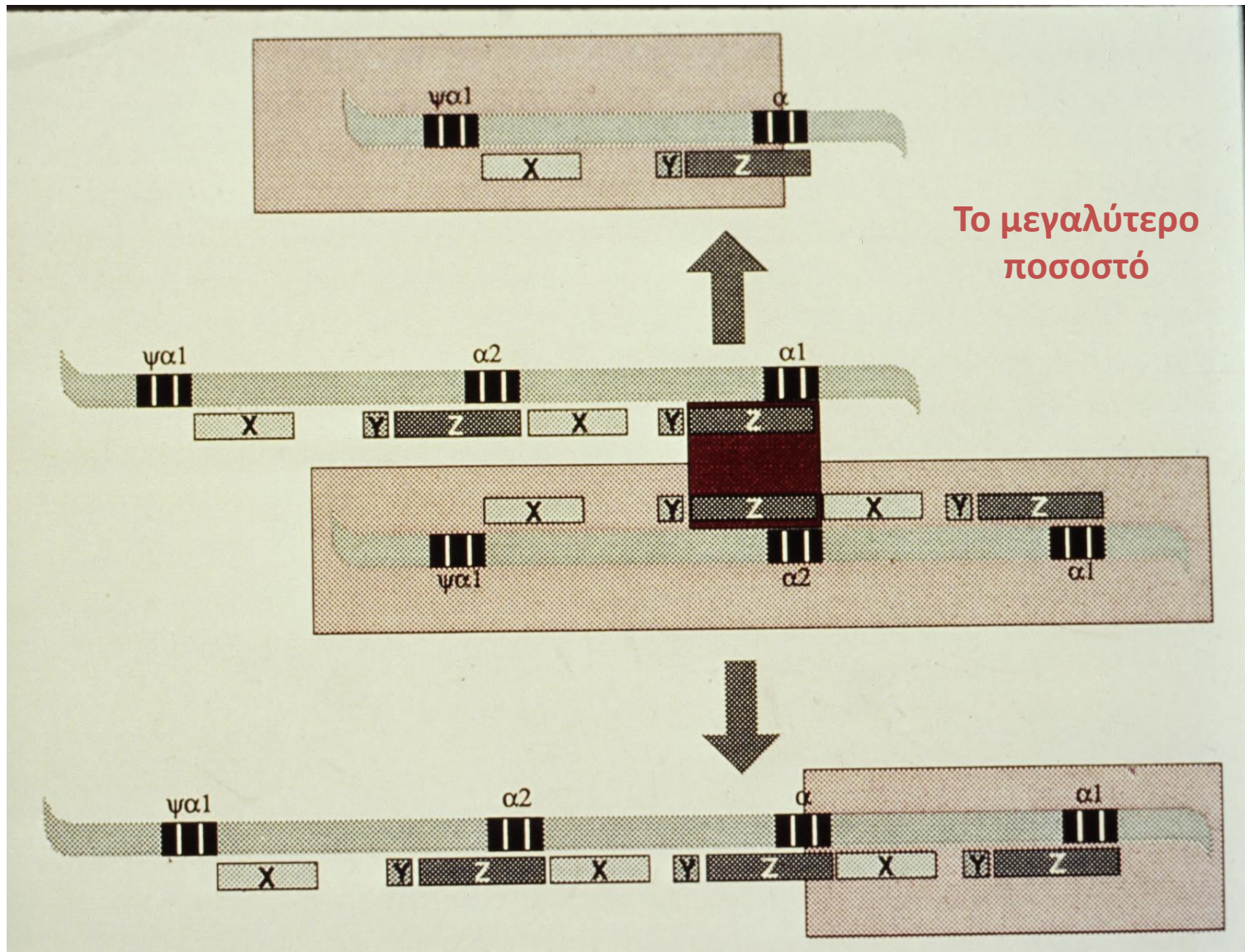
Μέτρια-σοβαρή  
αναιμία

Βαρύμβατο με τη ζωή

- Αιμοσφαιρίνη Bart: τετραμερές γ-αλυσίδων με ελάχιστη ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου-βαριά αναιμία
- Καρδιακή ανεπάρκεια, οίδημα

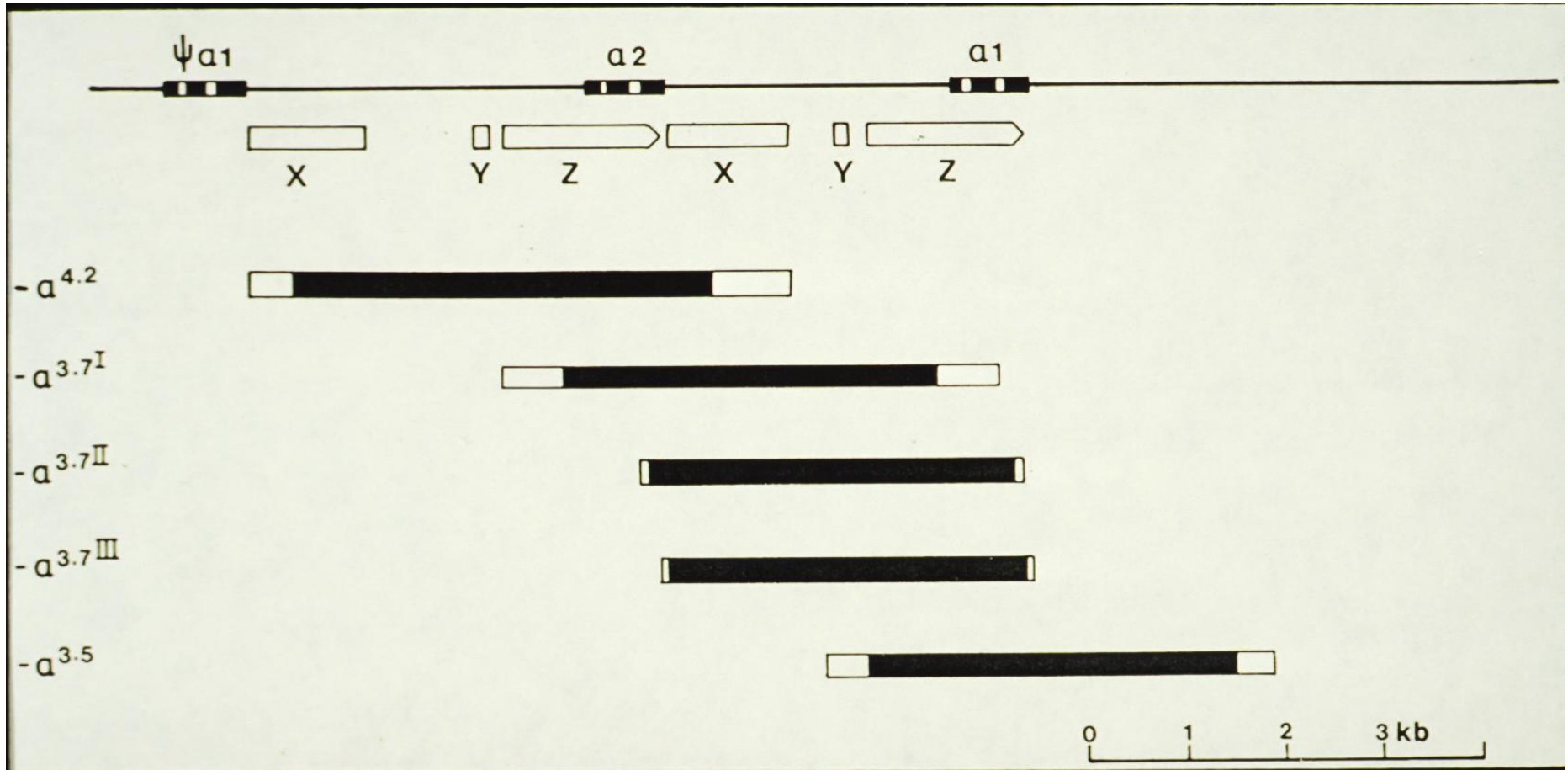
# α-Θαλασσαιμία

Ελλείμματα γονιδίων α-σφαιρίνης λόγω άνισου επιχιασμού



## α-Θαλασσαιμία

Ελλείμματα γονιδίων α-σφαιρίνης λόγω χρωσωματικού ελλείμματος





## α-Θαλασαιμία

### Μη λειτουργικά γονίδια α-σφαιρίνης λόγω σημειακών μεταλλαγών

**Table 1. Point Mutations in α-Thalassem**

Mutant Class	Origin
<b>I. Nonfunctional mRNA</b>	
<b>a. Nonsense mutants:</b>	
1) codon 116 (G-T)	Black
<b>b. Frameshift mutants:</b>	
1) codon 30/31 (- 4nts)	Black
<b>c. Initiator codon mutants:</b>	
2) ATG-ACG	Mediterranean
3) CCCACCATG- CCCCATG	Mediterranean
4) ATG-GTG	Mediterranean, Black
<b>d. Terminator codon mutants</b>	
5) α <sup>CS</sup> of HB Constant Spring (TAA-CAA)	Black
6) α <sup>KD</sup> of Koya Dora (TAA-TCA)	Indian
7) α <sup>IC</sup> of Hb Icaria (TAA-AAA)	Mediterranean
8) α <sup>SR</sup> of Hb Seal Rock (TAA-GAA)	Black

**σπάνιο**

### II. RNA Processing mutants

#### a. Splice junction changes:

- 1) IVS-1 donor site  
(GGTGAGGCT-  
GGCT)

Mediterranean

#### b. RNA cleavage and polyadenylation site

- 1) AATAAA-AATAAG

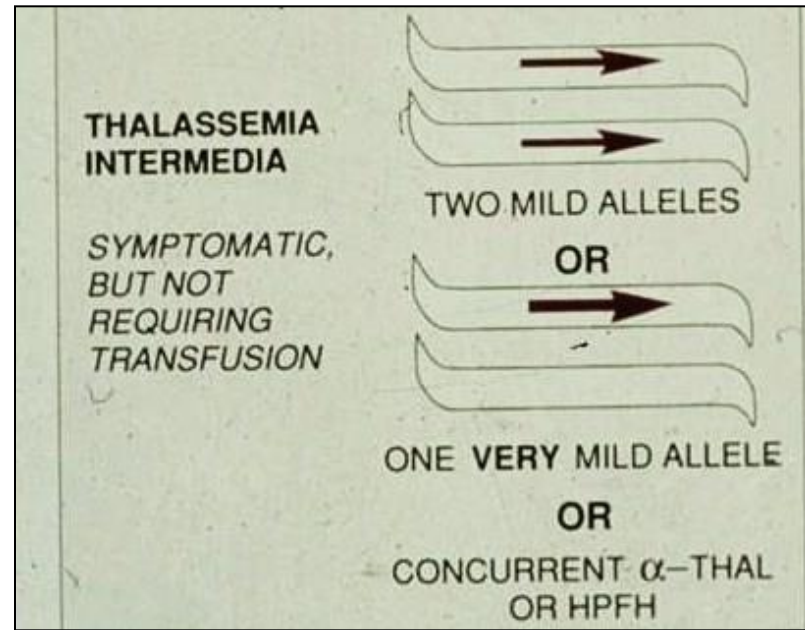
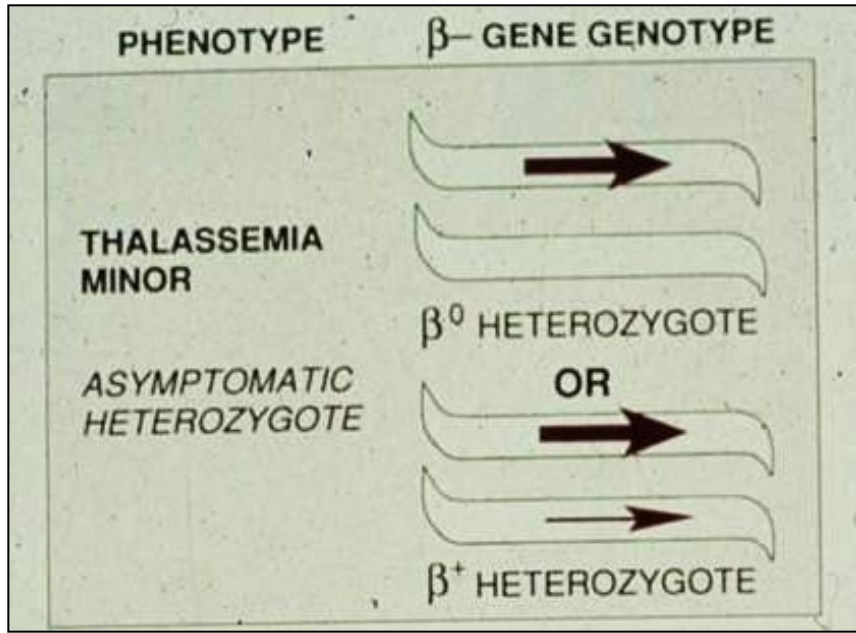
Arab

### III. Unstable globins

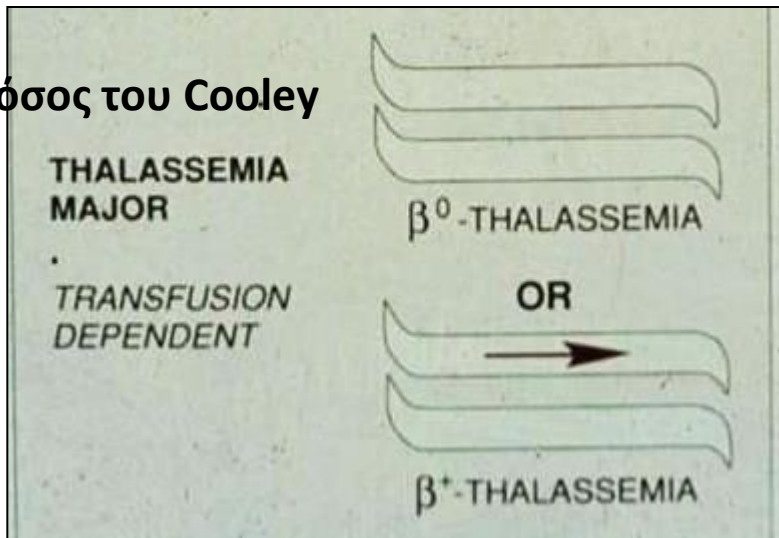
- 1) α<sup>Quong Sze</sup> (codon  
125 Leu-Pro) SE Asian
- 2) α<sup>Suan Dok</sup> (codon  
209, Leu-Arg) SE Asian
- 3) α<sup>Petah Tikwah</sup> (codon  
110, Ala-Asp) Middle East
- 4) α<sup>Evanston</sup> (codon 14,  
Trp-Arg) Black

## β-Θαλασσαιμία

- Κυρίως σημειακές μεταλλαγές
- Φορείς: ήπια αύξηση της HbA<sub>2</sub> και HbF



### Νόσος του Cooley

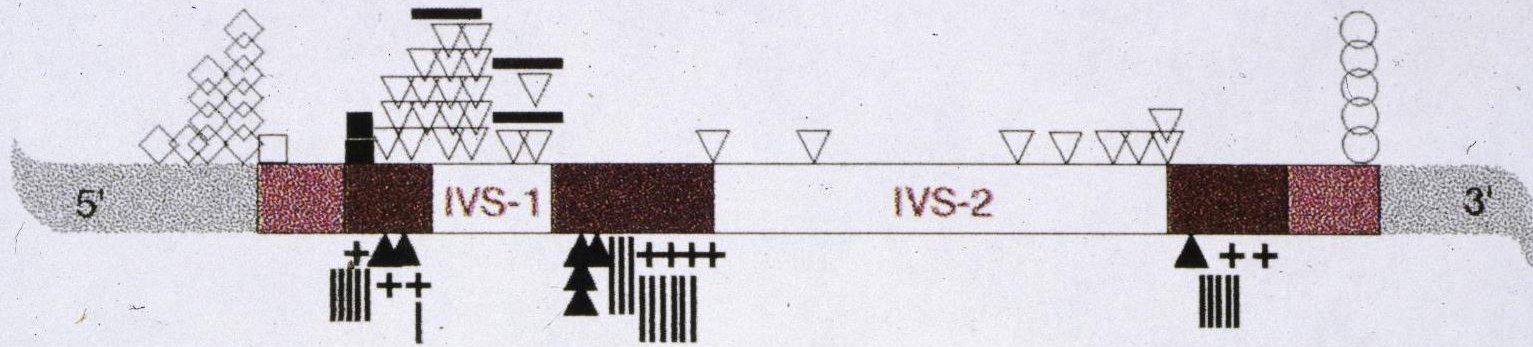


### Σύνθετοι ετεροζυγώτες

8% Ελλήνων ετεροζυγώτες β-MA

1-1,5% Ελλήνων ετεροζυγώτες Hb S

## β-Θαλασσαιμία



- ◇ TRANSCRIPTION
- CAP SITE
- INITIATOR CODON
- ▲ NONSENSE
- ▽ SPLICING
- + INSERTION
- DELETION
- | FRAMESHIFT DELETIONS (-1, -2, -4)
- POLY A SITE

Έχουν ταυτοποιηθεί >100 διαφορετικές μεταλλαγές

# Κυστική ίνωση

1/2500 γεννήσεις στους Καυκάσιους, αυτοσωμική υπολειπόμενη

$$q^2 = 1 / 2500$$

$$q = 1 / 50$$

$$p = 49 / 50$$

$$2pq = 2 \times 49/50 \times 1/50 = 0,0392 \approx 1/25$$

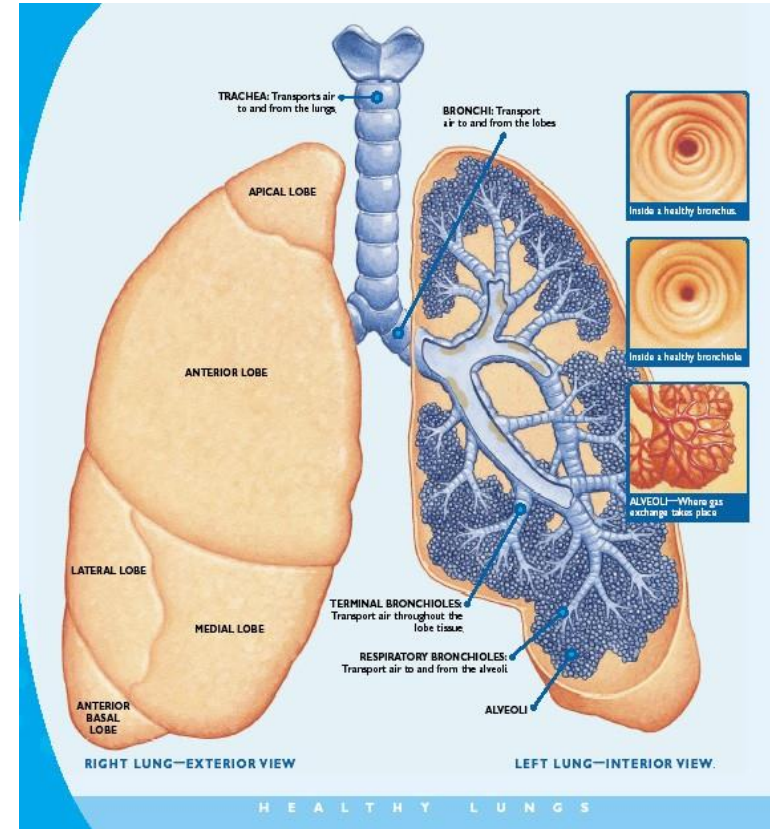
Παχύρευστες κολλώδεις εκκρίσεις πνευμόνων και παγκρέατος

Μολύνσεις

Χρόνια ανεπάρκεια οξυγόνου

Παγκρεατική ανεπάρκεια

Μέση επιβίωση ~ 30 έτη



# Διάγνωση

The genetic defect underlying cystic fibrosis disrupts the functioning of several organs by causing ducts or other tubes to become clogged, usually by thick, sticky mucus or other secretions.

## AIRWAYS

Clogging and infection of bronchial passages impede breathing. The infections progressively destroy the lungs. Lung disease accounts for most deaths from cystic fibrosis.

## LIVER

Plugging of small bile ducts impedes digestion and disrupts liver function in perhaps 5% of patients.

## PANCREAS

Occlusion of ducts prevents the pancreas from delivering critical digestive enzymes to the bowel in 65% of patients. Diabetes can result as well.

## SMALL INTESTINE

Obstruction of the gut by thick stool necessitates surgery in about 10% of newborns.

## REPRODUCTIVE TRACT

Absence of fine ducts, such as the vas deferens, renders 95% of males infertile. Occasionally, women are made infertile by a dense plug of mucus that blocks sperm from entering the uterus.



## SKIN

Malfunctioning of sweat glands causes perspiration to contain excessive salt (NaCl). Measurement of chloride in sweat is a mainstay of diagnosis.

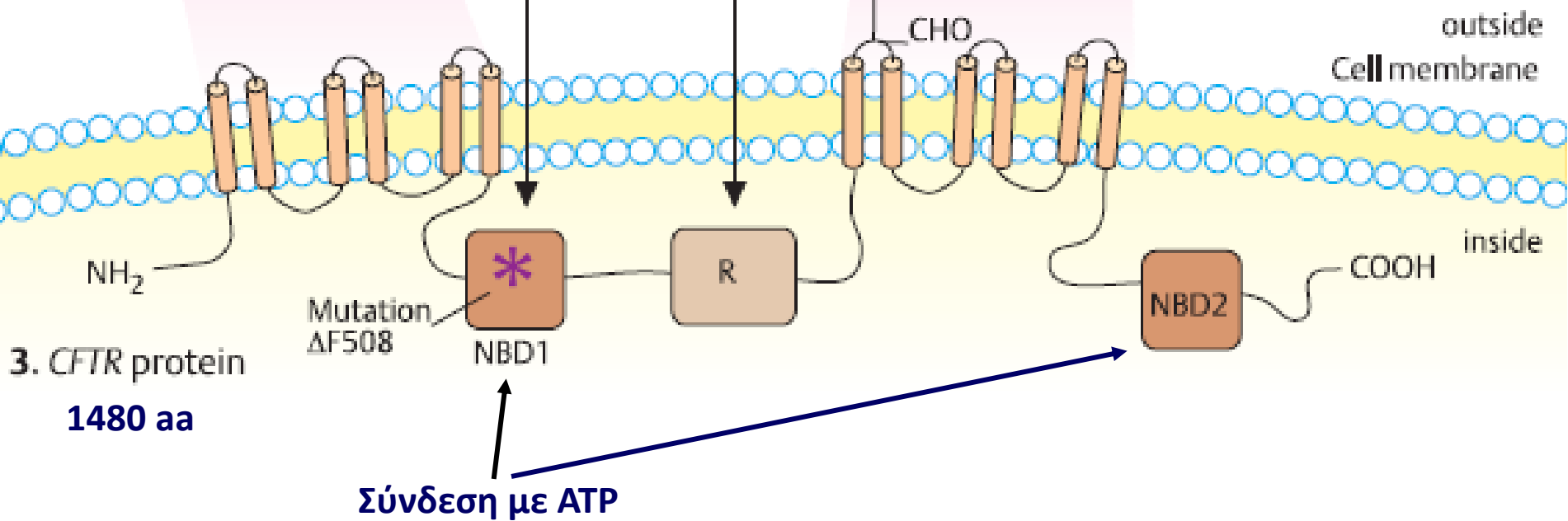
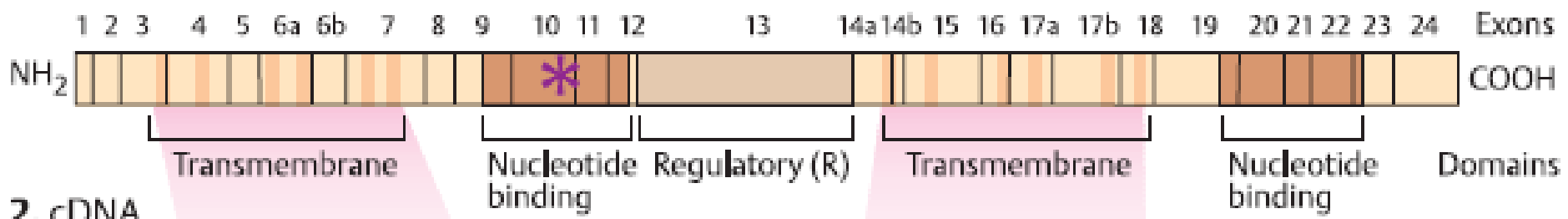
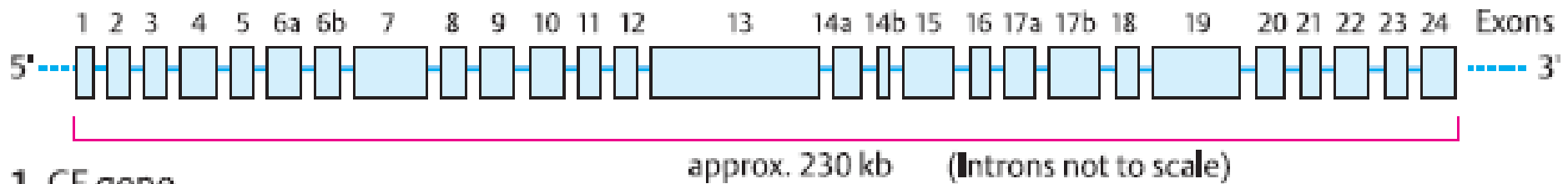
## Ευρήματα σε πνεύμονα και πάγκρεας



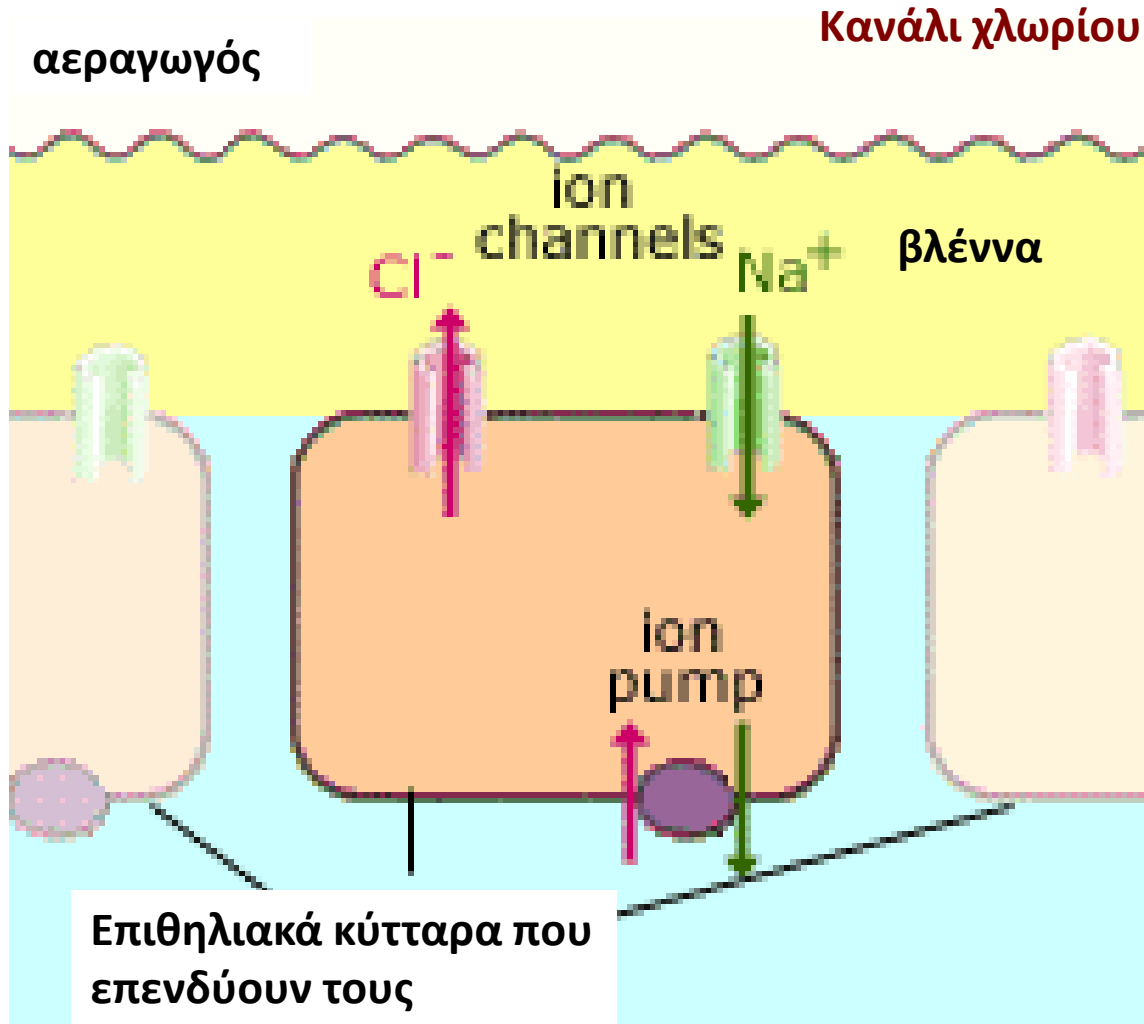
## Υψηλή συγκέντρωση χλωρίου στον ιδρώτα

Welsh, MJ and Smith, AE. Cystic Fibrosis. *Scientific American*. 273 (6): 52, 1995.

## Το γονίδιο και η πρωτεΐνη CFTR



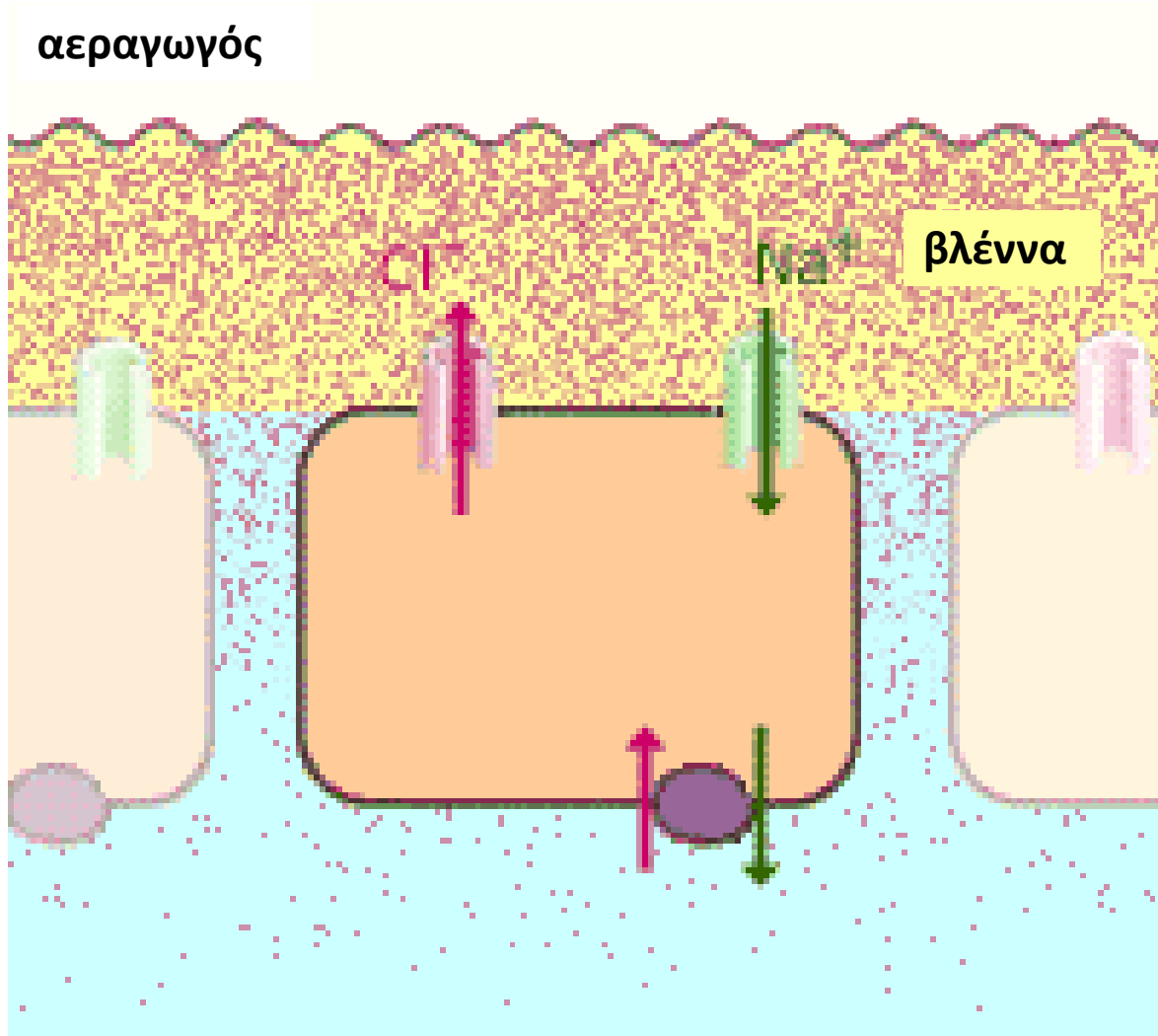
## Η πρωτεΐνη CFTR



Επιθηλιακά κύτταρα που επενδύουν τους αεραγωγούς των πνευμόνων

& σε επιθηλιακά κύτταρα άλλων οργάνων

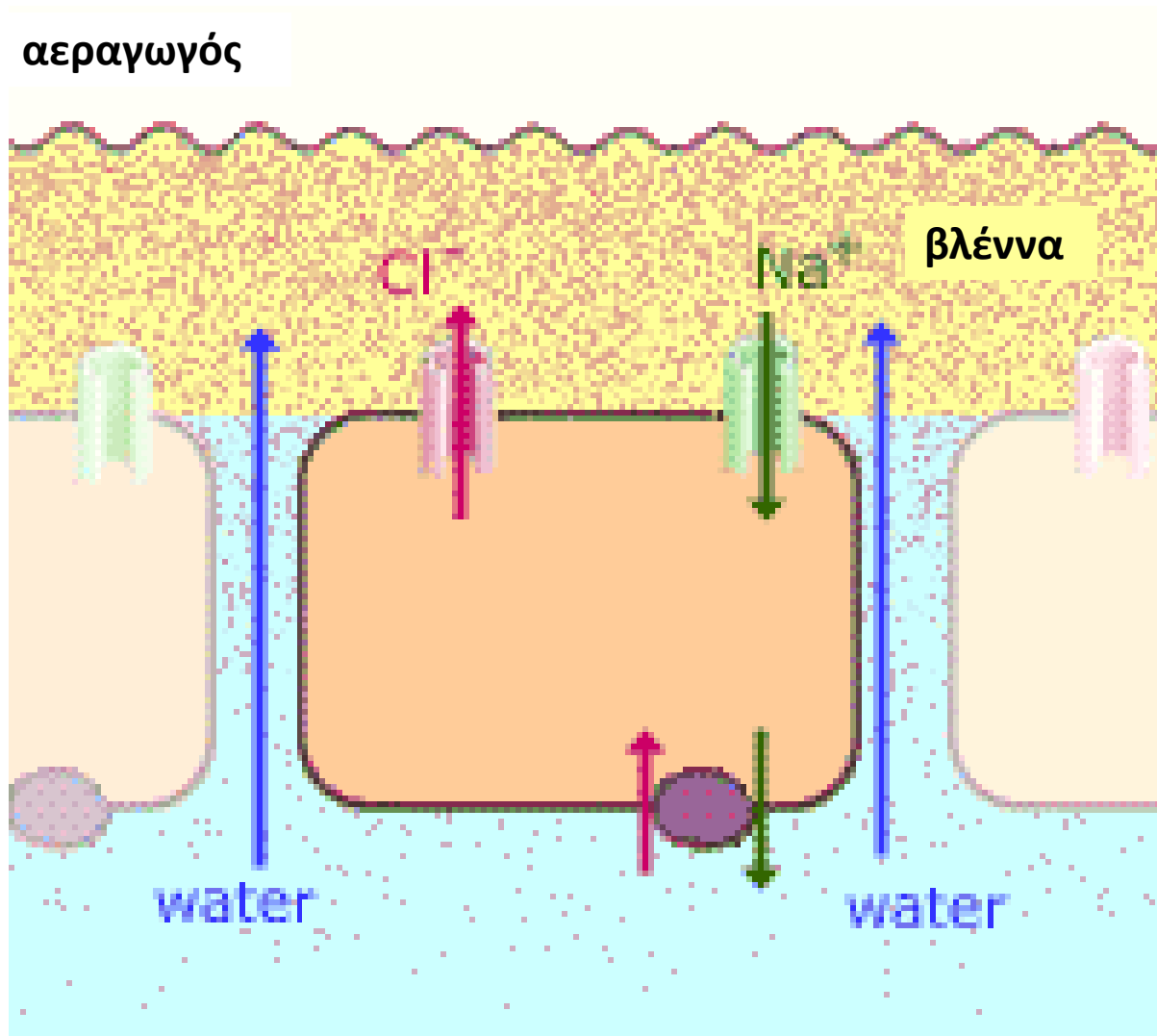
## Η πρωτεΐνη CFTR



Δημιουργείται κλινές ιόντων με υψηλότερη συγκέντρωση προς το εξωτερικό

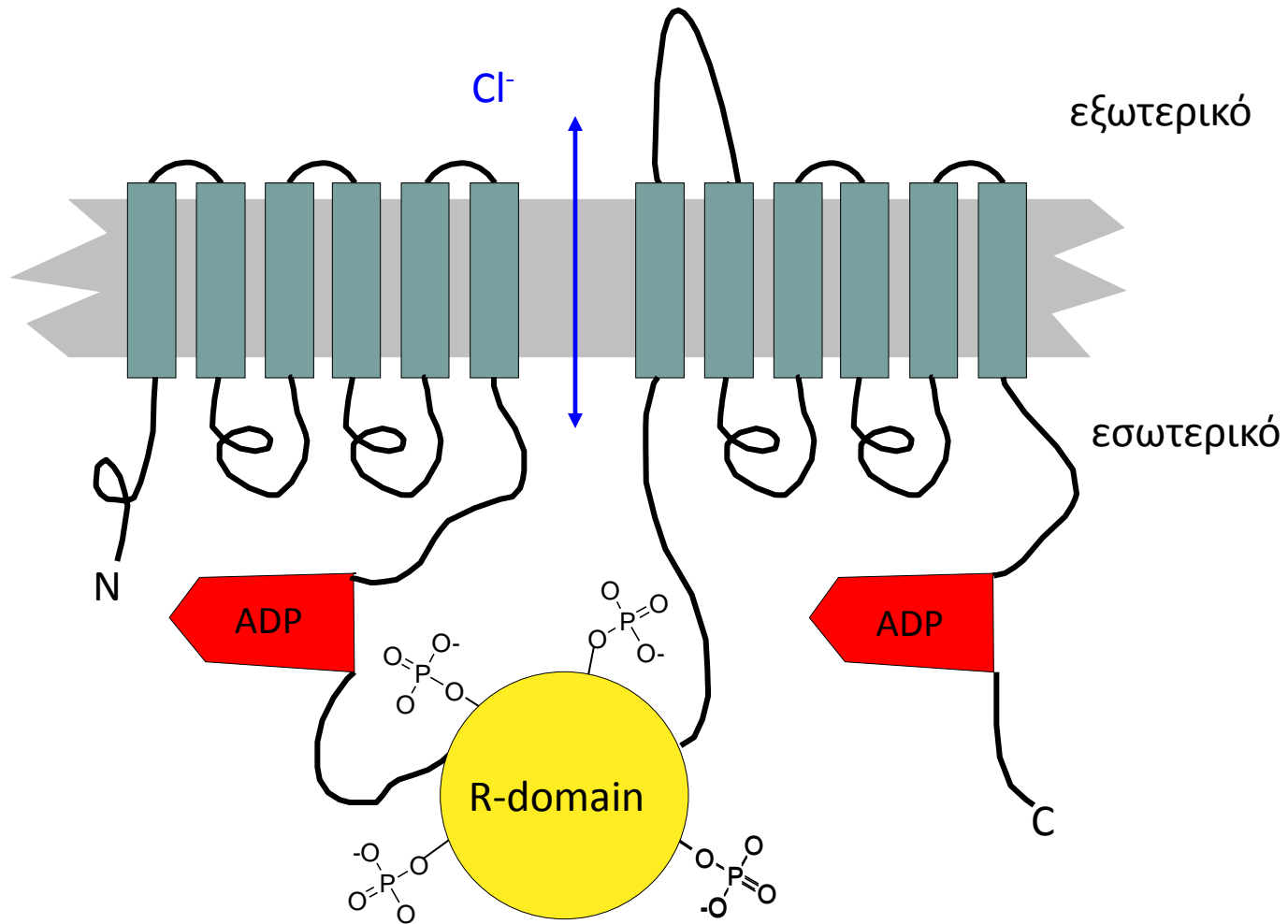


## Η πρωτεΐνη CFTR



Μεταφορά μορίων  $\text{H}_2\text{O}$  προς το εξωτερικό και διατήρηση υγρής βλέννας

Ενεργοποιείται από φωσφωρυλίωση και από τη διάσπαση του ATP



## Στην κυστική ίνωση

### CFTR Sequence:

Nucleotide	ATC	ATC	<b>C T T</b>	T	GGT	GTT
Amino Acid	Ile	Ile	<b>Phe</b>		Gly	Val
	506		508			510

Deleted in ΔF508

Έλλειψη 3bp

Η πιο συχνή μεταλλαγή  
70% στους Ευρωπαίους

### ΔF508 CFTR Sequence:

Nucleotide	ATC	ATT	GGT	GTT
Amino Acid	Ile	Ile	Gly	Val
	506			

***Cystic Fibrosis***

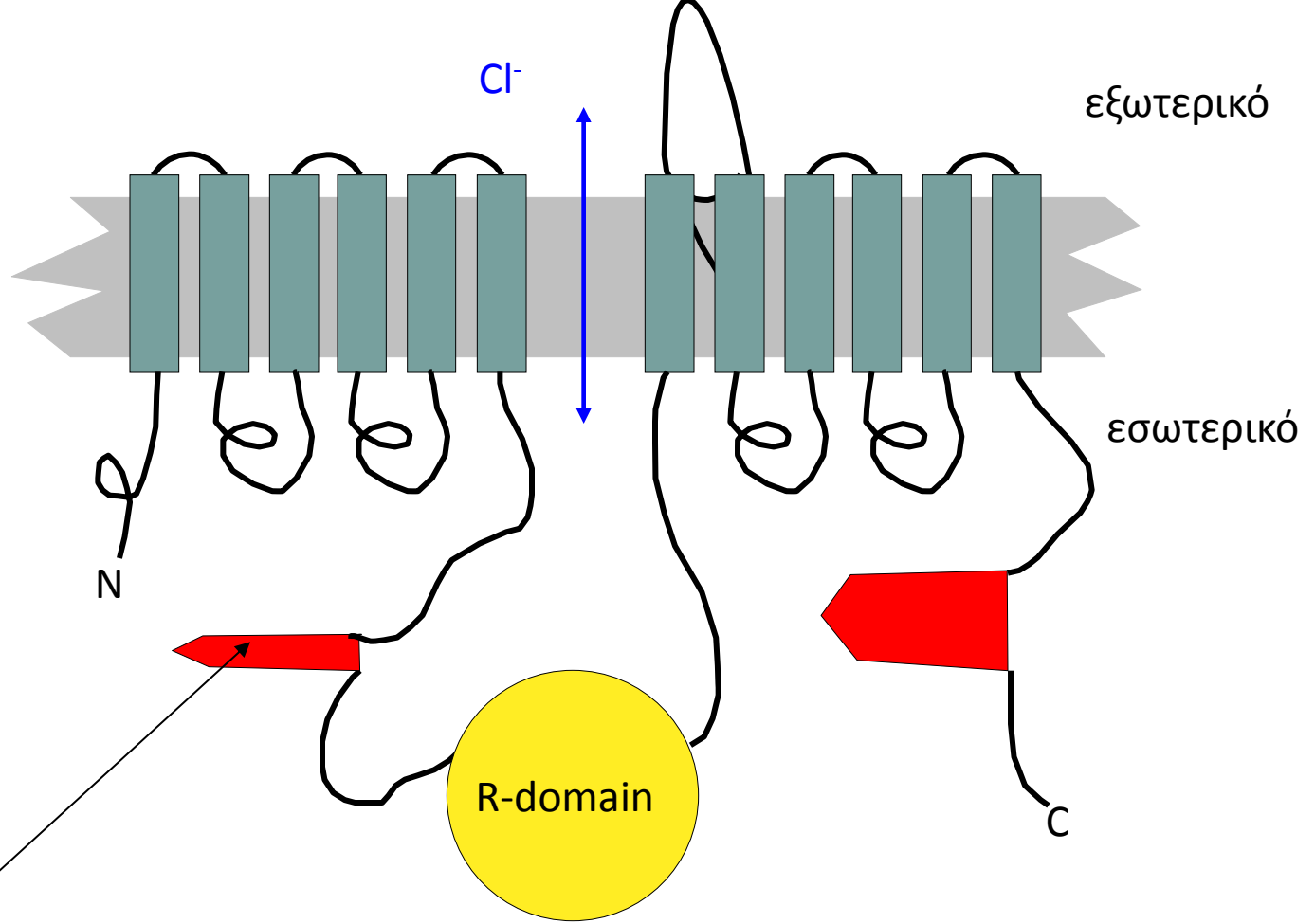
***Mutation Database***

1966 μεταλλαγές στην βάση δεδομένων

Statistics by mutation type:

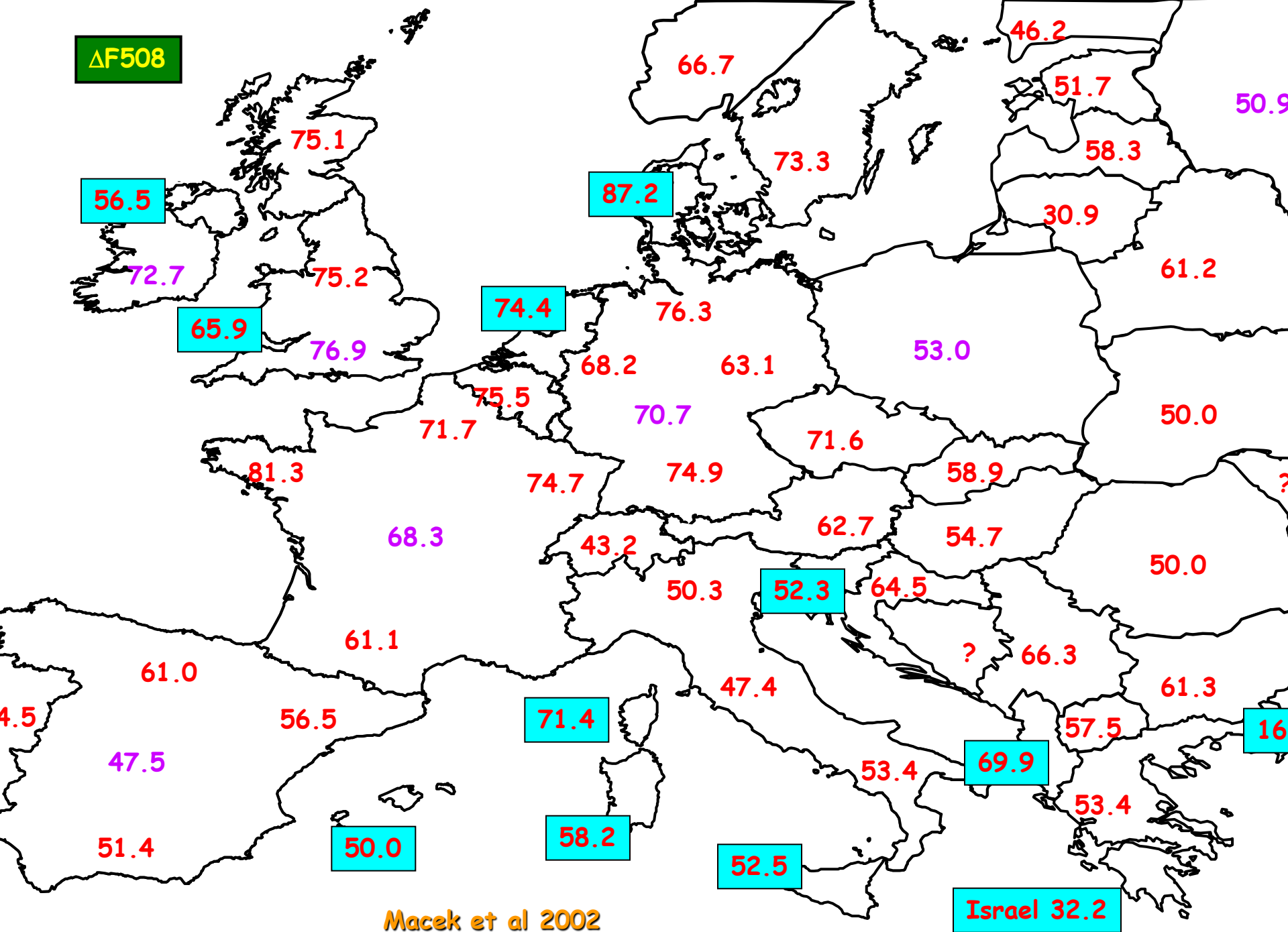
Mutation Type	Count	Frequency %
Missense	786	39.98
Frameshift	311	15.82
Splicing	228	11.60
Nonsense	162	8.24
In frame in/del	39	1.98
Large in/del	51	2.59
Promoter	15	0.76
Sequence variation	269	13.68
Unknown	105	5.34

**ΔF508**



Στην περιοχή σύνδεσης με το ATP

Η CFTRΔF508 καταστρέφεται στο ER και δεν μεταφέρεται στην κυτταρική μεμβράνη



Macek et al 2002

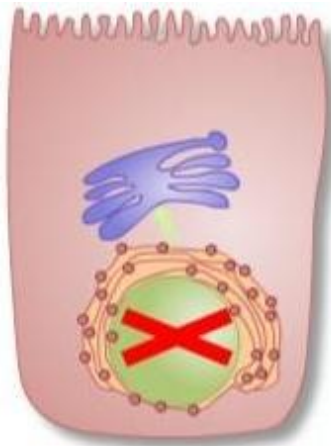
# ***Cystic Fibrosis***

## ***Mutation Database***

### Panel 2: **Functional classification of CFTR alleles**

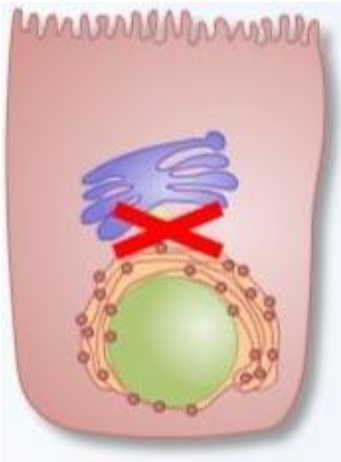
<b>Class</b>	<b>Functional effect of mutation</b>	<b>Allele</b>
I	Defective protein production	G542X, R553X, W1282X, R1162X, 621-1G→T, 1717-1G→A, 1078ΔT, 3659ΔC
II	Defective protein processing	ΔF508, ΔI507, N1303K, S549N
III	Defective protein regulation	G551D, R560T
IV	Defective protein conductance	R117H, R334W, G85E, R347P
V	Reduced amounts of functioning CFTR protein	3849+10KbC→T, 2789+5G→A, A455E
Unknown		711+1G→T, 2184DA, 1898+1G→A

✓ 6 μεταλλάξεις κοινές σε όλες τις πληθυσμιακές ομάδες



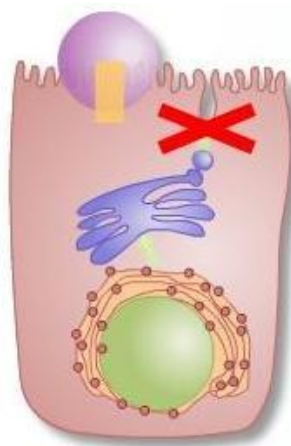
**I**

**Διαταραχές  
στην  
παραγωγή**



**II**

**Διαταραχές  
στην  
επεξεργασία**



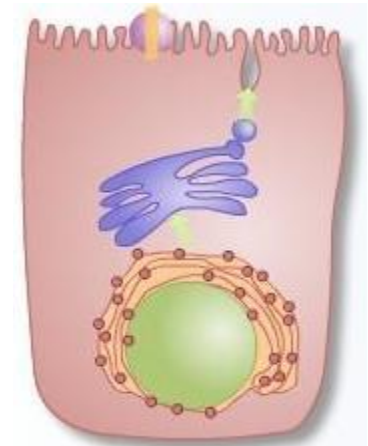
**III**

**Διαταραχές  
στη ρύθμιση**



**IV**

**Διαταραχές  
στην  
αγωγιμότητα**



**V**

**Διαταραχές  
στην ποσότητα**



**Στην Ελλάδα έχουν ταυτοποιηθεί 83 μεταλλάξεις**

- Οκτώ μεταλλάξεις αντιστοιχούν σε ποσοστό 74% των συνολικών μεταλλαγών**

<b>ΔF508del</b>	<b>53.4%</b>
<b>621+1G&gt;T</b>	<b>5.7%</b>
<b>G524X</b>	<b>3,9%</b>
<b>N1303K</b>	<b>2,6%</b>
<b>2183AA&gt;G</b>	<b>1,4%</b>
<b>E822X</b>	<b>1.4%</b>
<b>2789+5G&gt;A</b>	<b>1.7%</b>
<b>R1158X</b>	<b>1.0%</b>

### **Διάγνωση**

**Με ανάλυση αίματος και ταυτοποίηση αυξημένων επιπέδων τρυψινογόνου**

**Γενετικό τεστ**

**Είδος μεταλλαγής μπορεί να επηρεάσει βαρύτητα φαινοτύπου**