



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
Διευθυντής: Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
Διευθυντής: Καθηγητής ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΒΑΜΒΑΚΟΠΟΥΛΟΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

Διευθυντής ΠΜΣ : Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Καταγραφή υποχρωμοσωμικών ανωμαλιών σε έμβρυα,
νεογνά και παιδιά του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου**

Λάρισας την πενταετία 2012-2017

ΜΑΡΙΑ-ΑΝΝΑ ΓΕΡΟΓΙΑΝΝΗ

ΜΑΙΑ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης

ΛΑΡΙΣΑ

Οκτώβριος 2017

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής:

1^{ος} Εξεταστής

Αλέξανδρος Ι. Δαπόντε

(Επιβλέπων)

Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Διευθυντής ΠΜΣ, Διευθυντής
Μαιευτικής-Γυναικολογικής κλινικής ΠΓΝΛ

2^{ος} Εξεταστής

Αγγελική Γεροβασίλη

Διδάκτωρ Γενετικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

3^{ος} Εξεταστής

Ιωάννα Γριβέα

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής και Νεογνολογίας,
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ευχαριστίες

Αυτή η διπλωματική εργασία θα ήταν δύσκολο ως και αδύνατο να ολοκληρωθεί χωρίς τη βοήθεια μερικών ανθρώπων. Κάποιοι από αυτούς ήταν συνεργάτες και συνάδελφοι αλλά και αρκετοί ήταν εκτός του πανεπιστημιακού και επαγγελματικού μου χώρου, οι οποίοι ωστόσο έπαιξαν τον σπουδαιότερο ρόλο.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Δαπόντε, καθηγητή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, διευθυντή του ΠΜΣ και διευθυντή της Μαιευτικής-Γυναικολογικής κλινικής στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας για την ευκαιρία να φοιτήσω σε αυτό το ΠΜΣ, καθώς επίσης και για την άδεια που μας παρείχε για τα αρχεία της Γυναικολογικής κλινικής, που ήταν σημαντικό κομμάτι της εργασίας. Μαζί του έγιναν οι πρώτες συζητήσεις για τον σκοπό και διαμορφώθηκε το πλάνο της εργασίας. Για τα αρχεία της Γυναικολογικής, μεγάλη ήταν η βοήθεια της ειδικευόμενης της κλινικής κ. Σούκου. Έπειτα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Γεροβασίλη, διδάκτωρ Γενετικής και συνεπιβλέπουσα αυτής της διπλωματικής. Η κ. Γεροβασίλη ήταν εκεί για κάθε βήμα και κάθε απορία που ήθελε απάντηση και ήταν αυτή που με καθοδήγησε σε κάθε βήμα της διπλωματικής αυτής εργασίας.

Ακόμα, ένα ευχαριστώ ανήκει στην κ. Γριβέα, αναπληρώτρια καθηγήτρια του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, η οποία μας παρείχε χρήσιμες συμβουλές για το ερευνητικό κομμάτι. Επίσης, κατόπιν αδειάς της, δόθηκε η δυνατότητα για πρόσβαση στα αρχεία της Παιδιατρικής κλινικής. Στην αναζήτηση των αρχείων και διερεύνηση των περιστατικών της Παιδιατρικής κλινικής, πολύτιμη ήταν η βοήθεια της κ. Μιχούλα, παιδίατρου της κλινικής, που παρά τον μεγάλο φόρτο εργασίας της, διέθεσε χρόνο για την εύρεση και επίλυση όλων των αποριών που υπήρχαν. Επιπλέον, ένα ευχαριστώ ανήκει στην κ. Γαϊτανά, παιδίατρο-νεογνολόγο, διευθύντρια ΕΣΥ και Νεογνολογικής κλινικής-MENN του ΠΓΝΛ για την άδεια πρόσβασης στα αρχεία της Νεογνολογικής κλινικής. Σε αυτή την κλινική, σημαντική ήταν η βοήθεια της ειδικευόμενης κ. Καφφέ που βοήθησε στον εντοπισμό των αρχείων και στη λύση αρκετών αποριών σχετικά με αυτά. Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλο το νοσηλευτικό και διοικητικό προσωπικό του νοσοκομείου, που η υπομονή και η βοήθεια τους ήταν μεγάλη.

Το μεγαλύτερο όμως ευχαριστώ οφείλω να το δώσω, και είναι πολύ λίγο σε σχέση με αυτά που μου έχουν προσφέρει, στους δικούς μου ανθρώπους που χωρίς τη στήριξη, την βοήθεια, την ενθάρρυνση, την αγάπη τους και την πίστη τους σε μένα δεν θα είχα φτάσει μέχρι εδώ. Αυτοί οι άνθρωποι είναι πρώτα από όλα οι γονείς μου Κώστας και Φωτεινή. Ακόμα, είναι η αδερφή μου Όλγα, οι φίλοι μου και οι συγγενείς

μου. Σε αυτούς τους ανθρώπους βρίσκεται και η Ελευθερία, που της οφείλω ένα ξεχωριστό και τεράστιο ευχαριστώ.

Μαρία Άννα Γερογιάννη

Σύντομο βιογραφικό

Η συγγραφέας της παρούσας διπλωματικής εργασίας, που εκπονήθηκε στα πλαίσια ολοκλήρωσης του ΠΜΣ «Βιολογία της Αναπαραγωγής» του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Μαρία Άννα Γερογιάννη, είναι γεννημένη στην Αθήνα. Μεγάλωσε στον Βόλο κι εκεί ολοκλήρωσε τις σχολικές σπουδές της. Είναι απόφοιτη του τμήματος Μαιευτικής του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Ιδρύματος Θεσσαλονίκης με βαθμό πτυχίου 7,25/10. Πραγματοποίησε την πρακτική της άσκηση στο Αχιλλοπούλειο Γενικό Νοσοκομείο Βόλου.

Κατά το 2015 έως και 2016 εργάστηκε ως μαία στην «Πρότυπη Μαιευτική-Γυναικολογική Κλινική Βόλου ΜΟΝ ΙΚΕ». Παλαιότερα από το 2008 έως το 2009 είχε εργασθεί ως γραμματειακή υποστήριξη στην επιχείρηση ηλεκτρολογικών εγκαταστάσεων, συστημάτων ασφαλείας και παρακολούθησης «ELSYVO».

Από το 2009 ως και σήμερα, παρακολουθεί ανελλιπώς πλήθος σεμιναρίων και συνεδρίων, σχετικά με την επιστήμη της Μαιευτικής και Γυναικολογίας καθώς και άλλα παρεμφερούς γνωστικού πεδίου. Συνεχίζει να εμπλουτίζει τις γνώσεις και τις δεξιότητές της, και γι' αυτόν ακριβώς τον λόγο φοίτησε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2016-2017 στο ΠΜΣ της «Βιολογίας της Αναπαραγωγής».

**«ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΥΠΟΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΩΝ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ ΣΕ
ΕΜΒΡΥΑ, ΝΕΟΓΝΑ ΚΑΙ ΠΑΙΔΙΑ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟΥ
ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΛΑΡΙΣΑΣ ΤΗΝ ΠΕΝΤΑΕΤΙΑ 2012-2017»**

ΜΑΡΙΑ-ANNA ΓΕΡΟΓΙΑΝΝΗ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2017

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- Επιβλέπων:** **Αλέξανδρος Ι. Δαπόντε**
Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Διευθυντής ΠΜΣ, Διευθυντής Μαιευτικής-
Γυναικολογικής κλινικής ΠΓΝΛ
- Σύμβουλος :** **Αγγελική Γεροβασίλη**
Διδάκτωρ Γενετικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- Μέλος :** **Ιωάννα Γριβέα**
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής και Νεογνολογίας, Τμήμα
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Περίληψη

Η διπλωματική αυτή εργασία παρουσιάζει τα αποτελέσματα καταγραφής περιστατικών με υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες από τα αρχεία του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας κατά την πενταετία 2012-2017. Η εργασία διαρθρώνεται σε δύο βασικά μέρη, το θεωρητικό και το ειδικό. Το θεωρητικό μέρος απαρτίζεται από τον ορισμό και τα αίτια δημιουργίας των υποχρωμοσωμικών ανωμαλιών αλλά και από την βιβλιογραφική περιγραφή των ανωμαλιών που εντοπίστηκαν στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας την παραπάνω πενταετία. Αναλύθηκαν επίσης και υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες με μεγάλη συχνότητα παγκοσμίως καθώς και άλλες που εντοπίστηκαν κατά την έρευνα. Τέλος, η παρούσα εργασία πραγματεύεται τις τεχνικές ανάλυσης του γονιδιώματος αλλά και τον προγεννητικό έλεγχο. Επιπρόσθετα, στο ειδικό μέρος αναλύονται τόσο ο σκοπός της εργασίας αυτής, η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε κι εν τέλει τα αποτελέσματα της έρευνας, καθώς και τα συμπεράσματα που προκύπτουν.

Summary

This thesis presents the results of the documentation of cases with subchromosomal abnormalities from the archives of General University Hospital of Larissa, during the years 2012-2017. Its structure consists of two basic parts, theory and a section which includes the methods and the results of the investigation that followed. In the theoretical part, the reader can find the definition of subchromosomal abnormalities and the causes of their creation. Furthermore, all the abnormalities that were found at the General University Hospital of Larissa are described according to the international bibliography. Subchromosomal abnormalities with high frequency are also analyzed. Additionally, this thesis also mentions the analyzing techniques of genomewide and prenatal testing. Finally, in the second part, the target of this thesis, the methodology followed, the results of the investigation/documentation and the conclusions are analyzed.

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	2
Σύντομο βιογραφικό	4
Περίληψη.....	6
Summary.....	7
Πρόλογος.....	10
Εισαγωγή	11
Κατάλογος Εικόνων	12
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	13
Κεφάλαιο 1: Χρωμοσώματα.....	14
1.1 Χρωμοσωμική Δομή	14
1.2 Χρωμοσωμική Κυτταρογενετική Ανάλυση.....	17
1.3 Βασική κυτταρογενετική ονοματολογία	19
Κεφάλαιο 2: Χρωμοσωμικές ανωμαλίες.....	20
2.1 Αριθμητικές Χρωμοσωμικές Ανωμαλίες	20
2.1.1 Μωσαϊκισμός	21
2.1.2 Χίμαιρα	23
2.2 Υποχρωμοσωμικές Δομικές Ανωμαλίες	23
2.2.1 Αναστροφές.....	24
2.2.2 Μεταθέσεις	25
2.2.3 Ισοχρωμοσώματα	28
2.2.4 Ελλείμματα	29
2.2.5 Δακτυλιωτό Χρωμόσωμα	30
2.2.6 Διπλασιασμοί	31
2.2.7. Χρωμοσώματα-Δείκτες	32
2.2.8 Δικεντρικά χρωμοσώματα.....	32
Κεφάλαιο 3: Σύνδρομα Υποχρωμοσωμικών Ανωμαλιών	34
3.1 Σύνδρομο Prader-Willi.....	34
3.2 Σύνδρομο Angelman	38
3.3 Σύνδρομο DiGeorge.....	39
3.4 Σύνδρομο Phelan McDermid.....	41
3.5 Σύνδρομο Beckwith-Wiedemann	43
3.6 Δυσμορφία Dandy-Walker	44
3.7 Σύνδρομο Prune Belly	44

3.8 Ασθένεια Werdnig Hoffman–Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία 1	46
3.9 Σύνδρομο Scalp-Ear-Nipple	46
Κεφάλαιο 4: Τεχνικές Ανάλυσης	48
4.1 Καρυότυπος.....	48
4.2 Μοριακός Καρυότυπος	49
4.3 FISH (Fluorescence In Situ Hybridization-Φθορίζον In Situ Υβριδισμός)	51
Κεφάλαιο 5: Προγεννητικός Έλεγχος	53
5.1 Αμνιοπαρακέντηση	53
5.2 Λήψη χοριακών λαχνών	54
5.3 Υπερηχογράφημα.....	55
5.4 Cell-free DNA test.....	56
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	57
Α. Σκοπός.....	58
Β. Μέθοδος και Υλικό.....	58
Β1. Μέθοδος.....	58
Β2. Υλικό	58
Γ. Αποτελέσματα	60
Γ1. Ανάλυση Παθολογικών περιστατικών.....	60
Γ2. Παραπομπή περιστατικών για έλεγχο συγκεκριμένων συνδρόμων με αποτέλεσμα φυσιολογικό.	66
Δ. Δυσκολίες στην έρευνα και στη συγγραφή της εργασίας.....	67
Συμπεράσματα	69
Βιβλιογραφία	73
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	78

Πρόλογος

Οι υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες παρατηρούνται σε ποσοστό 1 στα 375 νεογέννητα και επηρεάζουν τμήματα του χρωμοσώματος προκαλώντας δομικές ανακατατάξεις σε αυτά. Τα αίτια δημιουργίας τους είναι πολλά και ποικίλα. Ο φαινότυπος που δημιουργούν είναι εξίσου πολυποίκιλος, εμφανίζοντας ωστόσο κοινά κι επαναλαμβανόμενα χαρακτηριστικά ανάλογα την περίπτωση.

Στη διπλωματική αυτή εργασία παρουσιάζεται η καταγραφή περιστατικών με υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας την πενταετία 2012-2017, στο ειδικό μέρος της εργασίας, ενώ στο θεωρητικό η αναλυτική βιβλιογραφική ανάλυση τους.

Το επιστημονικό ενδιαφέρον για αυτή την εργασία είναι σε συνάφεια με το ΠΜΣ αλλά και με την ιδιότητα της γράφουσας ως μαία. Παρά την εξέλιξη που έχει παρατηρηθεί στον τομέα του προγεννητικού ελέγχου, οι υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι ακόμη δύσκολο να ανιχνευθούν. Γι' αυτόν τον λόγο είναι επιτακτική η ανάγκη της μελέτης τους, κυρίως από επιστημονική άποψη, για τον εμπλουτισμό των γνώσεων, οι οποίες ταυτόχρονα θα προσφέρουν την δυνατότητα για καλύτερη συμπαράσταση των μαιών στις μητέρες και τα παιδιά με υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες.

Εισαγωγή

Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η καταγραφή των εμβρύων, νεογνών και παιδιών με υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας. Η μέθοδος που ακολουθήθηκε ήταν η καταγραφή των αποτελεσμάτων του καρυότυπου των ατόμων με παθολογικό φαινότυπο και η έκδοση αποτελεσμάτων.

Η αρχή για την διάγνωση των υποχρωμοσωμικών ανωμαλιών έγινε το 1970 με την βοήθεια των τεχνικών ζώνωσης. Φυσικά είχαν προηγηθεί άλλες σημαντικές ανακαλύψεις από σπουδαίους επιστήμονες όπως ο Mendel, ο Flemming και άλλοι. Συνοπτικά αναφέρεται η θεωρία ότι το κύτταρο είναι η βασική μονάδα ζωής. Ακόμη, έγιναν σημαντικές ανακαλύψεις σχετικά με την κληρονομικότητα, τον πυρήνα του κυττάρου, τον αριθμό των χρωμοσωμάτων και άλλα. Όλα τα παραπάνω ανήκουν στον κλάδο της βιολογίας που ονομάζεται γενετική και είναι η επιστήμη που έχει ως αντικείμενο μελέτης τη βιολογική ποικιλότητα, την κληρονομικότητα και τα γονίδια σε ζωντανούς οργανισμούς.

Τα βήματα που έχουν γίνει μέσα σε αυτόν τον χρόνο είναι πολύ μεγάλα. Σημείο σταθμό για την έρευνα των ανωμαλιών αποτελεί η εφεύρεση ειδικών τεχνικών ανάλυσης. Ο καρυότυπος είναι μια από τις εξετάσεις που διενεργείται για την διάγνωση υποχρωμοσωμικών ανωμαλιών. Άλλες τεχνικές ανάλυσης είναι ο μοριακός καρυότυπος και η FISH. Εκτός από τις τεχνικές ανάλυσης για την εύρεση κάποιας ανωμαλίας μετά τη γέννηση ενός παιδιού υπάρχει και ο προγεννητικός έλεγχος, που δίνει την γνώση και την επιλογή στη γυναίκα και στο ζευγάρι για την πορεία της κύησης.

Κατάλογος Εικόνων

- Εικόνα 1: (Alberts, et al., 2006)
- Εικόνα 2: <http://ebooks.edu.gr/modules/ebook/show.php/DSGL-B106/85/686,2586/>
- Εικόνα 3: (Τριανταφυλλίδης & Κουβάτση, 2009)
- Εικόνα 4: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4183026/figure/f01/>
- Εικόνα 5: (Nussbaum, et al., 2016)
- Εικόνα 6: (Thurik, et al., 2015)
- Εικόνα 7: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/mutationsanddisorders/structuralchanges>
- Εικόνα 8: (Τριανταφυλλίδης & Κουβάτση, 2009)
- Εικόνα 9: (Παρθενίου, 2008)
- Εικόνα 10: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/mutationsanddisorders/structuralchanges>
- Εικόνα 11: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/mutationsanddisorders/structuralchanges>
- Εικόνα 12: (Παρθενίου, 2008)
- Εικόνα 13: (Τριανταφυλλίδης & Κουβάτση, 2009)
- Εικόνα 14: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/mutationsanddisorders/structuralchanges>
- Εικόνα 15: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/mutationsanddisorders/structuralchanges>
- Εικόνα 16: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/mutationsanddisorders/structuralchanges>
- Εικόνα 17: (Nussbaum, et al., 2016)
- Εικόνα 18: (Rocha & Paiva, 2014)
- Εικόνα 19: (Nussbaum, et al., 2016)
- Εικόνα 20: (Nussbaum, et al., 2016)
- Εικόνα 21: (Nogueira, et al., 2008)
- Εικόνα 22: (Shpintzen, 2008)
- Εικόνα 23: <http://atlasgeneticsoncology.org/ISCN09/Chrom22ISCN09.html>
- Εικόνα 24: (Kolevzon, et al., 2014)
- Εικόνα 25: (Nussbaum, et al., 2016)
- Εικόνα 26: (Hassett, et al., 2012)
- Εικόνα 27: <http://ebooks.edu.gr/modules/ebook/show.php/DSGL-C112/52/390,1504/>
- Εικόνα 28: (Hamilton & Eason, 2015)
- Εικόνα 29: <http://atlasgeneticsoncology.org/Reports/0121ReindlID100041.html>
- Εικόνα 30: (Nussbaum, et al., 2016)
- Εικόνα 31: (Nussbaum, et al., 2016)

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1: Χρωμοσώματα

1.1 Χρωμοσωμική Δομή

Τα χρωμοσώματα εντοπίζονται στον πυρήνα του κυττάρου και είναι 46 στο σύνολό τους. Τα 44 είναι αυτοσωμικά χρωμοσώματα, που εμφανίζονται σε 22 ομόλογα ζεύγη, και τα άλλα 2 είναι φυλετικά. Ένα θήλυ άτομο έχει δύο Χ χρωμοσώματα ενώ ένα άρρεν άτομο έχει ένα Χ και ένα Υ. Ομόλογα χαρακτηρίζονται τα χρωμοσώματα που έχουν ίδιο μέγεθος και σχήμα και περιέχουν την ίδια γενετική πληροφορία. Κάθε χρωμόσωμα αποτελείται από τα γονίδια, φορείς της γενετικής πληροφορίας. Από την άλλη, αλληλόμορφα είναι τα γονίδια που βρίσκονται στις αντίστοιχες θέσεις των ομόλογων χρωμοσωμάτων και ελέγχουν την ίδια ιδιότητα με τον ίδιο ή διαφορετικό τρόπο (Alberts, et al., 2006).

Κάθε χρωμόσωμα αποτελείται από δύο αδερφές χρωματίδες, ένα κεντρομερίδιο (πρωτογενής περίσφυξη), που αποτελεί τη σύνδεση του χρωμοσώματος και το χωρίζει σε δύο βραχίονες, το μικρό βραχίονα p (petit) και το μακρύ βραχίονα q (quene). Ανάλογα με τη θέση του κεντρομεριδίου διακρίνονται τρεις τύποι χρωμοσωμάτων: α) τα μετακεντρικά, όπου το κεντρομέρος βρίσκεται στη μέση του χρωμοσώματος, β) τα υπομετακεντρικά, όπου το κεντρομέρος βρίσκεται σε έκκεντρη θέση και οι βραχίονες έχουν διαφορά μήκους, και γ) τα ακροκεντρικά, όπου το κεντρομέρος βρίσκεται στα άκρα του χρωμοσώματος ή αλλιώς στο τελομέρος. Τα χρωμοσώματα 1,3,16,19,20 είναι μετακεντρικά, τα 13,14,15,21,22 και το Υ είναι ακροκεντρικά και τα υπόλοιπα υπομετακεντρικά (Connor & Ferguson-Smith, 2004). Μερικά ακροκεντρικά χρωμοσώματα παρουσιάζουν μια δευτερογενή περίσφυξη. Αυτή βρίσκεται στα άκρα του χρωμοσώματος και δημιουργεί δορυφόρους, μικρές περιοχές χρωματίνης¹ (Alberts, et al., 2006).

Οι δευτερογενείς περισφίξεις είναι επιρρεπείς σε θραύσεις στις χρωματίδες. Έχουν εντοπιστεί 26 σπάνια εύθραυστα σημεία, τα οποία ανιχνεύονται στο 5% του πληθυσμού (Connor & Ferguson-Smith, 2004). Από αυτά, έπειτα από έρευνες, έχουν εντοπιστεί σε μεγαλύτερο ποσοστό τα παρακάτω: FRAXA (13), FRA13B (14), FRA7H (15), FRA10B (16), FRA16B (16), FRA1H (17) και FRA2G (17) (Burrow, et al., 2010). Μεταβιβάζονται με μενδέλειο κληρονομικότητα και σχεδόν όλα εμφανίζονται σε αυτοσωμικά χρωμοσώματα. Αυτά τα σπάνια εύθραυστα σημεία συνήθως αφορούν το ένα μόνο ομόλογο χρωμόσωμα και τα περισσότερα από αυτά δεν εμφανίζουν κάποια κλινική ανωμαλία. Εξάιρεση σε αυτά είναι το εύθραυστο

¹ Χρωματίνη: σύμπλοκο πρωτεϊνών πυρηνικού DNA

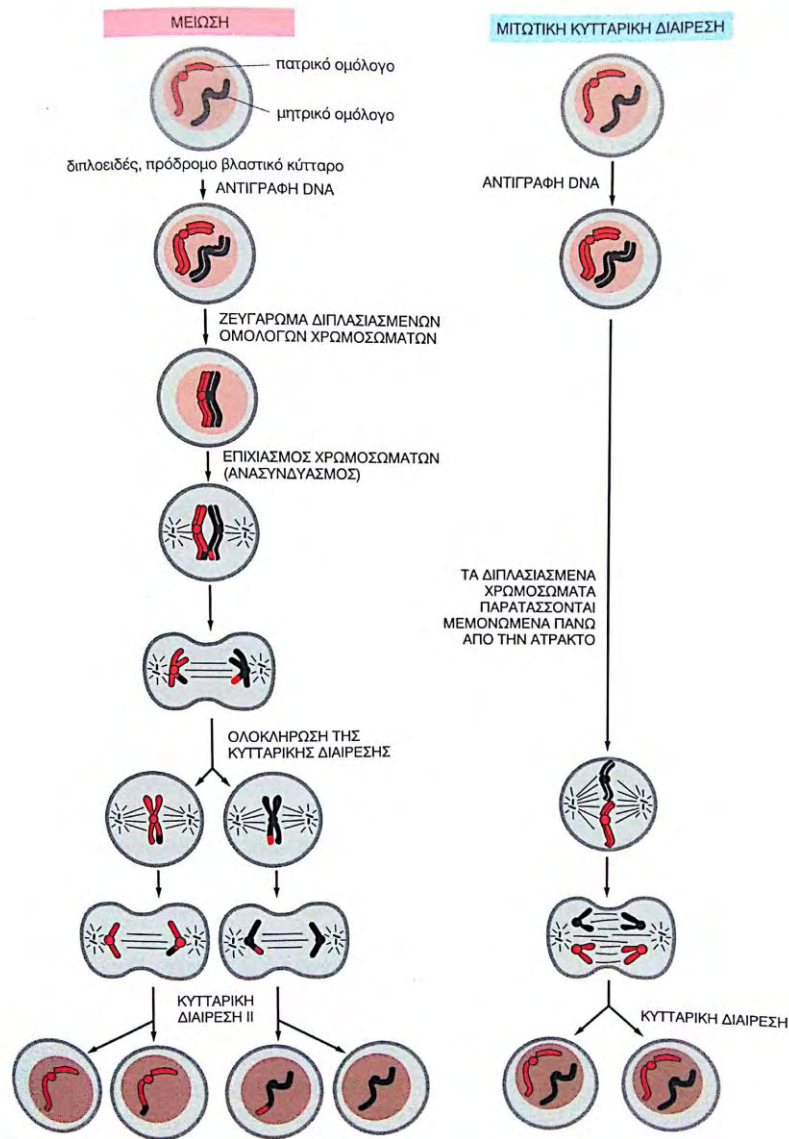
σημείο στο χρωμόσωμα X, το οποίο σχετίζεται με νοητική υστέρηση. Η μοριακή βάση αυτών των εύθραυστων σημείων φαίνεται να αφορά επαναλήψεις τρινουκλεοτιδίων, οι οποίες έχουν πολλαπλασιασθεί πέραν ενός κρίσιμου ορίου. Τα πιο συχνά εύθραυστα σημεία παρατηρούνται, εφόσον εισαχθούν σε συγκεκριμένη καλλιεργητική ουσία, η οποία ονομάζεται αφιδικολίνη (aphidicolin). Η αφιδικολίνη είναι αναστολέας της DNA πολυμεράσης (Connor & Ferguson-Smith, 2004).

Τα χρωμοσώματα αποτελούνται επίσης από ενεργές και μη ενεργές περιοχές. Ενεργή περιοχή είναι ευχρωματίνη² ενώ ανενεργή η ετεροχρωματίνη³. Οι ετεροχρωματινικές περιοχές βρίσκονται συνήθως κοντά στα κεντρομερίδια και τις δευτερογενείς περισφίξεις και αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες DNA. Περιέχουν λίγα γονίδια και πολλαπλασιάζονται αργότερα κατά τον διπλασιασμό του DNA. Στις ετεροχρωματικές περιοχές η ύπαρξη ελλείμματος ή πλεονασμός γενετικού υλικού δεν επηρεάζει τον φαινότυπο και θεωρείται ως πολυμορφικό εύρημα. Αντιθέτως, η δημιουργία οποιασδήποτε ανωμαλίας στις ευχρωματικές περιοχές φέρει σημαντικές αλλαγές στον φαινότυπο ενός ατόμου (Alberts, et al., 2006).

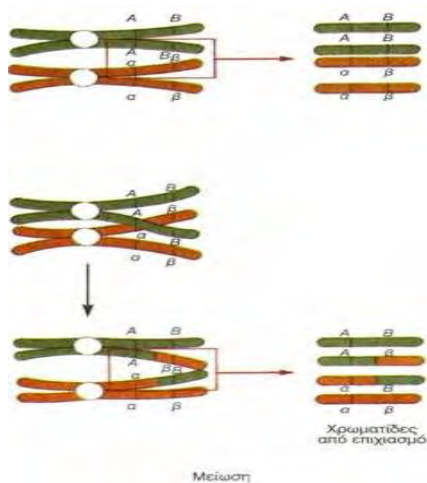
Η διαίρεση των κυττάρων διαφοροποιείται ανάλογα με το είδος του κυττάρου. Τα σωματικά κύτταρα (διπλοειδή κύτταρα) διαιρούνται με τη διαδικασία της μίτωσης ενώ τα γαμετικά (ωάριο, σπερματοζωάριο: απλοειδή κύτταρα) με τη διαδικασία της μείωσης (Alberts, et al., 2006).

² Ευχρωματίνη: μεσοφασική χρωματίνη, η οποία υπάρχει σε ποικίλες εκτεταμένες καταστάσεις

³ Ετεροχρωματίνη: η πιο συμπυκνωμένη μορφή της χρωματίνης



Εικόνα 1: Η μείωση δημιουργεί τέσσερα ανόμοια απλοειδή κύτταρα ενώ η μίτωση παράγει δύο ταυτόσημα διπλοειδή κύτταρα.



Εικόνα 2: Επιχίασμός πραγματοποιείται από αμοιβαία ανταλλαγή τμημάτων μεταξύ των δύο μη αδελφών χρωματίδων.

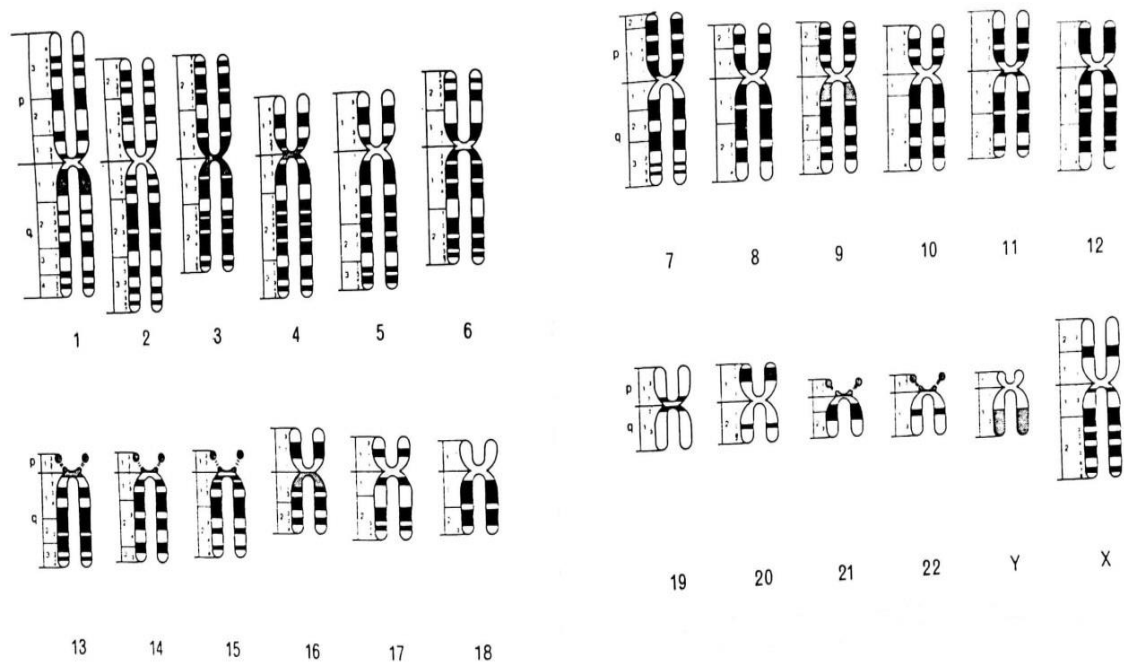
Η μείωση πραγματοποιείται σε δύο στάδια, τη μείωση I και II. Σε αυτά περιλαμβάνονται οι εξής φάσεις: η πρόφαση, η μετάφαση, η ανάφαση και η τελόφαση. Η πρόφαση περιλαμβάνει τα στάδια της λεπποταινίας, ζυγοταινίας, παχυταινίας, διπλοταινίας και διακίνησης. Στο στάδιο της διπλοταινίας παρατηρείται το φαινόμενο του επιχίασμού. Ο επιχίασμός δημιουργείται έπειτα από το ζευγάρωμα των ομόλογων χρωμοσωμάτων, τα οποία ανταλλάσσουν τμήματά τους (Alberts, et al., 2006).

1.2 Χρωμοσωμική Κυτταρογενετική Ανάλυση

Κυτταρογενετική είναι «η μελέτη της δομής των χρωμοσωμάτων και του τρόπου με τον οποίο αυτά κληρονομούνται» (Nussbaum, et al., 2011). Τα χρωμοσώματα μελετώνται με τη βοήθεια συγκεκριμένων τεχνικών χρώσης, οι οποίες επιδρούν σε αυτά δημιουργώντας ένα μοναδικό πρότυπο εναλλασσόμενων σκουρόχρωμων και ανοιχτόχρωμων ταινιών (ζωνών). «Ο σχηματισμός των ζωνών οφείλεται στην κατανομή του επαναλαμβανόμενου διαχωριστικού DNA, του μη επαναλαμβανόμενου γενωμικού DNA και ενός συμπλέγματος DNA με όξινες πρωτεΐνες και ιστόνες» (Behrman & Kliegman, 2010)

Αυτή η διαδικασία αποτελεί τον τρόπο ταυτοποίησης των χρωμοσωμάτων αλλά και διαφοροποίησης τους από τα υπόλοιπα. Ως ταινία ή ζώνη (band) «ορίζεται το τμήμα εκείνο του χρωμοσώματος που διακρίνεται καθαρά από τα διπλανά του ανάλογα με τη σκοτεινότερη ή φωτεινότερη έντασή του» (Τζέτη & Τσαρουχά, 2015).

Υπάρχουν τρεις βασικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τη διάκριση των ανθρώπινων χρωμοσωμάτων. Αρχικά, είναι τα χρωμοσώματα που έχουν υποστεί χρώση Giemsa (ζώνωση G), που είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη σε κλινικά εργαστήρια. Ένα δεύτερο πρότυπο ζώνωσης, είναι η ζώνωση Q. Οι φωτεινές ζώνες Q αντιστοιχούν σχεδόν ακριβώς στις σκοτεινές ζώνες G. Ακόμη, υπάρχει και η R (reverse) ζώνωση που χρησιμοποιείται, όταν σε κάποιες χρωμοσωμικές περιοχές οι άλλες ζωνώσεις δεν δίνουν αποτέλεσμα καλής ποιότητας, διότι το πρότυπο της R είναι ευκολότερο να αναλυθεί. Εκτός από αυτά τα τρία βασικά πρότυπα ζώνωσης, υπάρχουν και κάποιες άλλες ζωνώσεις που ανήκουν στις ειδικές κυτταρογενετικές τεχνικές. Αυτές είναι η ζώνωση C, η ζώνωση υψηλής ευκρίνειας και οι εύθραυστές θέσεις. Η ζώνωση C, όπως και η Q που αναλύθηκε παραπάνω, είναι ιδιαίτερα σημαντικές, καθώς χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση ετερομορφισμών (Nussbaum, et al., 2011) (Alberts, et al., 2006).



Εικόνα 3: Ιδιόγραμμα των χρωμοσωμάτων του ανθρώπου που βασίζεται στις τεχνικές Q, G και R. Με λευκό χρώμα είναι οι ζώνες Q, G με ασθενή χρώση. Με μαύρο χρώμα είναι οι ζώνες Q και G με χρώση και R χωρίς χρώση. Με γραμμώσεις είναι οι πολυμορφικές ζώνες.

Ως ετερομορφισμός χαρακτηρίζονται οι διαφορές που εμφανίζονται στη μορφολογία και το πρότυπο χρώσης των χρωμοσωμάτων. Η ζώνωση C, χρωματίζει κατ' επιλογήν την περιοχή του κεντρομεριδίου και τις χρωμοσωμικές περιοχές, που διαθέτουν μόνιμη ετεροχρωματίνη, δηλαδή τα χρωμοσωμικά τμήματα 1q, 9q και 16q, που βρίσκονται δίπλα από το κεντρομερίδιο, και την άνω περιοχή του Υq. Η ετεροχρωματίνη «εμφανίζει σκουρόχρωμη χρώση στα μη διαιρούμενα (μεσοφασικά) κύτταρα» (Nussbaum, et al., 2011).

1.3 Βασική κυτταρογενετική ονοματολογία

Για την καλύτερη κατανόηση και επικοινωνία μεταξύ των γενετιστών σχετικά με τα χρωμοσώματα, έχει επικρατήσει ένα σύστημα ονοματολογίας. Στο σύστημα αυτό ονοματοδοτείται αρχικά ο αριθμός των χρωμοσωμάτων. Ακόμη, διατυπώνονται το είδος των φυλετικών χρωμοσωμάτων, η παρουσία υπεράριθμων χρωμοσωμάτων ή η απουσία τους και οι εκάστοτε χρωμοσωμικές ανακατατάξεις. Η αρίθμηση των ζωνών γίνεται βάσει συγκεκριμένων σημείων (landmarks) και ξεκινά από το κεντρομερίδιο και πάνω, όταν πρόκειται για τον μικρό βραχίονα, και από το κεντρομερίδιο και κάτω, όταν πρόκειται για τον μεγάλο βραχίονα (Korf, 2012).

p (petit)	βραχύ σκέλος	ins (insertion)	προσθήκη
q (queen)	μακρύ σκέλος	mos, / (mosaicism)	μωσαϊκισμός
del (deletion)	έλλειμμα	t (translocation)	μετάθεση
der (derivative)	παράγωγο χρωμόσωμα	dup (duplication)	διπλασιασμός
h	ετερομορφισμός/ετεροδισωμία	+/-	δηλώνει προσθήκη-έλλειψη, όταν γράφεται πριν τον αριθμό του χρωμοσώματος
fra (fragile)	εύθραυστο	+/-	προσθήκη-έλλειψης χρωμοσωμικού τμήματος, όταν γράφεται μετά τον αριθμό του χρωμοσώματος
ish (in situ hybridization)	in situ υβριδισμός	r (ring chromosome)	δακτυλιοειδές χρωμόσωμα
inv (inversion)	αναστροφή	i (isochromosome)	ισοχρωμόσωμα

Πίνακας 1: Συντομογραφίες που χρησιμοποιούνται για τον χαρακτηρισμό των χρωμοσωμάτων και των χρωμοσωμικών ανωμαλιών τους. Πηγή: Συντομογραφίες από ISCN 2013 (International System of Human Cytogenetic Nomenclature)

Κεφάλαιο 2: Χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Χρωμοσωμικές ανωμαλίες ονομάζονται οι μεταλλάξεις που υφίστανται τα χρωμοσώματα τόσο στον αριθμό όσο και στη δομή τους. Διακρίνονται δύο κατηγορίες χρωμοσωμικών ανωμαλιών: οι υποχρωμοσωμικές (δομικές) και οι αριθμητικές. Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι δυνατό να συμβούν εκ νέου κατά την γαμετογένεση αλλά και να κληρονομηθούν από τους γονείς στους απογόνους τους. Έχει αποδειχθεί πως το 50% των αυτόματων αποβολών κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης οφείλεται σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες (Behrman & Kliegman, 2010).

Ο φαινότυπος ενός ατόμου καθώς και η κλινική του συμπτωματολογία είναι οι βασικοί παράγοντες για την παραπομπή του σε καρυοτυπικό έλεγχο. Παραδειγματικά αναφέρονται το χαμηλό ανάστημα, η στειρότητα, το ιστορικό πολλαπλών αυτόματων αποβολών, η μεγάλη καθυστέρηση της αρχής της εμμήνου ρύσεως στα κορίτσια, οι πολλαπλές διαμαρτίες, η παρουσία αμφιβόλων γεννητικών οργάνων, η προχωρημένη ηλικία της μητέρας καθώς και η σημαντικού βαθμού αναπτυξιακή καθυστέρηση ή η νοητική καθυστέρηση (Behrman & Kliegman, 2010).

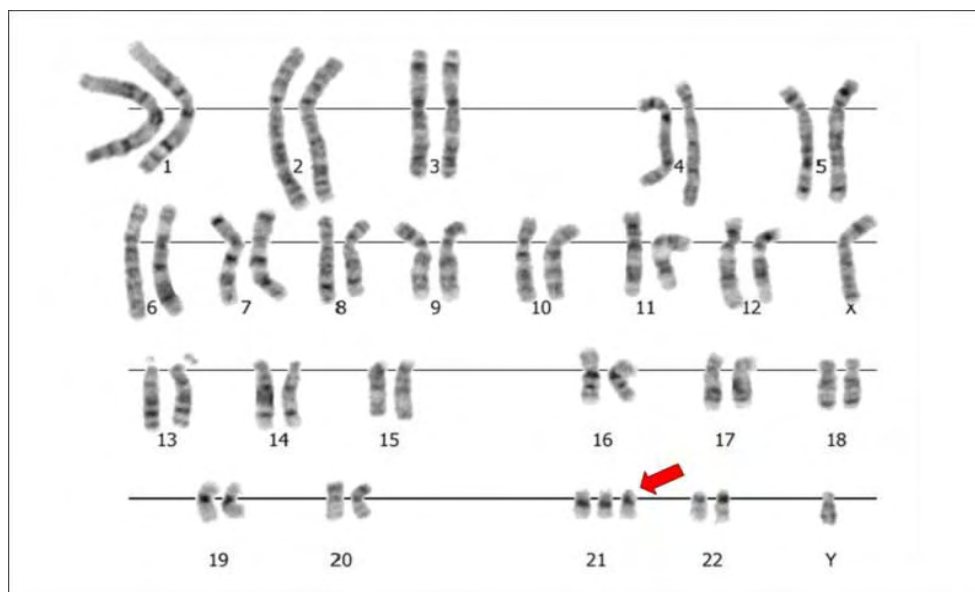
2.1 Αριθμητικές Χρωμοσωμικές Ανωμαλίες

Αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες προκύπτουν κατά τη διαίρεση του κυττάρου από μη αποχωρισμό των αδερφών χρωματίδων στο στάδιο της ανάφασης. Το ίδιο αποτέλεσμα προκύπτει και από τη καθυστερημένη μετακίνηση ενός χρωμοσώματος. Η πιθανότητα να συμβεί κάτι από τα παραπάνω αυξάνεται όσο μεγαλώνει η ηλικία της μητέρας και σε μητέρες με υποθυρεοειδισμό. Επίσης, είναι δυνατό να συμβεί μετά από ακτινοβολία ή ιογενή λοίμωξη ενώ ενυπάρχει και ως οικογενής προδιάθεση (Connor & Ferguson-Smith, 2004).

Οι αριθμητικές ανωμαλίες χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: σε ευπλοειδίες και ανευπλοειδίες. Ως ευπλοειδίες ορίζονται οι ανωμαλίες που δημιουργούν αλλαγές στη σειρά των χρωμοσωμάτων και ως ανευπλοειδίες αυτές κατά τις οποίες προστίθεται ή αφαιρείται ένα χρωμόσωμα. Ως αποτέλεσμα, στις ανευπλοειδίες παράγονται δύο κύτταρα, το ένα με ένα επιπλέον αντίγραφο χρωμοσώματος, φαινόμενο που ονομάζεται τρισωμία ($2n+1$), και το άλλο με ένα λιγότερο αντίγραφο, που ονομάζεται μονοσωμία ($2n-1$). Τέλος, υπάρχουν και αριθμητικές ανωμαλίες που χαρακτηρίζονται ως πολυπλοειδία και έχουν πάνω από τέσσερις σειρές χρωμοσωμάτων (Zitelli & Davis, 2009).

Παραδείγματα αριθμητικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών

- Τρισωμία 21 ή Σύνδρομο Down : 47,XX +21
- Τρισωμία 18 ή Σύνδρομο Edwards : 47,XY +18
- Τρισωμία 13 ή Σύνδρομο Patau : 47,XX +13
- Σύνδρομο Klinefelter 47,XXY
- Μονοσωμία 45,X

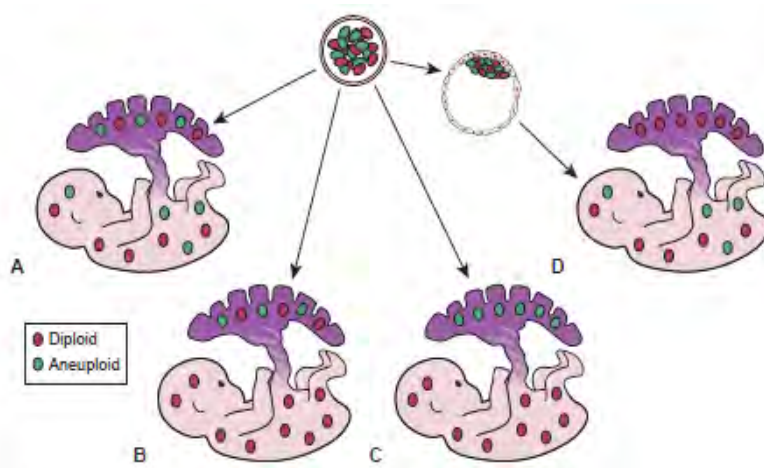


Εικόνα 4: Καρυότυπος άρρενος με Giemsa-G-band. Με κόκκινο βελάκι σημειώνεται η τρισωμία 21-σύνδρομο Down.

2.1.1 Μωσαϊκισμός

Χρωμοσωμικός μωσαϊκισμός είναι η παρουσία δύο η περισσότερων κυτταρικών σειρών σε ένα άτομο, προερχόμενες από έναν ζυγώτη (Connor & Ferguson-Smith, 2004). Ουσιαστικά, πρόκειται για την αποτυχία των χρωμοσωμάτων να διαχωριστούν φυσιολογικά κατά τη διάρκεια της μίτωσης, με αποτέλεσμα την προσθήκη ή απώλεια ολόκληρων χρωμοσωμάτων, φαινόμενο γνωστό ως ανευπλοειδία (Taylor, et al., 2014). «Αν ο μη διαχωρισμός συμβεί στην πρώτη αυλάκωση του ζυγωτού, οι μισοί ιστοί του ατόμου είναι τρισωμικοί και οι υπόλοιποι μονοσωμικοί. Αν συμβεί στη δεύτερη αυλάκωση του ζυγωτού, τότε το ένα τέταρτο των ιστών είναι μονοσωμικοί, το ένα τέταρτο τρισωμικοί, ενώ το υπόλοιπο ένα δεύτερο έχει φυσιολογικό καρυότυπο. Αν ο μη διαχωρισμός συμβεί αργά στη διάρκεια της ανάπτυξης του ανθρώπου, τότε μόνο τα θυγατρικά κύτταρα που προέρχονται από την ανώμαλη μίτωση είναι ανευπλοειδή» (Τριανταφυλλίδης & Κουβάτση, 2009). Σε αυτές τις περιπτώσεις, όπου μόνο μικρό ποσοστό των σωματικών ιστών είναι ανευπλοειδές, οι επιδράσεις στον φαινότυπο και την ανάπτυξη του ατόμου είναι πολύ μικρές ή δεν υπάρχουν καθόλου.

Ο μωσαϊκισμός διακρίνεται σε δύο κατηγορίες τον γενικό, που είναι η παρουσία δύο ή περισσότερων κυτταρικών σειρών σε ολόκληρο τον οργανισμό, και τον περιορισμένο, που εντοπίζεται σε συγκεκριμένη περιοχή. Στα πρώτα στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης ο μωσαϊκισμός εντοπίζεται στις κυήσεις σε ένα ποσοστό 65-70% (Taylor, et al., 2014). Ο μικρός αριθμός των κυττάρων αυτών και η αργή διαίρεση τους, σε σχέση με τα ευπλοειδικά, έχει συχνά ως αποτέλεσμα τη φυσιολογική ανάπτυξη του εμβρύου. Από την άλλη, περιορισμένος μωσαϊκισμός έχει εντοπιστεί στον εγκέφαλο στον πλακούντα, στις γονάδες και αλλού (Yurov, et al., 2007).



Εικόνα 5: A: Ο γενικός μωσαϊκισμός επηρεάζει το έμβryo και τον πλακούντα. B: Περιορισμένος μωσαϊκισμός: φυσιολογικά κύτταρα (κόκκινα), παθολογικά (πράσινα). C: Περιορισμένος μωσαϊκισμός στον πλακούντα με μόνο μια παθολογική σειρά κυττάρων. D: Περιορισμένος μωσαϊκισμός στο έμβryo.

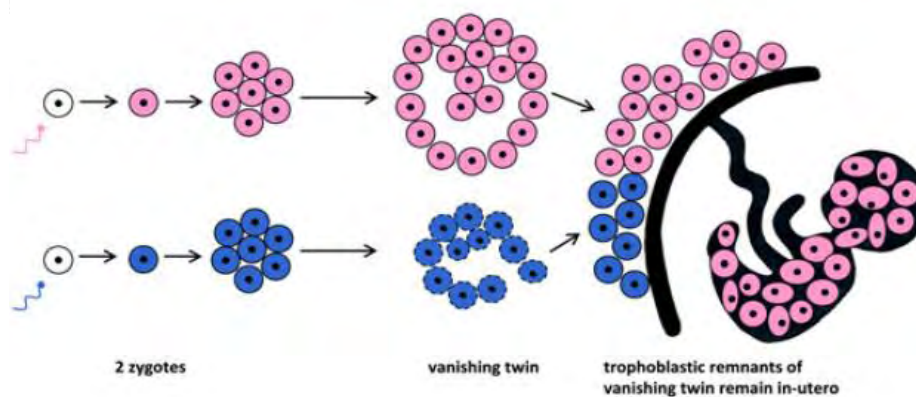
Κατά τη διάρκεια της μίτωσης, η δυσλειτουργία τριών μηχανισμών μπορεί να οδηγήσει σε μωσαϊκισμό: α) ο ατελής διαχωρισμός, όπου η αδελφή χρωματίδα αποτυγχάνει να διασπαστεί με αποτέλεσμα την ύπαρξη δυο κυττάρων με μονοσωμία και τρισωμία αντίστοιχα, β) καθυστέρηση της ανάφασης, όπου μια χρωματίδα δεν καταφέρνει να ενσωματωθεί στον πυρήνα με αποτέλεσμα την μονοσωμία αυτού του χρωμοσώματος στο ένα κύτταρο και μια δισωμία στο αντίστοιχο χρωμόσωμα στο άλλο κύτταρο, γ) πολυπλοειδία, η αντιγραφή δηλαδή ενός χρωμοσώματος, χωρίς ωστόσο να καταφέρει να διαχωριστεί (Taylor, et al., 2014).

Το είδος του μωσαϊκισμού καθώς και οι κλινικές επιπτώσεις του εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες. Κυρίως περιλαμβάνουν το πού και το πότε κατά την ανάπτυξη εμφανίστηκε ανευπλοειδία και κατ' επέκταση μωσαϊκισμός, και εν τέλει αν η ανευπλοειδία αυτή μπορεί να πολλαπλασιαστεί (Taylor, et al., 2014).

Τέλος, κάθε χρωμόσωμα περιέχει γονίδια με διαφορετική πληροφορία το καθένα κι έτσι τα αποτελέσματα του μωσαϊκισμού είναι εκτεταμένα και μοναδικά για κάθε περίπτωση (Taylor, et al., 2014).

2.1.2 Χίμαιρα

Η ύπαρξη δύο κυτταρικών σειρών σε ένα άτομο, έπειτα από συγχώνευση δύο διαφορετικών ζυγών, ονομάζεται χίμαιρα. Μπορεί όμως και να δημιουργηθεί έπειτα από γονιμοποίηση του ωαρίου με δύο σπερματοζωάρια (Connor & Ferguson-Smith, 2004). Ο καρυότυπός τους έχει σύσταση XX/XY. Τα άτομα αυτά δεν παρουσιάζουν συνήθως κάποια κλινικά χαρακτηριστικά αλλά υπάρχει πιθανότητα να μην έχουν μόνο μια ομάδα αίματος (Τριανταφυλλίδης & Κουβάτση, 2009).



Εικόνα 6: Χίμαιρα στον πλακούντα, η οποία προκαλείται από συγχώνευση των τροφοβλαστών του νεκρού εμβρύου (τα κύτταρα του άρρενος νεκρού κυήματος απεικονίζονται με μπλε χρώμα) και τροφοβλαστών από το ζων θήλυ έμβρυο (τα κύτταρα απεικονίζονται με ροζ χρώμα).

2.2 Υποχρωμοσωμικές Δομικές Ανωμαλίες

Οι υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες επηρεάζουν τμήματα του χρωμοσώματος και προκαλούν δομικές ανακατατάξεις σε αυτά (Nussbaum, et al., 2016). Στη βιβλιογραφία αναφέρονται και ως δομικές ανωμαλίες. Οι δύο αυτοί όροι είναι αποδεκτοί και χρησιμοποιούνται εξίσου συχνά.

Οι υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι αποτέλεσμα χρωμοσωμικής θραύσης από κάποια αιτία όπως ακτίνες X, χημικά μέσα και μετέπειτα λανθασμένης επανένωσής τους ή απώλειάς τους. Συνήθως, τα χρωμοσωμικά τμήματα που δεν επανασυνδέονται σε χρωμόσωμα με κεντρομέρος είναι ασταθή και χάνονται. Επίσης, χρωμοσωμικές αναδιατάξεις μπορούν να δημιουργηθούν από άνισο διασκελισμό (επιχιασμός), με αποτέλεσμα τα προϊόντα που θα προκύψουν από τη μειωτική

διαίρεση να είναι ένας γαμέτης με έλλειμμα και ένας με διπλασιασμένο γενετικό υλικό (Παρθενίου, 2008).

Οι υποχρωμοσωμικές/δομικές ανωμαλίες διαιρούνται σε ισοζυγισμένες και μη ισοζυγισμένες ανακατατάξεις. Οι ισοζυγισμένες ανακατατάξεις δημιουργούνται όταν συνολικά τα χρωμοσώματα διαθέτουν τη σωστή ποσότητα γενετικού υλικού και αυτές είναι οι αναστροφές και οι μεταθέσεις. Οι μη ισοζυγισμένες ανακατατάξεις δημιουργούνται, όταν υπάρχει περισσότερο ή λιγότερο γενετικό υλικό σε σχέση με το φυσιολογικό και χωρίζονται στα ισοχρωμοσώματα, τα ελλείμματα, τα δακτυλιωτά χρωμοσώματα, τους διπλασιασμούς, τα χρωμοσώματα-δείκτες και τα δικεντρικά χρωμοσώματα (Nussbaum, et al., 2011).

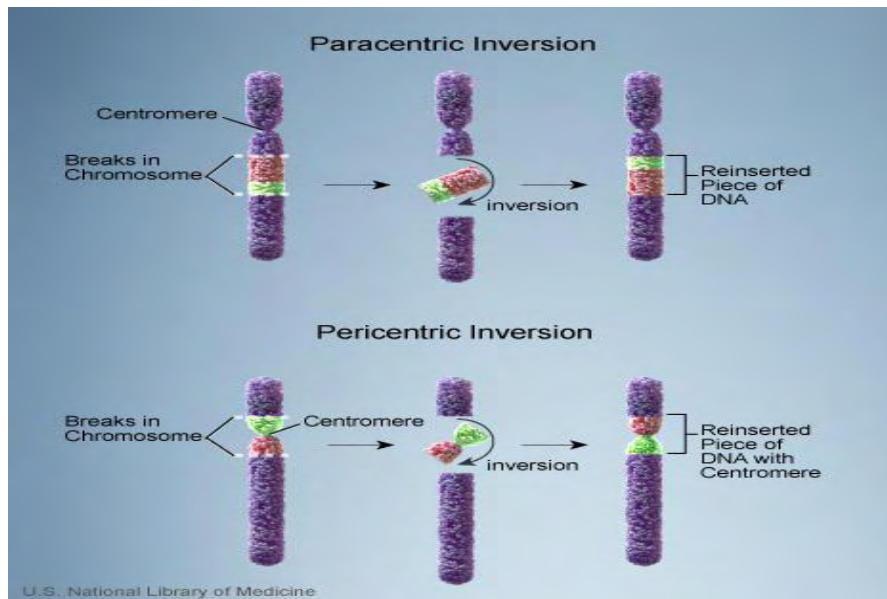
2.2.1 Αναστροφές

Όπως ήδη έχει αναφερθεί οι αναστροφές ανήκουν στην κατηγορία των ισοζυγισμένων ανακατατάξεων. Αναστροφή συμβαίνει όταν πραγματοποιούνται δύο θραύσεις στο χρωμόσωμα και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ανταλλαγή θέσεων μεταξύ των δύο αυτών τμημάτων (Nussbaum, et al., 2011).

Οι αναστροφές χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: τις παρακεντρικές και τις περικεντρικές. Στις παρακεντρικές δεν περιλαμβάνεται το κεντρομερίδιο και τα δύο σημεία θραύσης υπάρχουν στον ίδιο βραχίονα. Αντίθετα, στις περικεντρικές το κεντρομερίδιο περιλαμβάνεται, και τα σημεία θραύσης μοιράζονται και στους δύο βραχίονες (Nussbaum, et al., 2016). Λόγω του ότι δεν λείπει κομμάτι της γενετικής πληροφορίας, δεν παρουσιάζεται συνήθως αλλαγή στον φαινότυπο του ατόμου. Ο κίνδυνος όμως δημιουργίας μη ισορροπημένων γαμετών αυξάνεται (Nussbaum, et al., 2016).

Στο στάδιο της μείωσης, όπου γίνεται η ένωση των ομολόγων, υπάρχει η πιθανότητα εμπλοκής των αναστροφών, με αποτέλεσμα να επέλθει ανισορροπία και δημιουργία βρόγχου. Μια ακόμη συνέπεια των αναστροφών είναι η αποτυχία σύζευξης των χρωμοσωμικών βραχιόνων (Nussbaum, et al., 2016).

Σε παρακεντρική αναστροφή μπορεί να προκύψουν διπλασιασμοί και ελλείψεις και ειδικότερα μια χρωματίδα με δύο κεντρομέρη και ένα ακεντρικό χρωμόσωμα. Σε αυτές τις αναστροφές οι απόγονοι δεν είναι φυσιολογικοί και συνήθως δεν επιβιώνουν (Nussbaum, et al., 2016).



Εικόνα 7: Δημιουργία παρακεντρικής και περικεντρικής αναστροφής.

Από την άλλη, σε περικεντρική αναστροφή δημιουργούνται διπλασιασμοί και ελλείψεις, έπειτα από τον ανώμαλο επιχιασμό στον βρόγχο. Τα κομμάτια που έχουν διπλασιαστεί ή φέρουν την έλλειψη, βρίσκονται απομακρυσμένα από το σημείο θραύσης και διπλασιασμού τους και σε σχέση με τη φυσιολογική τους θέση (Connor & Ferguson-Smith, 2004) (Korf, 2012).

Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση των παρακεντρικών αναστροφών είναι οι τεχνικές ζώνωσης και η FISH ενώ οι περικεντρικές με κυτταρογενετικές μεθόδους (Nussbaum, et al., 2011).

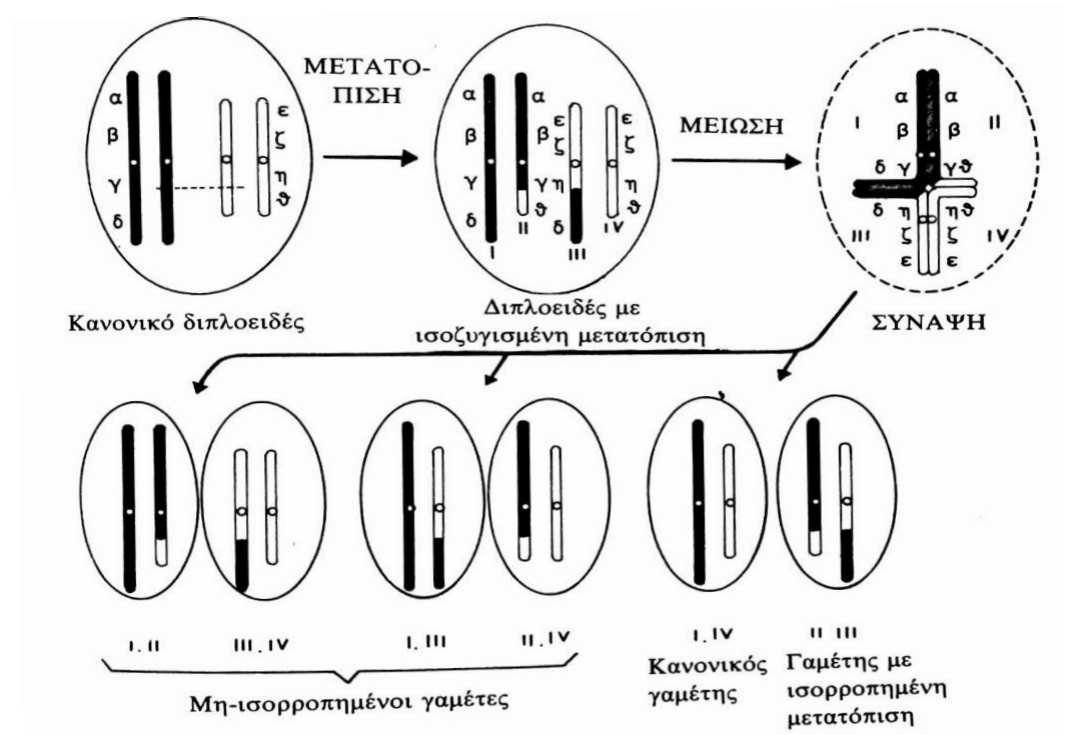
2.2.2 Μεταθέσεις

Μεταθέσεις πραγματοποιούνται όταν γίνεται ανταλλαγή γενετικού υλικού μεταξύ των χρωμοσωμάτων, συνήθως μεταξύ μη ομόλογων χρωμοσωμάτων (Nussbaum, et al., 2011). Αντιλαμβανόμαστε την ύπαρξη μιας μετάθεσης με τη δημιουργία μη ισοζυγισμένων γαμετών κατά τη μείωση, οι οποίοι έχουν σαν αποτέλεσμα αυτόματη αποβολή ή παιδί με συγγενείς ανωμαλίες (Korf, 2012). Οι μεταθέσεις κατηγοριοποιούνται σε δύο κατηγορίες, τις αμοιβαίες μεταθέσεις και τις μεταθέσεις Robertson.

Οι αμοιβαίες μεταθέσεις δημιουργούνται έπειτα από θραύση τμημάτων σε δύο χρωμοσώματα και αμοιβαία ανταλλαγή αυτών των τμημάτων. Συνήθως πρόκειται για δύο μη ομόλογα χρωμοσώματα και εφόσον η ανταλλαγή είναι αμοιβαία, παραμένει ίδιος και ο αριθμός των χρωμοσωμάτων (Nussbaum, et al., 2011). Αυτό επίσης

ονομάζεται και ισοζυγισμένη μετάθεση. Αυτού του τύπου οι μεταθέσεις είναι οι πιο συνηθισμένες σε ζευγάρια με δύο ή τρεις αυτόματες αποβολές και σε άγονους άνδρες σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό (Nussbaum, et al., 2016). Όμως υπάρχει και η πιθανότητα να δημιουργηθούν γαμέτες με ανισορροπία στο γενετικό υλικό αν ο διαχωρισμός τους κατά τη μείωση είναι λανθασμένος (Korf, 2012).

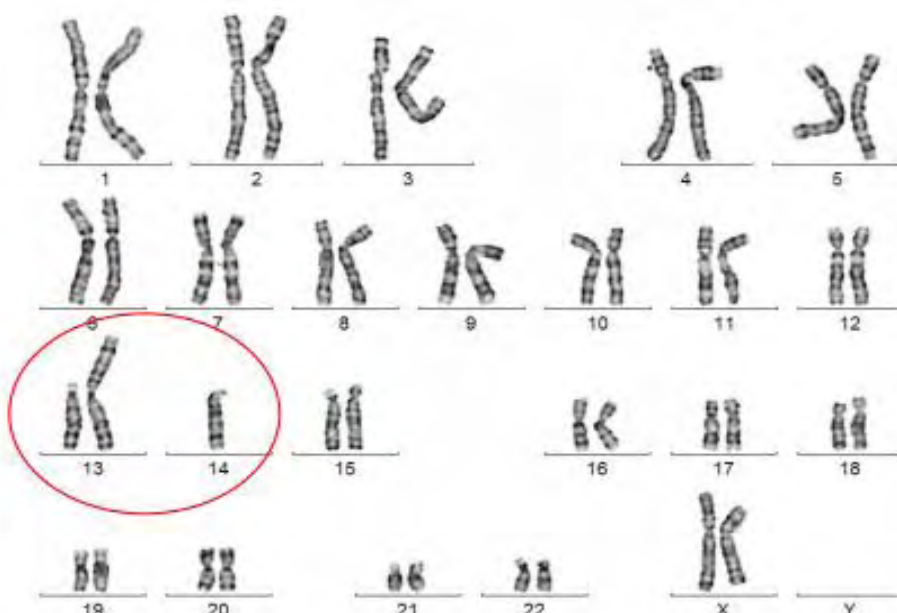
Ο μηχανισμός της διαίρεσης χρωμοσωμάτων με ισοζυγισμένη μετάθεση είναι αρκετά περίπλοκος. Κατά τη μείωση εμπλέκονται τέσσερα χρωμοσώματα, τα δύο είναι αυτά που έχουν ανταλλάξει γενετικό υλικό και τα άλλα δύο είναι τα ομόλογά τους. Στο στάδιο της ανάφασης I οι τρόποι διαχωρισμού είναι πολλοί. Αρχικά, αν ο διαχωρισμός γίνει με τα ομόλογα να είναι στο ένα κύτταρο και τα χρωμοσώματα με το ανταλλαγμένο γενετικό υλικό στο άλλο, τότε θα προκύψουν γαμέτες που είτε θα είναι φυσιολογικοί είτε αναδιατεταγμένοι. Στην περίπτωση αυτή, οι γαμέτες θα είναι γενετικά εξισορροπημένοι. Αν όμως οι γαμέτες έχουν ένα φυσιολογικό και ένα αναδιατεταγμένο χρωμόσωμα θα έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία της γενετικής ανισορροπίας. Επιπλέον, γενετική ανισορροπία μπορεί να προκύψει όταν κατά τον διαχωρισμό τρία χρωμοσώματα μεταφέρονται στο ένα κύτταρο (τρισωμία) και ένα στο άλλο (μονοσωμία) ή πιο σπάνια όταν και τα τέσσερα τοποθετούνται στο ένα κύτταρο. Στις περιπτώσεις αυτές το αποτέλεσμα της γενετικής ανισορροπίας είναι πολύ σοβαρό (Korf, 2012).



Εικόνα 8: Αμοιβαία μετατόπιση και οι γενετικές της επιπτώσεις.

Η άλλη κατηγορία των μεταθέσεων είναι αυτές που ονομάζονται μεταθέσεις κατά Robertson. Πήραν το όνομά τους από τον γενετιστή Robertson που μελέτησε ανακατατάξεις σε ποντίκια (Korf, 2012). Είναι οι πιο συχνές χρωμοσωμικές ανακατατάξεις στο είδος του ανθρώπου και «αφορούν δύο ακροκεντρικά χρωμοσώματα, τα οποία ενώνονται κοντά στην περιοχή του κεντρομεριδίου τους με ταυτόχρονη απώλεια των μικρών βραχιονίων τους» (Nussbaum, et al., 2011). Το αποτέλεσμα είναι μονοσωμία με 45 χρωμοσώματα, εκ των οποίων το ένα από αυτά έχει υποστεί μετάθεση, η οποία έχει δημιουργηθεί από τους δύο μεγάλους βραχίονες δύο χρωμοσωμάτων. Η απώλεια των μικρών βραχιονίων δεν είναι σημαντική και δεν παρουσιάζει ανώμαλο φαινότυπο. Οι κατηγορίες των μεταθέσεων αυτών είναι δύο: οι μονοκεντρικές και οι ψευδοκεντρικές. Η κατηγορία καθορίζεται από το μέρος που έγινε η θραύση σε ένα ακροκεντρικό χρωμόσωμα (Nussbaum, et al., 2011).

Οι πιο συχνές μεταθέσεις κατά Robertson είναι οι (13;14)(q10;q10) και η (14;21)(q10;q10). Η μετάθεση (13;14) (q10q10) έχει ποσοστό συχνότητας 1/1.300 και είναι η πιο συχνή ανακατάταξη στους ανθρώπους. Ακόμα, έχουν εντοπιστεί καρυότυποι με 44 χρωμοσώματα και μεταθέσεις κατά Robertson 13q 14q, που ο φαινότυπος δείχνει φυσιολογικός. Σε αυτές τις περιπτώσεις έχει γίνει αντικατάσταση των φυσιολογικών χρωμοσωμάτων 13 και 14 με τα αντίγραφα που φέρουν την μετάθεση (Nussbaum, et al., 2016).



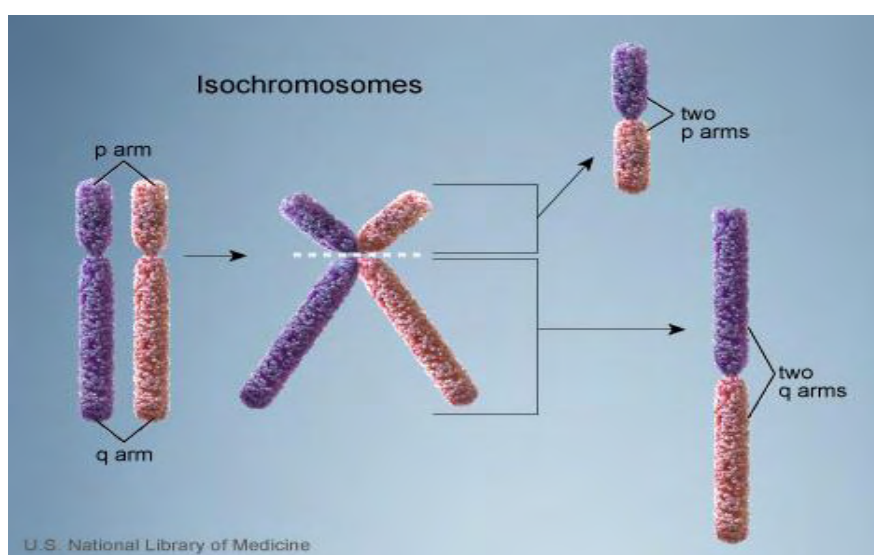
Εικόνα 9: Καρυότυπος θήλεος. Σημειώνεται με κόκκινο μετάθεση Robertson στα χρωμοσώματα 13, 14.

Ακόμα, όπως έχει αναφερθεί, ο φαινότυπος των ατόμων με ισοζυγισμένη μετάθεση είναι φυσιολογικός και τα άτομα που την φέρουν είναι απλά φορείς. Σε αυτούς όμως

εμφανίζεται αυξημένος κίνδυνος παραγωγής μη ισοζυγισμένων γαμετών άρα και απογόνων. Ο κίνδυνος για τους απογόνους αλλάζει ανάλογα με την μετάθεση και το φύλο του φορέα. Ο κίνδυνος μετάδοσης αυξάνεται κατά πολύ σε γυναίκες- φορείς. Όσον, αφορά την μετάθεση Robertson (14;21)(q10;q10) είναι υπεύθυνη για ένα 5% τρισωμίας 21 ή αλλιώς συνδρόμου Down (Nussbaum, et al., 2016).

2.2.3 Ισοχρωμοσώματα

Ισοχρωμόσωμα λέγεται το χρωμόσωμα που παρουσιάζει έλλειμμα του βραχίονα στο ένα σκέλος ενώ στο άλλο ο βραχίονας έχει διπλασιαστεί (Nussbaum, et al., 2011). Το ισοχρωμόσωμα δημιουργείται κατά τη διαίρεση του κυττάρου, όταν το κεντρομέρος διαιρείται στον εγκάρσιο άξονα και όχι στον επιμήκη, όπως συμβαίνει φυσιολογικά (Παρθενίου, 2008). Επιπλέον, ισοχρωμόσωμα προκύπτει όταν γίνεται θραύση των ισοχρωματίδων και προσκολλούνται πάνω στο κεντρομερίδιο (Connor & Ferguson-Smith, 2004).



Εικόνα 10: Δημιουργία ισοχρωμοσώματος.

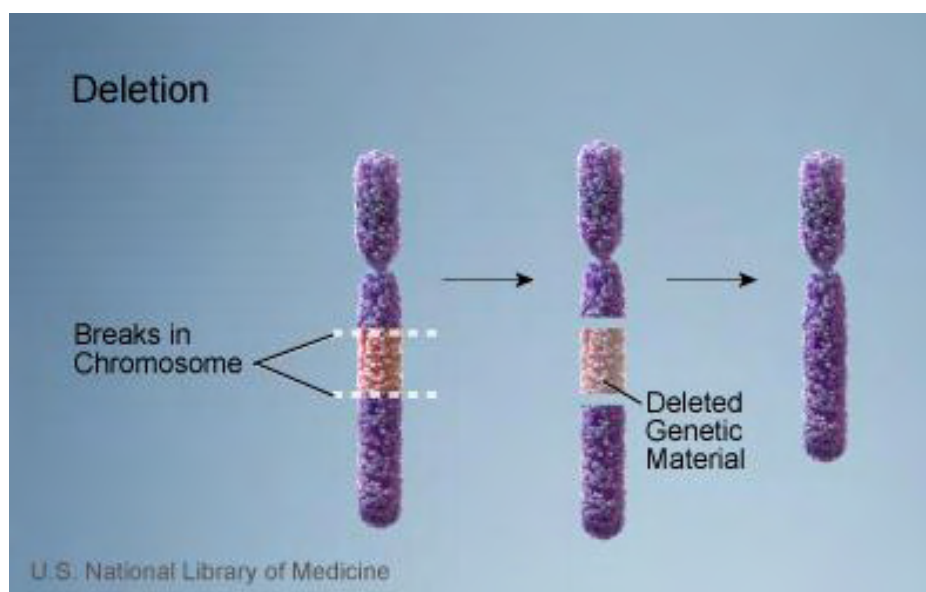
Ένα άτομο με φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων, που όμως το ένα είναι ισοχρωμόσωμα, έχει μερική μονοσωμία και μερική τρισωμία. Στον ένα βραχίονα του ισοχρωμοσώματος εντοπίζεται ένα μόνο αντίγραφο του γενετικού υλικού (μερική μονοσωμία) ενώ στον άλλον τρία αντίγραφα (μερική τρισωμία) (Nussbaum, et al., 2011).

Τέλος, το ισοχρωμόσωμα i (Xq) είναι το πιο συχνό και βρίσκεται στο μεγάλο βραχίονα του X χρωμοσώματος. Ισοχρωμοσώματα εντοπίζονται συχνά σε περιπτώσεις όγκων και αιματολογικών κακοηθειών (Nussbaum, et al., 2011).

2.2.4 Ελλείμματα

Έλλειμμα ονομάζεται η απουσία τμημάτων του χρωμοσώματος, η οποία προκαλεί χρωμοσωμική ανισορροπία. Οι ελλείψεις τείνουν να έχουν φαινότυπο με σωματικές ανωμαλίες και μαθησιακές δυσκολίες (Lissauer & Clayden, 2011) και ανιχνεύονται σε συχνότητα 1 στις 7.000 γεννήσεις (Nussbaum, et al., 2016).

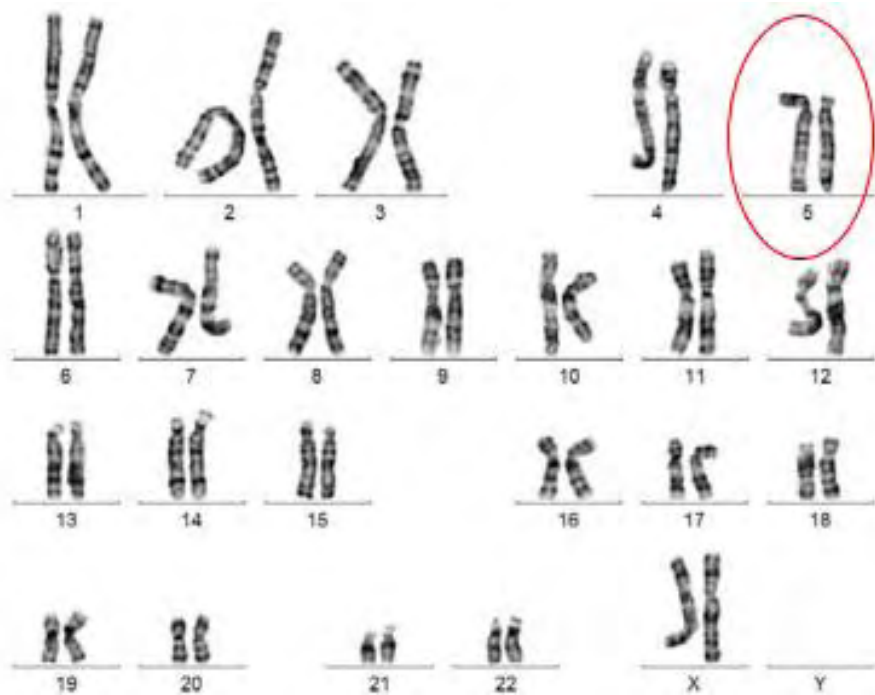
Οι ελλείψεις προκύπτουν από θραύσμα κοντά στο τελομέρος και τα κομμάτια που χωρίζονται, δεν επανασυνδέονται. Ένα από αυτά χάνεται και το άλλο καταλήγει να γίνει τελομέρος. Αυτού του είδους ελλείψεις ονομάζονται ακραίες. Επίσης, υπάρχουν οι ενδιάμεσες ελλείψεις, οι οποίες δημιουργούνται από δύο θραύσματα σε ένα βραχίονα. Στη συνέχεια, το τμήμα με το κεντρομερίδιο ενώνεται με το ακραίο κομμάτι του χρωμοσώματος (Τριανταφυλλίδης & Κουβάτση, 2009). Επιπλέον, μπορεί κομμάτια των χρωμοσωμάτων να αλλάξουν από τη φυσιολογική τους θέση μέχρι και 180° μοίρες (Korf, 2012) δηλαδή με ισοζυγισμένη αναστροφή ή και με ισοζυγισμένη μετάθεση.



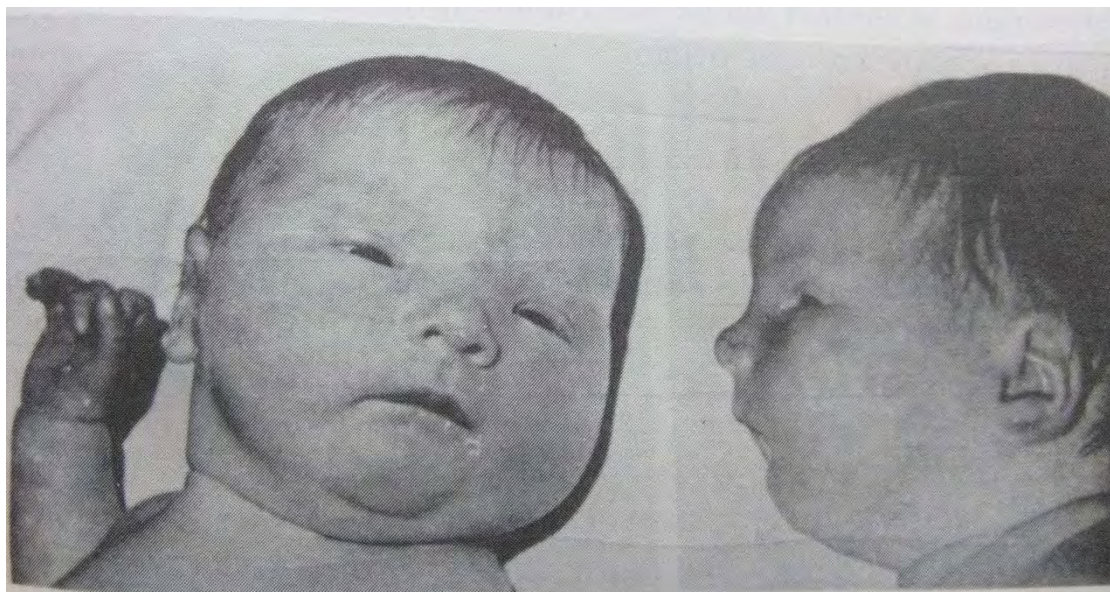
Εικόνα 11: Δημιουργία ελλείμματος.

Τα ελλείμματα ανιχνεύονται μόνο με FISH και τεχνικές ζωνώσης υψηλής ευκρίνειας ή μικροσυστοιχίες με τη χρήση ειδικών ανιχνευτών, λόγω του μικρού τους μεγέθους.

Ένα πολύ γνωστό σύνδρομο, που οφείλεται σε έλλειψη είναι το σύνδρομο Cri du Chat, το οποίο ονομάστηκε κατ' αυτόν τον τρόπο λόγω του κλάματος του μωρού. Το έλλειμμα υπάρχει στο μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 5 και χαρακτηρίζεται από φεγγαροπροσωπεία, υπερτελορισμό, χαμηλή πρόσφυση αυτιών, μικρογναθία κ.ά. (Παρθενίου, 2008).



Εικόνα 12: Καρυότυπος θήλεος. Σημειώνεται με κόκκινο χρώμα έλλειμμα στο χρωμόσωμα 5.

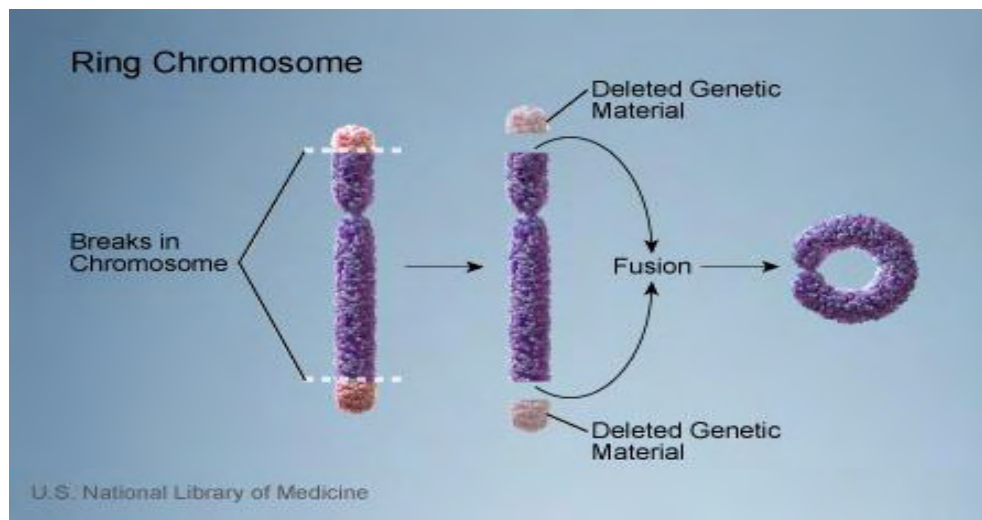


Εικόνα 13: Νεογέννητο με σύνδρομο Cri-du-chat.

2.2.5 Δακτυλιωτό Χρωμόσωμα

Δακτυλιωτό χρωμόσωμα δημιουργείται από δύο ρήγματα στους δύο βραχίονες του χρωμοσώματος και από μετέπειτα συνένωση των δύο ελεύθερων άκρων με τη δημιουργία ενός δακτυλίου. Τα δύο τελικά άκρα συνήθως μετά από αρκετές διαιρέσεις χάνονται, αλλά υπάρχει και η πιθανότητα προσκόλλησής τους σε κάποιο άλλο χρωμόσωμα (Τριανταφυλλίδης & Κουβάτση, 2009). Η έλλειψη χρωματίνης από

τα δύο αυτά άκρα μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στον φαινότυπο (Korf, 2012). Υπάρχει συχνά μιτωτική αστάθεια εξαιτίας των αδερφών χρωματίδων, που κατά τη διάρκεια της ανάφασης δημιουργούν καινούργια θραύσματα, και αυτά με τη σειρά τους επανασυνδέονται δημιουργώντας καινούργιους δακτύλιους. Η συχνότητα τους δεν είναι μεγάλη και εντοπίζονται σε λίγα κύτταρα (Korf, 2012) (Nussbaum, et al., 2011).

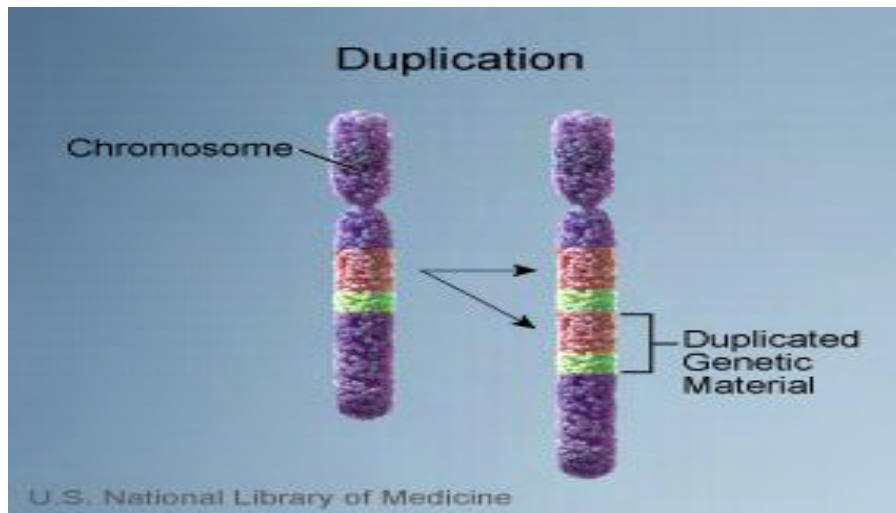


Εικόνα 14: Δημιουργία δακτυλιωτού χρωμοσώματος.

Δακτυλιωτά χρωμοσώματα έχουν βρεθεί σε όλα τα χρωμοσώματα του ανθρώπινου οργανισμού. Ένα όχι συχνό αλλά σημαντικό έλλειμμα είναι αυτό στο χρωμόσωμα X. Ο καρύοτυπος είναι 46,X, r(X) με έλλειμμα και στα δύο άκρα των βραχιονίων του χρωμοσώματος.

2.2.6 Διπλασιασμοί

Διπλασιασμός σε ένα χρωμόσωμα προκύπτει από την προσθήκη τμήματος γενετικού υλικού. Αυτό μπορεί να συμβεί με επιχιασμό ή άνισο διασκελισμό κατά τη μείωση. Οι διπλασιασμοί μπορεί να προκαλέσουν αλλαγές στον φαινότυπο του ατόμου αλλά δεν είναι τόσο σοβαρές σε σχέση με αυτές που προκαλούν τα ελλείμματα (Nussbaum, et al., 2011).



Εικόνα 15: Δημιουργία διπλασιασμού.

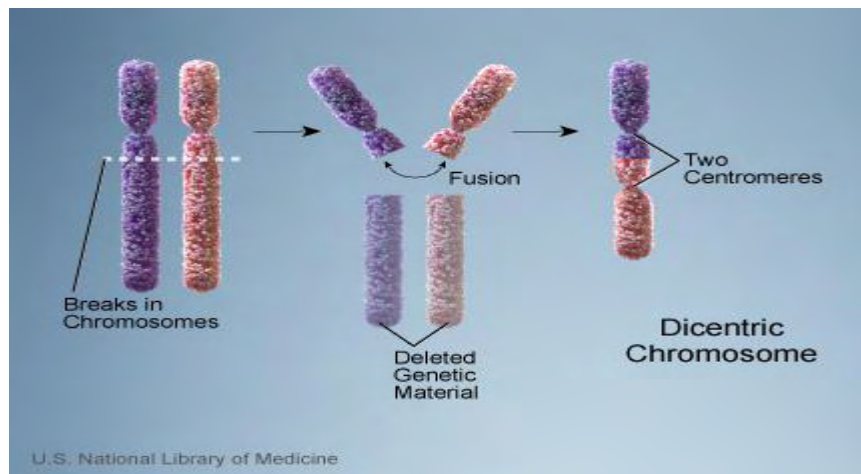
2.2.7. Χρωμοσώματα-Δείκτες

Είναι πολύ μικρού μεγέθους χρωμοσώματα, τα οποία δύσκολα ανιχνεύονται και χαρακτηρίζονται από μωσαϊκισμό. Τα χρωμοσώματα-δείκτες συνήθως συνυπάρχουν με φυσιολογικά χρωμοσώματα και για το λόγο αυτό ονομάζονται και υπεράριθμα χρωμοσώματα ή υπεράριθμα δομικά ανώμαλα χρωμοσώματα. Είναι δύσκολος ο εντοπισμός και ο χαρακτηρισμός τους ακόμα και με τεχνικές υψηλής ευκρίνειας λόγω μεγέθους. Επομένως, η τεχνική που χρησιμοποιείται είναι η FISH. Μεγάλου μεγέθους χρωμοσώματα-δείκτες μπορούν να έχουν γενετικό υλικό από τον έναν ή και από τους δύο βραχίονες, οδηγώντας σε ανισορροπία των γονιδίων που βρίσκονται σε αυτές τις περιοχές (Nussbaum, et al., 2011) (Παρθενίου, 2008). Η προγεννητική συχνότητα de novo δημιουργίας αυτών των χρωμοσωμάτων έχει υπολογιστεί ότι είναι 1 στα 2500 (Nussbaum, et al., 2016).

2.2.8 Δικεντρικά χρωμοσώματα

Τα δικεντρικά χρωμοσώματα είναι πολύ σπάνια. Δημιουργούνται από τη συνένωση τμημάτων διαφόρων χρωμοσωμάτων ή από τμήματα των χρωματίδων ενός χρωμοσώματος (Nussbaum, et al., 2011). Είναι χρωμοσώματα που έχουν τα κεντρομέρη τους αλλά έχουν ενωθεί τα άκρα τους και παράλληλα έχουν χάσει τα ακεντρικά τους τμήματα. Αυτά τα χρωμοσώματα θα μπορούν να είναι σταθερά εφόσον αδρανοποιηθεί το ένα κεντρομερές ή οι κινήσεις των κεντρομερών συντονιστούν στον ένα από τους δύο πόλους του κυττάρου κατά το στάδιο της ανάφασης.

Σε αυτή την κατηγορία κατατάσσονται και τα ψευδοδικεντρικά χρωμοσώματα. Τα πιο συνήθη ψευδοδικεντρικά χρωμοσώματα είναι τα φυλετικά και τα ακροκεντρικά (Nussbaum, et al., 2011) (Παρθενίου, 2008).



Εικόνα 16: Δημιουργία δικεντρικού χρωμοσώματος.

Κεφάλαιο 3: Σύνδρομο Υποχρωμοσωμικών Ανωμαλιών

Στο παρόν κεφάλαιο θα αναλυθούν βιβλιογραφικά τα σύνδρομα, τα οποία εντοπίστηκαν στα αποτελέσματα του καρυότυπου των καταγεγραμμένων περιστατικών, καθώς και σύνδρομα για τα οποία υπήρχε υποψία ύπαρξης. Τέλος, αναλύονται και άλλα σύνδρομα που έχουν πολύ μεγάλη συχνότητα εμφάνισης και είναι ενδεικτικά των υποχρωμοσωμικών ανωμαλιών.

Γονιδιωματική αποτύπωση

Γονιδιωματική αποτύπωση (imprinting) είναι το φαινόμενο της έκφρασης των γονιδίων ανάλογα με τη γονεϊκή προέλευση. Ως επί το πλείστον, πραγματοποιείται έκφραση ή μη έκφραση και των δύο αλληλομόρφων στους αυτοσωμικούς γενετικούς τόπους. Η γονιδιωματική αποτύπωση έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει τον φαινότυπο ανάλογα με την ασθένεια που φέρει το άτομο με χαρακτηριστικό παράδειγμα τα ελλειπτικά σύνδρομα Prader-Willi και Angelman. Ο λόγος δημιουργίας της αποτύπωσης κατά την γαμετογένεση είναι οι διαφορές της μεθυλίωσης σε ορισμένα γονίδια (Connor & Ferguson-Smith, 2004) (Nussbaum, et al., 2011) (Korf, 2012).

3.1 Σύνδρομο Prader-Willi



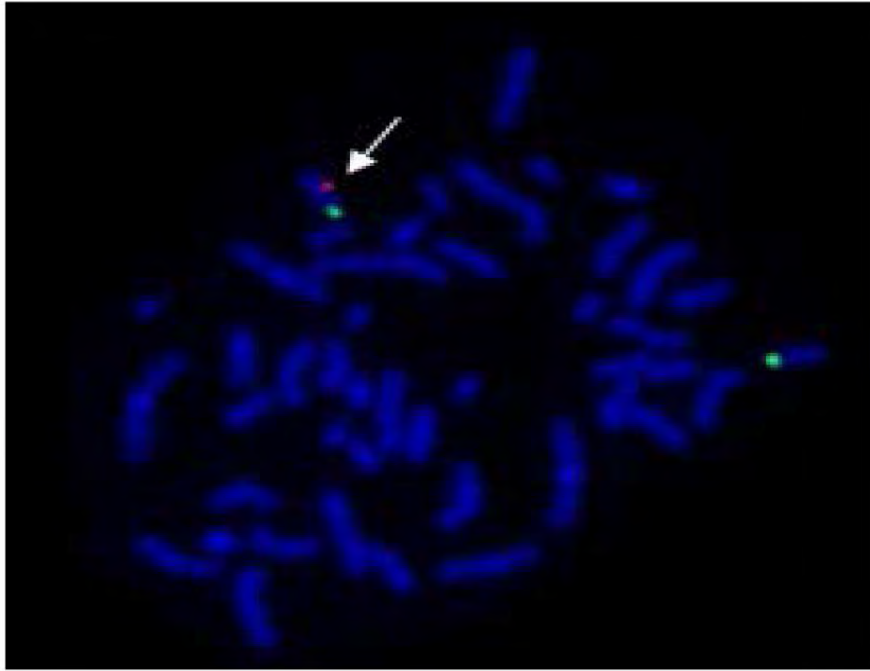
Εικόνα 17: Σύνδρομο Prader-Willi σε αγόρι 9.5 χρονών με παχυσαρκία, υπογοναδισμό, μικρά χέρια και πόδια που ήδη έχει μικρή διάπλαση και αναπτυξιακή καθυστέρηση.

Η ανωμαλία αποτύπωσης γονιδίων στο χρωμόσωμα 15 προκαλεί μια γενετική διαταραχή, το σύνδρομο Prader-Willi (Wattendorf & Muenke, 2005). Χαρακτηρίζεται από νευρογενετικές, νευρομεταβολικές και νευροψυχικές αλλαγές (Rocha & Paiva, 2014). Υπολογίζεται ότι έχει συχνότητα 1 στα 10.000 με 20.000 ζώντα νεογνά (Bittel

& Butler, 2005) και ότι παγκοσμίως πάσχουν 350.000 με 400.000 άνθρωποι (Rocha & Paiva, 2014).

Το σύνδρομο παρουσιάζεται στο 70% των ασθενών με ένα ορατό μικροέλλειμμα στο 15q11-13 πατρικής προέλευσης. Ένας ακόμη μηχανισμός, που είναι υπεύθυνος σε ποσοστό 20-30% για το σύνδρομο, είναι η μονογονεϊκή δισωμία (Nussbaum, et al., 2016). Στην περίπτωση αυτή, δεν υπάρχει έλλειμμα στο 15q αλλά εμφανίζονται και τα δύο χρωμοσώματα 15 κληρονομημένα από τη μητέρα. Η ηλικία της μητέρας έχει άμεση επίπτωση σε αυτό τον μηχανισμό. Ένα τρισωμικό έμβρυο θα μπορούσε να αποκτήσει ξανά φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων μέσω του φαινομένου της επιδιόρθωσης της τρισωμίας (trisomic rescue) έχοντας όμως σαν αποτέλεσμα τη μονογονεϊκή δισωμία. Άτομο με PWS προκύπτει όταν το χαμένο χρωμόσωμα είναι αυτό του πατέρα (Zitelli & Davis, 2009). Επίσης, ένας μικρός αριθμός ασθενών έχει κληρονομήσει το χρωμόσωμα 15 και από τους δύο γονείς χωρίς καμία έλλειψη, αλλά έχουν μητρική μεθυλίωση σε διάφορους γενετικούς τόπους στην κρίσιμη περιοχή των χρωμοσωμάτων 15. Τέλος, υπάρχουν ασθενείς σε ποσοστό 5% που εμφανίζουν κάποια ανωμαλία στο κέντρο του γονιδιωματικού εντυπώματος (Nussbaum, et al., 2011).

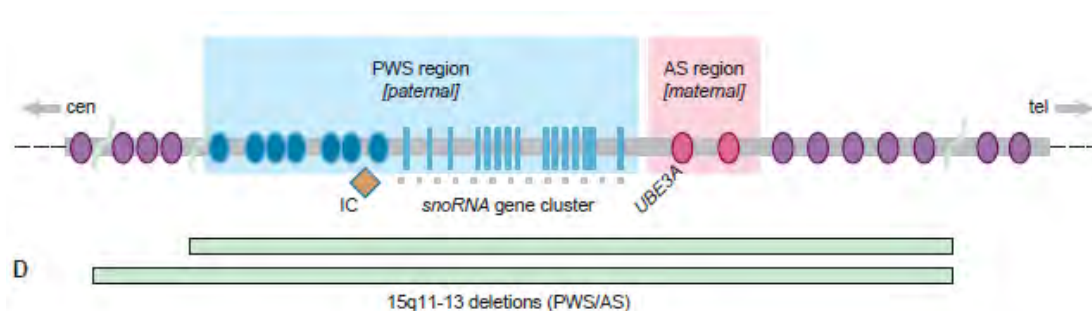
Το γονίδιο της μικρής ριβονουκλεοπρωτεΐνης N (SNRPN) βρίσκεται στην χρωμοσωμική περιοχή αυτή και είναι το πρώτο γονίδιο που έχει αναγνωριστεί να σχετίζεται με τα παραπάνω σύνδρομα (Rocha & Paiva, 2014). Επίσης, είναι αυτό που χρησιμοποιείται ως επί το πλείστον στην τεχνική FISH για την ανίχνευση του PWS.



Εικόνα 18: Απεικονίζονται τα μεταφασικά χρωμοσώματα κατά την διάρκεια της FISH με τους ειδικούς ανιχνευτές SNRPN και 15qter. Πράσινη κουκίδα: 15qter ανιχνευτής, κόκκινη κουκίδα: SNRPN ανιχνευτής. Το άσπρο βέλος υποδεικνύει τον υβριδισμό του κόκκινου ανιχνευτή.

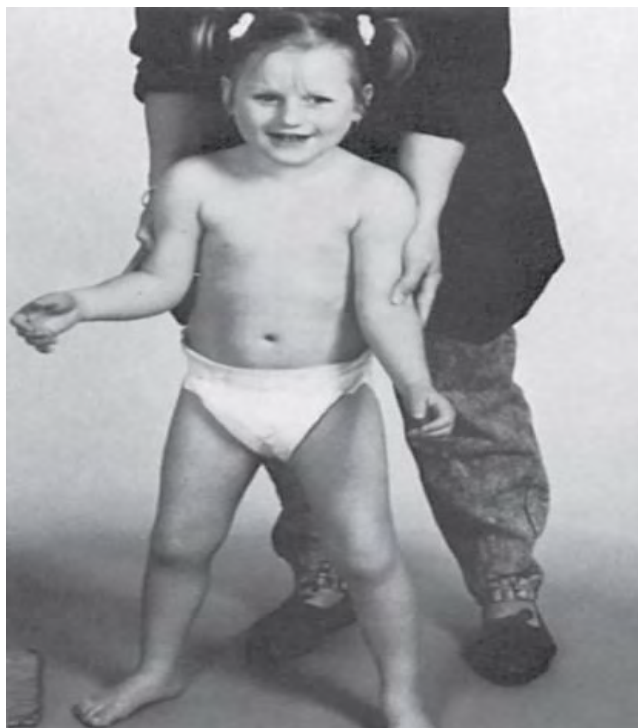
Το σύνδρομο χαρακτηρίζεται από ποικίλα κλινικά συμπτώματα. Το άτομο που πάσχει είναι υποτονικό, κάνει αδύναμες θηλαστικές κινήσεις και δυσκολεύεται στην κατάποση. Αυτό προκαλεί αρκετά συχνά επεισόδια πνιγμονής και αυτά με τη σειρά τους μπορεί να προκαλέσουν αναπνευστικά προβλήματα. Το πρόσωπο είναι επίπεδο με στενό και προεξέχον μέτωπο και λεπτό άνω χείλος. Ο αποχρωματισμός είναι συνήθης. Ο ασθενής συνήθως έχει ξανθά ή ανοιχτά καστανά μαλλιά, μπλε μάτια και ευαίσθητο στον ήλιο ανοιχτόχρωμα δέρμα (Zitelli & Davis, 2009). Επιπλέον, έχει μικρά άνω και κάτω άκρα. Τα έξω γεννητικά όργανα είναι υποπλαστικά και μπορεί να παρατηρηθεί κρυφορχία στους άρρενες. Στην όψιμη παιδική ηλικία η υποτονία βελτιώνεται, ενώ εμφανίζει υπερφαγία και παχυσαρκία λόγω διαταραγμένης λειτουργίας του υποθαλάμου (Goldstone, 2004) (Wattendorf & Muenke, 2005). Η κατανομή περίσσιου λίπους είναι ιδιαίτερα έντονη στο κατώτερο τμήμα του κορμού, στους γλουτούς και στο εγγύς τμήμα των άκρων. Η εμφάνιση του σακχαρώδους διαβήτη είναι πιθανή ως μια επίπτωση της παχυσαρκίας. Τα άτομα με Prader-Willi έχουν προβλήματα συναισθηματικής αστάθειας με έντονα ξεσπάσματα οργής. Ο δείκτης νοημοσύνης τους κυμαίνεται μεταξύ 20-80 με μέσο όρο το 50 (Connor & Ferguson-Smith, 2004). Επίσης, έχουν καθυστέρηση στην ομιλία και πολύ συχνά πάσχουν από στραβισμό (Wattendorf & Muenke, 2005).

Η μεταχείριση του συνδρόμου εξαρτάται από την κλινική εικόνα του ατόμου. Ένα παιδί με PWS θα πρέπει να παρακολουθείται από εξειδικευμένη ομάδα επαγγελματιών υγείας. Αυτή θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει οφθαλμίατρο για την αντιμετώπιση του στραβισμού, ενδοκρινολόγο για τη διαχείριση του υπογοναδισμού, έναν εξειδικευμένο παιδίατρο και τέλος έναν λογοθεραπευτή για βελτίωση της ομιλίας (Wattendorf & Muenke, 2005).



Εικόνα 19: Απεικόνιση της 15q11.2-q13 περιοχής. Η περιοχή του PWS (μπλε χρώμα) περιέχει μια σειρά αποτυπωμένων γονιδίων, τα οποία εκφράζονται μόνο από το πατρικό αντίγραφο. Η περιοχή Angelman (ροζ χρώμα) περιέχει 2 αποτυπωμένα γονίδια τα οποία εκφράζονται μόνο από το μητρικό αντίγραφο συμπεριλαμβανομένου και του UBE3A γονιδίου, το οποίο είναι αποτυπωμένο στο κεντρικό νευρικό σύστημα, και με μεταλλάξεις που οδηγούν στο Angelman. Εκατέρωθεν της περιοχής ενδιαφέροντος υπάρχουν μη αποτυπωμένα γονίδια (μωβ χρώμα), τα οποία εκφράζονται τόσο από το μητρικό όσο και από το πατρικό αντίγραφο. Συνήθη ελλείμματα της PWS/Angelman περιοχής που προκαλούνται από ανασυνδυασμό μεταξύ ζευγών τμηματικών διπλασιασμών απεικονίζονται με πράσινο χρώμα από κάτω.

3.2 Σύνδρομο Angelman



Εικόνα 20: Κορίτσι 4 χρονών με σύνδρομο Angelman.

Το σύνδρομο Angelman (Angelman Syndrome, AS) είναι ένα γενετικό σύνδρομο που δημιουργείται στο χρωμόσωμα 15. Το ποσοστό συχνότητας είναι 1 στα 15.000 ζώντα νεογνά (Margolis, et al., 2015). Αυτό που το χαρακτηρίζει είναι το αδικαιολόγητο γέλιο (Korf, 2012).

Το 70% των ατόμων Angelman έχουν ένα μικροέλλειμμα στο χρωμόσωμα 15 στη ζώνη 15q11-13 μητρικής προέλευσης. Όμως, όπως και στο Prader-Willi, μπορεί να μην υπάρχει έλλειμμα στο χρωμόσωμα 15 αλλά μονογονεϊκή δισωμία, που στην περίπτωση του Angelman οφείλεται στην ύπαρξη δύο πατρικών χρωμοσωμάτων. Η πατρική μονογονεϊκή δισωμία ανιχνεύεται σε ένα ποσοστό 7%. Ένας άλλος υπεύθυνος μηχανισμός είναι η μετάλλαξη του γονιδίου του Angelman στο ενεργό αλληλόμορφο με ποσοστό συχνότητας 3% (Nussbaum, et al., 2016). Τέλος, ένα 5% οφείλεται σε μετάλλαξη στο κέντρο του γονιδιωματικού εντυπώματος (Margolis, et al., 2015) (Nicholls & Knepper, 2001) (Horsthemke & Buiting, 2006). Το γονίδιο που έχει αναγνωριστεί ως υπεύθυνο για το Angelman σε μερικούς ασθενείς είναι το UBE3A (Korf, 2012) (Margolis, et al., 2015). Το UBE3A γονίδιο βρίσκεται στη περιοχή αποτύπωσης 15q11.2-q13 και συχνά εκφράζεται μόνο από το μητρικό αλληλόμορφο στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Υπεύθυνες για περίπου 10% των περιπτώσεων με σύνδρομο Angelman είναι οι μητρικά κληρονομημένες μονογονιδιακές μεταλλάξεις.

Κλινικά χαρακτηριστικά του AS είναι το αδικαιολόγητο χαμόγελο/γέλιο, δυσκολία ή και πλήρης απουσία λόγου, σοβαρή καθυστέρηση σωματικής ανάπτυξης, νευρικές μη συντονισμένες κινήσεις (Korf, 2012). Επίσης, έχει δυσμορφικό προσωπείο, και μεγάλη γνάθο (Gelehrter, et al., 2003). Μερικοί ασθενείς έλκονται από το νερό, έχουν αυτιστική συμπεριφορά και είναι υπερκινητικοί. Έχουν νοητική στέρηση, παθολογικό ηλεκτροεγκεφαλογράφημα (Connor & Ferguson-Smith, 2004), σπασμούς και συχνά πάσχουν από επιληπτικές κρίσεις (Nussbaum, et al., 2011)

3.3 Σύνδρομο DiGeorge

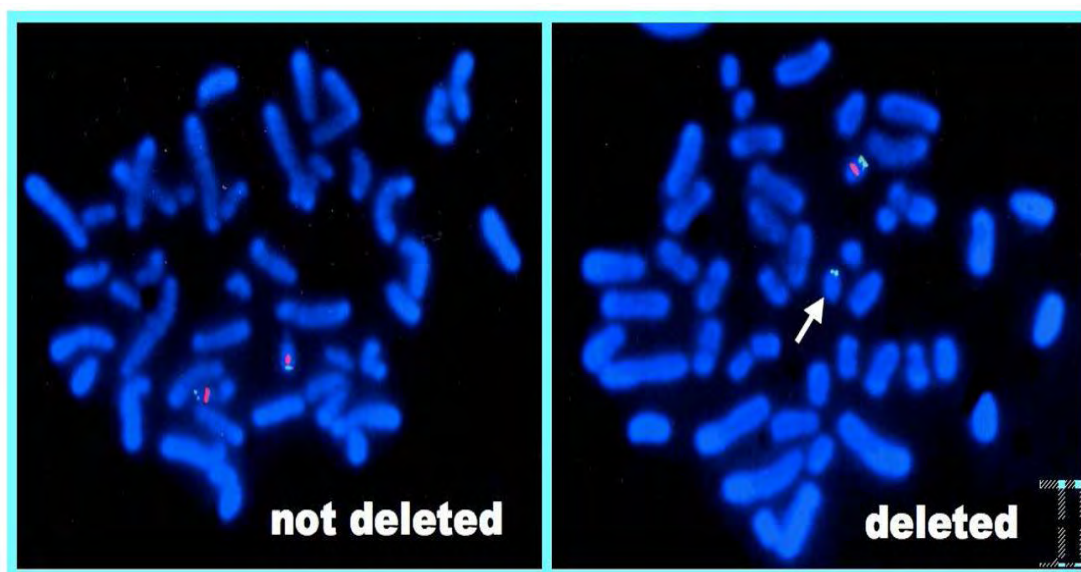


Εικόνα 21: Ασθενής 9 χρονών με σύνδρομο DiGeorge, που εμφανίζει μακρύ και ασύμμετρο προσωπείο, μικρογναθία, οφθαλμικό υπερτελορισμό κ.ά.

Το σύνδρομο DiGeorge, γνωστό και ως Velo-Cardio-Facial Syndrome (VCFS) (υπερώιο-κάρδιο-προσωπικό σύνδρομο) είναι το πιο γνωστό μικροελλειπτικό σύνδρομο (Παρθενίου, 2008) με συχνότητα 1 στα 4000 ζώντα νεογνά (Jonas, et al., 2014) (Nussbaum, et al., 2016). Το σύνδρομο αυτό επηρεάζει όλα τα συστήματα του ανθρώπινου οργανισμού και έχουν καταγραφεί τουλάχιστον 180 κλινικά χαρακτηριστικά. Δημιουργείται από ένα μικροέλλειμμα στον μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 22 στη ζώνη q11.2 επηρεάζοντας σημαντικά 40 γονίδια (Shprintzen, 2008). Σε ένα ποσοστό 90%, το έλλειμμα δεν κληρονομείται από τους γονείς αλλά δημιουργείται από de novo μετάλλαξη (Παρθενίου, 2008). Στην περίπτωση όμως της μεταβίβασης, κληρονομείται με αυτοσωμική επικρατή κληρονομικότητα (Shprintzen, 2008).

Το σύνδρομο DiGeorge συσχετίζεται με ποικίλες νευροψυχικές διαταραχές. Άτομα που πάσχουν εμφανίζουν σε ένα μεγάλο ποσοστό αυτισμό, διαταραχή ελλειμματικής προσοχής, υπερκινητικότητα και αγχώδη διαταραχή. Τέλος, ένα 30% από έφηβους και ενήλικες παρουσιάζουν σχιζοφρένεια (Jonas, et al., 2014). Άλλες κλινικές εκδηλώσεις είναι οι συγγενείς καρδιοπάθειες και πάνω από 15% των νεογνών παρουσιάζουν τετραλογία Fallot (Shprintzen, 2008). Υπεύθυνο για τον καρδιακό φαινότυπο στο VCFS είναι ο ετεροζυγώτης με το γονίδιο TBX1 (Merscher, et al., 2001). Ακόμα, προκαλούνται νεογνικοί σπασμοί λόγω υποπαραθυρεοειδισμού, υποτροπιάζουσες ιογενείς και μυκητιασικές λοιμώξεις, οι οποίες οφείλονται σε απλασία του θύμου αδένου, καθυστέρηση στην ανάπτυξη, ανωμαλίες αορτικού τόξου και δυσμορφικό προσωπείο με υπερτελορισμό, υπερωισχιστία, αντιμογγολοειδείς βλεφαρικές σχισμές και ιχθυόμορφο στόμα.

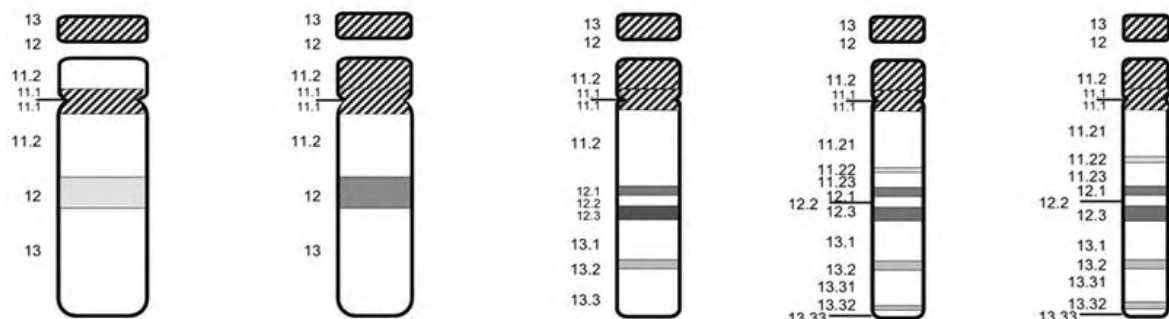
Η διάγνωση του συνδρόμου γίνεται με FISH και άλλες εργαστηριακές τεχνικές. Πρόληψη του συνδρόμου πραγματοποιείται με προγεννητική διάγνωση.



Εικόνα 22: Τεχνική FISH σε άτομο με VCFS (δεξιά) συγκρινόμενη με φυσιολογικό άτομο (αριστερά). Η FISH στα δεξιά δείχνει ένα μόνο αντίγραφο του χρωμοσώματος 22, που έχει 1 φθορίζον σήμα (ανιχνευτής control) σε σχέση με το φυσιολογικό που έχει 2 σήματα σε κάθε χρωμόσωμα (ανιχνευτής control και ανιχνευτής ειδικός για τη περιοχή 22q11.2).

Η κλινική συμπτωματολογία του συνδρόμου μπορεί να διαχειριστεί με την αντιμετώπιση της εκάστοτε πάθησης. Για το λόγο αυτό, η πρόγνωση για τα καρδιακά νοσήματα, τις διαταραχές στην ομιλία και το ανοσοποιητικό σύστημα είναι καλή. Η πλειοψηφία των νεογνών με DGS/VCFS ζει φυσιολογικά έπειτα από αντιμετώπιση των καρδιακών νοσημάτων. Τα ανοσολογικά προβλήματα υποχωρούν με τον χρόνο αλλά και τα ενδοκρινολογικά είναι επαρκώς αντιμετωπίσιμα με τη σωστή

φαρμακευτική χορήγηση. Τέλος, οι διαταραχές του λόγου έχουν καλή έκβαση μετά από χειρουργική επέμβαση αλλά και λογοθεραπεία (Shprintzen, 2008).



Εικόνα 23: Χρωμόσωμα 22.

3.4 Σύνδρομο Phelan McDermid

Το σύνδρομο Phelan McDermid (PMS) δημιουργείται από μια έλλειψη στο χρωμόσωμα 22 στην περιοχή 22q13.3. Αναγνωρίζεται ως νευροαναπτυξιακή διαταραχή και εμφανίζεται σπάνια, με μόλις 600 περιστατικά καταγεγραμμένα ως το 2015. Σε αυτή την περιοχή βρίσκεται το γονίδιο SHANK3, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη γένεση συνάψεων και τη νευροφυσιολογία (Harony-Nicolas, et al., 2015) (22q13.3, 2017).

Το σύνδρομο παρουσιάζει ευρύ φάσμα φαινοτυπικών χαρακτηριστικών του προσώπου, τα οποία δυσκολεύουν την κλινική διάγνωση. Τα δυσμορφικά χαρακτηριστικά του προσώπου στα άτομα με το PMS είναι συνήθως μεγάλες βλεφαρικές σχισμές, καθίζηση ρινός και χαρακτηριστικό πηγούνι. Επίσης, τα άτομα με PMS έχουν διανοητική και αναπτυξιακή καθυστέρηση, αυτισμό, απουσία ή καθυστέρηση λόγου αλλά και υποτονία. Ο αυτισμός ανευρίσκεται σε ένα ποσοστό 80% αλλά υπάρχουν και περιστατικά που παρουσιάζουν αυτιστικές διαταραχές και μπορούν να χαρακτηριστούν ως άτομα με διαταραχές αυτιστικού φάσματος (Autism Spectrum Disorders: ASD) (Soorya, et al., 2013). Το 1985 έγινε η πρώτη αναφορά από τον Watt αλλά οι επόμενες δεκαετίες ήταν αυτές που σύνδεσαν την κλινική συμπτωματολογία με το σύνδρομο (Harony-Nicolas, et al., 2015).



Εικόνα 24: Άτομα με σύνδρομο Phelan-McDermid. Διακρίνονται τα κοινά και ποικίλα δυσμορφικά χαρακτηριστικά του προσώπου.

Το σύνδρομο δημιουργείται έπειτα από έλλειψη στην άκρη του μεγάλου βραχίονα του χρωμοσώματος 22, αποτέλεσμα της ακραίας ή ενδιάμεσης έλλειψης, ισορροπημένης ή μη μετατόπισης, του δακτυλιοειδούς χρωμοσώματος ή και μωσαϊκισμού (Phelan & McDermid, 2011) (Harony-Nicolas, et al., 2015) (Soorya, et al., 2013). Στην πλειοψηφία τους, τα άτομα που φέρουν PMS έχουν ακραίες ελλείψεις, οι οποίες κατά κόρον είναι *de novo* και πατρικής προέλευσης. Ακόμη, στο πλαίσιο ερευνών του PMS, έχει υποστηριχτεί ότι ανάλογα με το μέγεθος της έλλειψης, και άρα του γενετικού υλικού, αυξάνεται η πιθανότητα εμφάνισης ASD (Harony-Nicolas, et al., 2015).

Από τα 90 γονίδια που μπορούν να διαγραφούν ως αποτέλεσμα των ανακατατάξεων στην περιοχή 22q13.3, το SHANK3 σχετίζεται στο μεγαλύτερο βαθμό με τις νευροσυμπεριφορικές επιδράσεις του PMS. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι *de novo* και κληρονομημένες μεταλλάξεις του SHANK3 έχουν εντοπιστεί σε άτομα με αυτιστική διαταραχή. Λόγω του ποικίλου φαινότυπου που επιδεικνύει το PMS, δεν υπάρχει κάποια γενική γραμμή θεραπείας που ανταποκρίνεται σε όλα τα περιστατικά και η αντιμετώπιση του καθενός εξαρτάται από τη βαρύτητα της κλινικής συμπτωματολογίας (Harony-Nicolas, et al., 2015).

3.5 Σύνδρομο Beckwith-Wiedemann



Εικόνα 25: Μακρογλωσσία σε νεογνό 4 μηνών με σύνδρομο Beckwith-Wiedemann. Η διάγνωση έγινε σύντομα μετά τη γέννηση με βάση τα κλινικά χαρακτηριστικά που είναι η μακροσωμία, η μακρογλωσσία, η ομφαλοκήλη, μια ευδιάκριτη γραμμή στον αυτί στα δεξιά και νεογνική υπογλυκαιμία. Δεν υπήρχε οργανομεγαλία. Ο καρυότυπος ήταν φυσιολογικός και μοριακές μελέτες έδειξαν υπομεθυλίωση στο KCNQOT1 γονίδιο.

Το σύνδρομο Beckwith-Wiedemann (BWS) επηρεάζει πολλά μέρη του σώματος. Χαρακτηριστικά του είναι η υπερανάπτυξη, η προδιάθεση σε όγκους και οι συγγενείς δυσπλασίες. Παιδιά με BWS έχουν υψηλή πιθανότητα εμφάνισης διαφόρων τύπων καρκινικών και μη καρκινικών όγκων. Ειδικότερα, μπορούν να αναφερθούν ένας τύπος καρκίνου του νεφρού (Wilms tumor) και του ήπατος (ηπατοβλάστωμα). Οι όγκοι εμφανίζονται στο 7.5% των παιδιών με το σύνδρομο και μετά την ηλικία των 8 ετών ο κίνδυνος εμφάνισης μειώνεται σημαντικά. Σε εκείνη την ηλικία επίσης μειώνεται και η ταχεία ανάπτυξη που παρουσιάζουν τα άτομα με BWS κατά την εμβρυική και την παιδική ηλικία. Ως ενήλικες τείνουν να έχουν φυσιολογικό ύψος. Συχνά εκδηλώνονται μακρογλωσσία και υπογλυκαιμία (σε ποσοστό 30-50%). Ακόμα παρατηρείται ομφαλοκήλη, βουβωνοκήλη και η διάσταση των ορθών κοιλιακών μυών (Nussbaum, et al., 2016).

Για τις περισσότερες περιπτώσεις του συνδρόμου οφείλονται γενετικές ανωμαλίες στο χρωμόσωμα 11p15.5 που σχετίζονται με τη γενετική έκφραση. Επιπλέον, η ανώμαλη μεθυλίωση επεμβαίνει στην φυσιολογική έκφραση ορισμένων γονιδίων με αποτέλεσμα το πλέον χαρακτηριστικό του συνδρόμου, την υπερανάπτυξη. Σε ένα ποσοστό 20% υπεύθυνη είναι η μονογονεϊκή δισωμία πατρικής προέλευσης (Beckwith-Wiedemann syndrome, 2017) (Shuman & Weksberg, 2011).

Η διαχείριση του συνδρόμου περιλαμβάνει θεραπεία για τις εκάστοτε επιπλοκές, όπως η ομφαλοκήλη και η υπογλυκαιμία. Μπορεί να χρειαστούν ειδικές τεχνικές

σίτισης αλλά και λογοθεραπείας εξαιτίας της μακρογλωσσίας. Επίσης, μπορεί να χρειαστεί χειρουργική επέμβαση για αρκετές από τις άλλες παθήσεις που εμφανίζονται, όπως για παράδειγμα οι όγκοι στα νεφρά (Nussbaum, et al., 2016).

Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι οι τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής αυξάνουν τις πιθανότητες εμφάνισης του συνδρόμου. Η IVF (in vitro fertilization) αλλά και η ενδομήτρια σπερματέγχυση κατέχουν το 1-2% όλων των γεννήσεων σε πολλές χώρες. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής έχουν χρησιμοποιηθεί 10 με 20 φορές πιο συχνά σε κυήσεις που είχαν σαν αποτέλεσμα νεογνό με BWS σε σχέση με τις κοντρόλ. Οι πιθανότητες εμφάνισης του συνδρόμου μετά από IVF υπολογίζεται ότι είναι 1 στις 4.000 άρα τρεις φορές μεγαλύτερη πιθανότητα απόκτησης του συνδρόμου σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό.

3.6 Δυσμορφία Dandy-Walker

Η δυσμορφία Dandy-Walker επηρεάζει την εγκεφαλική ανάπτυξη και την πρώιμη διαμόρφωση της παρεγκεφαλίδας, τμήμα του εγκεφάλου που καθορίζει την κίνηση. Το κεντρικό τμήμα της παρεγκεφαλίδας, ο σκώληκας, απουσιάζει ή είναι πολύ μικρός και τοποθετείται λανθασμένα. Τα παραπάνω οδηγούν συχνά σε κινησιακά προβλήματα, θέματα συντονισμού, ευφυΐας, διάθεσης και άλλες νευρολογικές δυσλειτουργίες. Τα συμπτώματα αυτά εμφανίζονται ήδη από τη γέννα αλλά αναπτύσσονται και κατά τον πρώτο χρόνο ζωής. Μερικές περιπτώσεις εμφανίζουν υδροκεφαλία και μακροκεφαλία. Προβλήματα σχετιζόμενα με την υδροκεφαλία ή επιπλοκές της θεραπείας είναι οι συχνότερες αιτίες θανάτου για τα άτομα με Dandy-Walker.

Παιδιά με δυσμορφία Dandy-Walker έχουν καθυστερημένη ανάπτυξη, με έμφαση στις κινητικές ικανότητες όπως το μπουσουλήμα, το περπάτημα και τον συντονισμό κινήσεων. Ακόμη, παρατηρείται συχνά μυϊκή δυσκαμψία, μερική παράλυση των κάτω άκρων και σπασμοί.

Η δυσμορφία εμφανίζεται κυρίως σε άτομα με τρισωμία 18. Επίσης, σχετίζεται με ελλείψεις ή διπλασιασμούς συγκεκριμένων χρωμοσωμάτων. Τέλος, μεταλλάξεις σε ορισμένα γονίδια είναι υπεύθυνες για τη δυσμορφία αυτή. Πολλοί γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πιθανότητα εμφάνισης Dandy-Walker (Dandy-Walker malformation, 2017).

3.7 Σύνδρομο Prune Belly

Το σύνδρομο Prune Belly (PBS) είναι μια σπάνια συγγενής διαταραχή. Το σύνδρομο περιγράφηκε πρώτη φορά το 1839 αλλά ο όρος Prune Belly Syndrome επινοήθηκε

από τον Osler αργότερα. Η αιτιολογία του συνδρόμου είναι άγνωστη και οι περισσότεροι που πάσχουν από αυτό, έχουν συσχετιστεί και με άλλες διαταραχές όπως σκελετικές, καρδιακές, πνευμονικές αλλά και γαστρεντερικές. Το σύνδρομο επηρεάζει 3.8/100.000 άρρενα ζώντα νεογνά και εμφανίζουν τρία βασικά χαρακτηριστικά αυτής της διαταραχής. Αυτά είναι η κρυφορχία, η έλλειψη ή ανεπάρκεια του κοιλιακού μυός αλλά και οι ανωμαλίες του κατώτερου ουρογεννητικού συστήματος. Τα αγόρια πάσχουν σε ποσοστό 95% ενώ τα κορίτσια 3-5% (Kheir, et al., 2017).

Η διάγνωση του συνδρόμου βασίζεται σε υπερηχογραφικά ευρήματα. Περιστατικά που έχουν επιβεβαιωθεί, εντοπίστηκαν έπειτα από υπέρηχο στην 11^η μέχρι και την 14^η εβδομάδα κύησης. Βασικά διαγνωστικά υπερηχογραφικά ευρήματα που μπορούν να προιδεάσουν για το PBS είναι οι αμφίπλευροι υδροουρητήρες και η υδρονέφρωση, η διογκωμένη και με λεπτό τοίχωμα ουροδόχος κύστη και το ολιγάμνιο (Hassett, et al., 2012) η πνευμονική υποπλασία, ο ασκίτης και η νεφρική δυσπλασία (Carr, 2015).

Η αντιμετώπιση εξαρτάται και καθορίζεται από τα κλινικά και υπερηχογραφικά ευρήματα και είναι μοναδική για κάθε ένα από αυτά. Κατά τη διάρκεια της κύησης χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή με αρκετά συχνή υπερηχογραφική παρακολούθηση του ουρογεννητικού συστήματος του νεογνού καθώς και του αμνιακού υγρού (Carr, 2015).



Εικόνα 26: Άρρεν νεογνό με PBS, που παρουσιάζει κλασική εικόνα απουσίας κοιλιακού μυός.

3.8 Ασθένεια Werdnig Hoffman–Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία 1

Η συχνότητα της ασθένειας είναι 1/10.000 το χρόνο με μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης στα αγόρια. Η ασθένεια αρχίζει να εμφανίζεται πριν τους έξι πρώτους μήνες ζωής. Σοβαρή μυϊκή αδυναμία εμφανίζεται στον κορμό του σώματος κι έπειτα επεκτείνεται και στα άκρα. Δημιουργούνται προβλήματα στη σίτιση και αρκετά συχνά παρουσιάζουν αναπνευστικά προβλήματα. Οι ασθενείς δεν μπορούν να καθίσουν χωρίς υποστήριξη ενώ δεν περπατούν ποτέ.

Η ασθένεια χαρακτηρίζεται από αυτοσωμική υπολειπόμενη κληρονομικότητα και προκαλείται από ομοζυγωτικές ελλείψεις στο γονίδιο 5q12.2-q13.3. Τα περισσότερα παιδιά με την ασθένεια πεθαίνουν πριν την ηλικία των 2 ετών αλλά η επιβίωση τους εξαρτάται από τη δυνατότητα της αναπνευστικής λειτουργίας.

Η διάγνωση καθορίζεται από την εξέταση και τα κλινικά ευρήματά της, το ιστορικό του ασθενούς αλλά επιβεβαιώνεται με μοριακό καρυότυπο (Werdnig-Hoffmann Disease, 2012).

3.9 Σύνδρομο Scalp-Ear-Nipple

Το σύνδρομο αυτό χαρακτηρίζεται από δυσμορφίες του κρανίου, των αυτιών και των θηλών. Από εκεί πήρε και το όνομά του, το οποίο εμφανίζεται και ως SEN syndrome, από το ακρωνύμιο των λέξεων αυτών. Η συχνότητα του συνδρόμου είναι άγνωστη μιας και έχουν αναφερθεί πολύ λίγα περιστατικά. Θεωρείται ότι ο τρόπος μεταβίβασης είναι με αυτοσωμική επικρατή κληρονομικότητα.

Τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου μπορεί να ποικίλουν ανάμεσα στα μέλη μιας οικογένειας και σπάνια θα εμφανιστούν δυσμορφίες και σε άλλα μέρη του σώματος. Νεογνά με το σύνδρομο SEN γεννιούνται με απλασία μερικών τμημάτων του τριχωτού της κεφαλής. Μπορεί να λείπει δηλαδή τμήμα δέρματος του κρανίου, κάτι που μοιάζει με πληγή, και κατά την παιδική ηλικία αρχίζει να επουλώνεται. Όσον αφορά τα αυτιά του ατόμου με αυτό το σύνδρομο, μπορεί να είναι μικρά με κλίση προς τα πίσω και με ανώμαλη μορφή γενικά. Η ακοή τους είναι φυσιολογική. Το άλλο χαρακτηριστικό αυτού του συνδρόμου είναι οι θηλές, οι οποίες μπορεί να απουσιάζουν ή να έχουν εισολκή. Επίσης, μπορεί να υπάρχει πλήρης απουσία μαστιαίου ιστού.

Το σύνδρομο SEN οφείλεται στη μετάλλαξη του KCTD1 γονιδίου. Το γονίδιο αυτό είναι υπεύθυνο να παρέχει πληροφορίες για τη δημιουργία πρωτεΐνης, η οποία

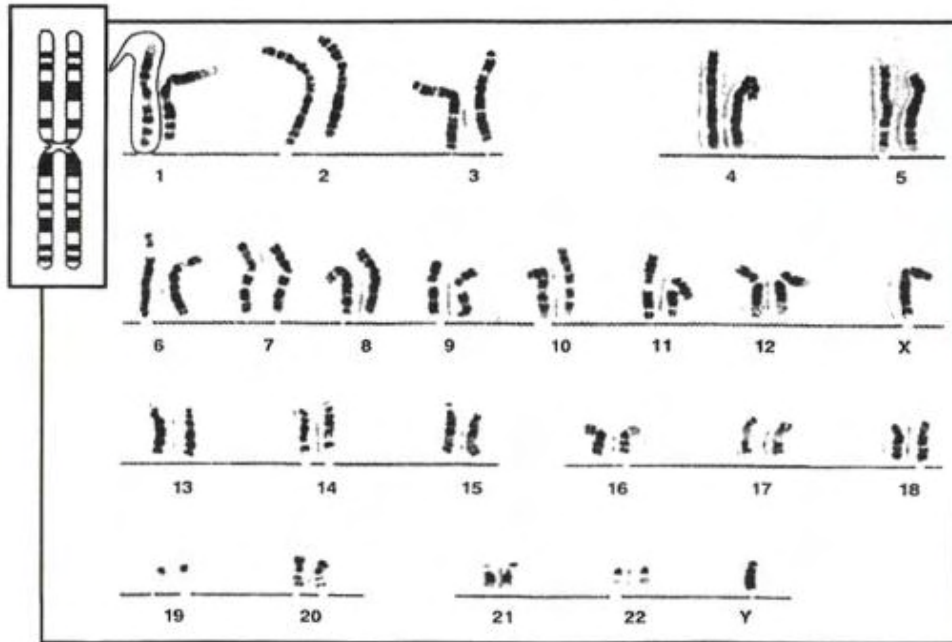
ελέγχει τη δράση των γονιδίων που εμπλέκονται στην ανάπτυξη του εξωδέρματος. Το εξώδερμα είναι υπεύθυνο για τη δημιουργία των μαλλιών, των νυχιών, του δέρματος και των δοντιών στο έμβρυο (Scalp-Ear-Nipple syndrome, 2017).

Κεφάλαιο 4: Τεχνικές Ανάλυσης

4.1 Καρυότυπος

Η μελέτη των χρωμοσωμάτων γίνεται κατά τη διαίρεση του κυττάρου στο στάδιο της μετάφασης και η απεικόνιση αυτών κατά σειρά μικρότερου μεγέθους ονομάζεται καρυότυπος. Στο στάδιο αυτό, τα χρωμοσώματα έχουν το μέγιστο βαθμό συσπείρωσης και για το λόγο αυτό είναι εύκολη η αποτύπωση και η ανάγνωσή τους (Alberts, et al., 2006). Ακόμα, τα T-λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος είναι τα καταλληλότερα για την ανάλυση των χρωμοσωμάτων. Μπορούν όμως να χρησιμοποιηθούν και κύτταρα από τον μυελό των οστών, το αμνιακό υγρό, τις χοριακές λάχνες καθώς και κύτταρα καλλιεργημένων ινοβλαστών του δέρματος (χρήσιμο μέχρι και δύο μέρες μετά τον θάνατο) (Connor & Ferguson-Smith, 2004). Η τεχνική ανάλυση του καρυότυπου προϋποθέτει φλεβικό αίμα ηπαρινισμένο για την αποφυγή της συγκόλλησης, κάτι που θα σταματούσε τον διαχωρισμό των λεμφοκυττάρων (Connor & Ferguson-Smith, 2004). Μετά τη συλλογή, τα λευκά αιμοσφαίρια πρέπει να εισαχθούν σε καλλιεργητικό θρεπτικό υλικό, το οποίο περιέχει και αντιβιοτικό, πενικιλίνη, για την αποφυγή ανάπτυξης μικροοργανισμών και εκεί προκαλείται η διέγερσή τους ώστε να διαιρεθούν (Nussbaum, et al., 2011). Έπειτα με τη χρήση χημικών ουσιών (κολχικίνη), η ροή του κυτταρικού κύκλου σταματά στο στάδιο της μετάφασης όπως έχει προαναφερθεί. Τα κύτταρα επωάζονται σε υπότονο διάλυμα οδηγώντας τα στη λύση και εν τέλει απελευθέρωση των χρωμοσωμάτων. Σε αυτό το στάδιο προστίθεται μονιμοποιητικό διάλυμα αιθανόλης/οξικού οξέος και τα χρωμοσώματα επιστρώνονται σε αντικειμενοφόρες πλάκες. Μετά από αυτό το στάδιο ακολουθεί η τεχνική χρώσης με διάλυμα Giemsa, η δημιουργία ζωνών και τέλος η φωτογράφιση τους.

Έπειτα, κατά την ανάλυση τους εντοπίζονται και αναλύονται 16 μεταφάσεις (8 από κάθε καλλιέργεια) από κάθε δείγμα. Μετριοούνται τα χρωμοσώματα σε κάθε μία και ελέγχονται οι ζωνώσεις τους. Από αυτές επιλέγονται 4 για λεπτομερή ανάλυση. Με τη χρήση video-κάμερας, η εικόνα από το μικροσκόπιο μεταφέρεται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή και με ειδικά προγράμματα επεξεργασίας εικόνας, τα χρωμοσώματα διατάσσονται σύμφωνα με το μέγεθός τους, αριθμούνται κατά ζεύγη από το 1 έως το 23 και αναλύονται (Παρθενίου, 2008).



Εικόνα 27: Καρυότυπος φυσιολογικού ατόμου, στον οποίο έχει προστεθεί απεικόνιση του πρώτου χρωμοσώματος (χρώση Giemsa).

4.2 Μοριακός Καρυότυπος

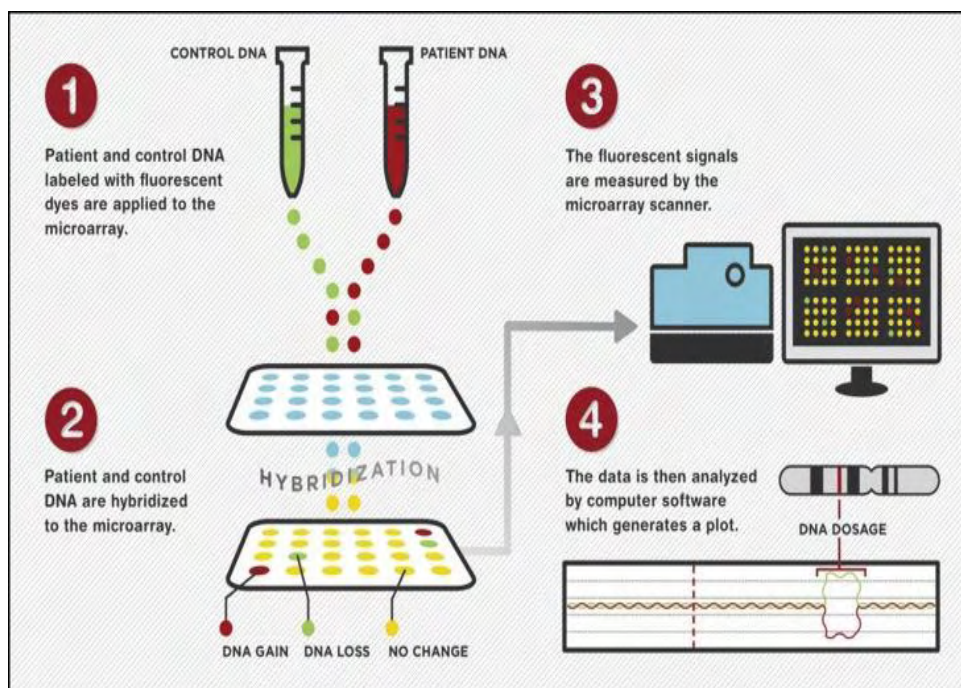
Ο μοριακός καρυότυπος ή συγκριτικός γενωμικός υβριδισμός σε μικροσυστοιχίες (array CGH ή aCGH) είναι μια μέθοδος που εκτός των μεγάλων ανευπλοειδιών για παράδειγμα σύνδρομο Down, μπορεί να ανιχνεύσει ελλείμματα, διπλασιασμούς (CNVs) μεγέθους >2.000 ζεύγη βάσεων σε όλο το γονιδίωμα ταυτόχρονα.

Οι τεχνικές FISH της μοριακής κυτταρογενετικής βασίζονται στον συνδυασμό τεχνικών μοριακής γενετικής και κυτταρογενετικής για την ανίχνευση συμπληρωματικών αλληλουχιών νουκλεϊκών οξέων *in situ* πάνω στο μεταφασικό χρωμόσωμα ή στους κυτταρικούς πυρήνες. Η διακριτική ικανότητα της FISH όμως περιορίζεται στα 10 Mb περίπου.

Για να μη χρειάζονται μεταφασικά παρασκευάσματα υψηλής ποιότητας αλλά και για να βελτιωθεί η διακριτική ικανότητα των αναλύσεων η Solinas-Toldo και οι συνεργάτες της ανέπτυξαν μια συστοιχία πλέγματος, η οποία χρησιμοποιεί ως στόχο της υβριδοποίησης, αντί για τα κανονικά μεταφασικά χρωμοσώματα, καλώς καθορισμένα τμήματα γονιδιωματικού DNA τοποθετημένα σε στερεό υπόβαθρο. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει την αυτοματοποιημένη ανάλυση γενετικών αναδιατάξεων όπως μικρές ελλείψεις και πολλαπλασιασμούς γονιδίων (Solinas-Toldo, et al., 1997). Ο Veltman και οι συνεργάτες του περιέγραψαν ένα τσιπ DNA, στο οποίο έχει τοποθετηθεί μια ομάδα 77 ειδικών υποτελομερικών ανιχνευτών για ανθρώπινα

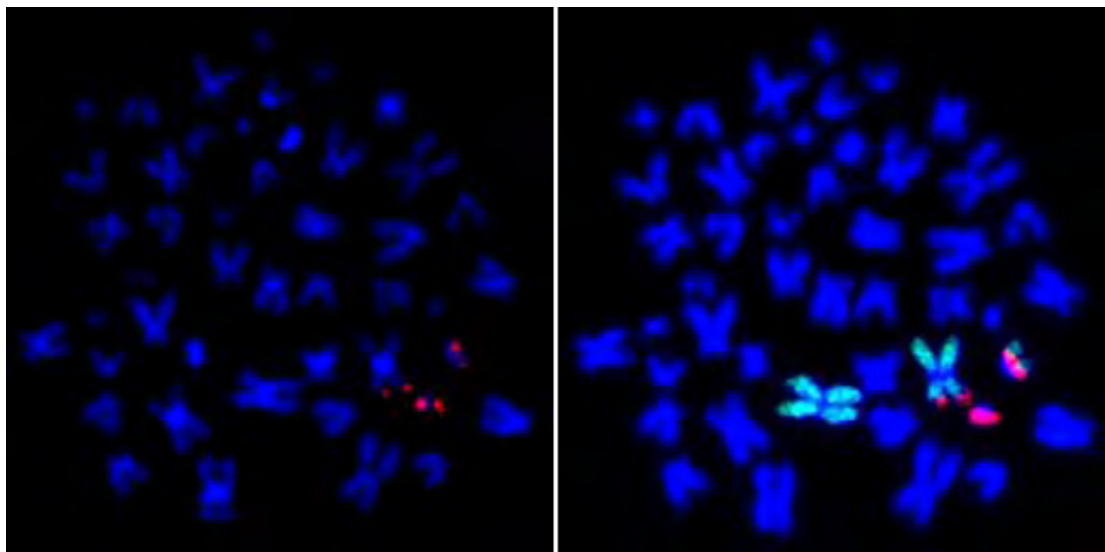
χρωμοσώματα, ώστε να χρησιμοποιηθούν ως στόχοι για ανάλυση με τη μέθοδο aCGH. Το δυναμικό φάσμα των λόγων σήματος που λαμβάνονται με αυτές τις μη κυτταρογενετικές μεθόδους είναι σχεδόν πέντε φορές υψηλότερο για τη CGH συστοιχίας συγκριτικά με τη συμβατική CGH, γεγονός που επιτρέπει καλύτερη ποσοτική αξιολόγηση των γενετικών αναδιατάξεων. Οι πολλαπλασιασμοί και οι ελλείψεις μικρών περιοχών του γονιδιώματος που δεν εντοπίζονται με χρωμοσωμικές αναλύσεις, αναγνωρίζονται άμεσα με τη μέθοδο αυτή και με υψηλή διακριτική ικανότητα ανάλογα με τον αριθμό των τμημάτων ανθρώπινου DNA που έχουν τοποθετηθεί πάνω στο τσιπ. Η ισχύς και η απλότητα των μικροσυστοιχιών αυτών τις κάνουν ιδανικές για εφαρμογές ρουτίνας (Veltman, et al., 2002).

Η διάγνωση γίνεται με την σύγκριση του DNA που αναλύεται με ένα DNA ελέγχου. Το DNA απομονώνεται από ιστοκαλλιέργειες ή ολικό αίμα και υβριδοποιούνται υπό συνθήκες καταστολής (Cot-1 DNA) πάνω σε φυσιολογικά μεταφασικά παρασκευάσματα. Αφού ληφθούν εικόνες, υπολογίζονται οι λόγοι φθορισμού (δείκτης της έντασης φθορισμού των δειγμάτων ανάλυσης προς τα δείγματα ελέγχου) για κάθε χρωμόσωμα. Στη συνέχεια σχεδιάζεται ένα διάγραμμα του μέσου προφίλ κατά μήκος κάθε χρωμοσώματος (Patrinos & Ansorge, 2008).



Εικόνα 28: Η κίτρινη ένδειξη στα προφίλ CGH αντιπροσωπεύει την κατάσταση ισορροπίας για τον αριθμό αντιγράφων των χρωμοσωμάτων. Ένα ανώτατο όριο (κόκκινο) χρησιμοποιείται για να οριστεί η αύξηση του χρωμοσωμικού υλικού, ενώ ένα κατώτατο όριο (πράσινο) ερμηνεύεται ως απώλεια χρωμοσωμικού υλικού.

4.3 FISH (Fluorescence In Situ Hybridization-Φθορίζον In Situ Υβριδισμός)



Εικόνα 29: Εφαρμογή της μεθόδου FISH σε χρωμοσώματα.

Η FISH είναι από τις σημαντικότερες πλέον εργαστηριακές μεθόδους στον κλάδο της κυτταρογενετικής (Zitelli & Davis, 2009). Η τεχνική αυτή είναι ειδική στην ανίχνευση χρωμοσωμικών ανωμαλιών δομικών/υποχρωμοσωμικών και αριθμητικών. Ειδικότερα χρησιμοποιείται όταν οι άλλες μέθοδοι δεν έχουν την δυνατότητα να εντοπίσουν υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες όπως τα ελλείμματα, οι μεταθέσεις ή οποιεσδήποτε άλλες μικρές αλλαγές στα χρωμοσώματα (Behrman & Kliegman, 2010). Επίσης, η FISH έχει φανεί ιδιαίτερα χρήσιμη στη διάγνωση καρκίνου (Gelehrter, et al., 2003). Κατά τις διαγνωστικές εξετάσεις ρουτίνας χρησιμοποιούνται παρασκευάσματα μετάφασης και μεσοφασικοί πυρήνες ολικού αίματος, ινοβλαστών, μυελού των οστών, ενώ για τους προγεννητικούς ελέγχους χρησιμοποιούνται μεταφασικά παρασκευάσματα αμνιοκυττάρων και χοριακών μικρολαχνών, μετά από καλλιέργεια (Patrinos & Ansorge, 2008).

Η FISH βασίζεται στη δέσμευση (υβριδοποίηση) συμπληρωματικών μονόκλωνων σημασμένων μορίων νουκλεϊκού οξέος (probes) σε καθηλωμένο και αποδιαταγμένο DNA-στόχο από μεταφασικά χρωμοσώματα ή ολόκληρους μεσοφασικούς πυρήνες. Κατά την υβριδοποίηση, ο ανιχνευτής διεισδύει στο υλικό-στόχο και υβριδοποιείται με το συμπληρωματικό του μόριο, με αποτέλεσμα να δημιουργείται δίκλωνο DNA με το δεσμευμένο ανιχνευτή και το προηγούμενως μονόκλωνο μόριο στόχο. Μετά την απομάκρυνση του μη δεσμευμένου ανιχνευτή με έντονη έκπλυση, τα αποτελέσματα εξετάζονται μικροσκοπικά. Οι ανιχνευτές ανιχνεύονται εύκολα σε ειδικά μικροσκόπια λόγω της φθορίζουσας ουσίας (Zitelli & Davis, 2009). Η σήμανση των ειδικών αυτών

ανιχνευτών DNA γίνεται με χημικά τροποποιημένα νουκλεοτίδια που έχουν άμεση φθορίζουσα δράση ή φθορίζουν έπειτα από την τοποθέτηση ενός μορίου αναφοράς που και αυτό είναι φθορίζον (Gelehrter, et al., 2003).

Υπάρχει μια τεράστια ποικιλία από διαφορετικά αρχικά υλικά, όπως διάφοροι στόχοι, ανιχνευτές και διαδικασίες σήμανσης. Ο ανιχνευτής συνδέεται σε χρωμοσώματα που είναι στο στάδιο της μετάφασης αλλά έχει την δυνατότητα να συνδεθεί και με τους πυρήνες της μεσόφασης. Επίσης, ο ανιχνευτής μπορεί να είναι ανιχνευτής-κοσμίδιο που χρησιμεύει σε μικρό τμήμα μονού αντιγράφου DNA για παράδειγμα ένα κομμάτι συγκεκριμένου γονιδίου αλλά και για οποιοδήποτε κλάσμα χρωμοσωμικού DNA. Ακόμα, «ο ανιχνευτής μπορεί να είναι α- ή β- δορυφορικός ανιχνευτής για επαναλαμβανόμενες DNA αλληλουχίες, όπως αυτοί που ανευρίσκονται στην περιοχή του κεντρομεριδίου του χρωμοσώματος, ή μπορεί να είναι ένας ανιχνευτής ειδικός για επαναλαμβανόμενες DNA αλληλουχίες στο τελομερές άκρο του χρωμοσώματος» (Zitelli & Davis, 2009). Οι α- δορυφορικοί ανιχνευτές είναι για την περιοχή του κεντρομεριδίου. Οι DNA δορυφορικοί ανιχνευτές της οικογένειας α- ανιχνευτών χρησιμοποιούνται για την εύρεση των αντιγράφων ενός χρωμοσώματος (Nussbaum, et al., 2011). Τέλος, υπάρχουν και οι ανιχνευτές ολόκληρων χρωμοσωμάτων που απαρτίζονται από ένα σύνολο αλληλουχιών DNA που υβριδοποιούνται σε όλο το χρωμόσωμα.

Κεφάλαιο 5: Προγεννητικός Έλεγχος

Ο στόχος του προγεννητικού ελέγχου είναι η έγκαιρη διάγνωση παθολογικών ανωμαλιών του εμβρύου και έπειτα η σωστή ενημέρωση του ζευγαριού σχετικά με την αντιμετώπιση τέτοιων καταστάσεων. Ο προγεννητικός έλεγχος χωρίζεται σε επεμβατικό και μη επεμβατικό. Επεμβατικές τεχνικές είναι η αμνιοπαρακέντηση και η λήψη χοριακών λαχνών και οι μη επεμβατικές είναι ο υπέρηχος και το cell-free DNA test (Nussbaum, et al., 2016).

Οι συχνότερες ενδείξεις προγεννητικού ελέγχου είναι η ηλικία της μητέρας (πάνω από 35 ετών), γονείς με ισοζυγισμένη μετάθεση ή μωσαϊκισμό, προηγούμενο παιδί με χρωμοσωμική ανωμαλία ή ύπαρξη άλλου μέλους της οικογένειας με χρωμοσωμική ανωμαλία, συγγενής διαταραχή του μεταβολισμού, παιδί με φυλοσύνδετη νόσο, ιστορικό με ανοικτές βλάβες του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος, ανωμαλία διάπλασης του εμβρύου στον υπερηχογραφικό έλεγχο, θετικό βιοχημικό τεστ, αυξημένη αυχενική διαφάνεια (Αντωνίου, et al., 2007).

5.1 Αμνιοπαρακέντηση

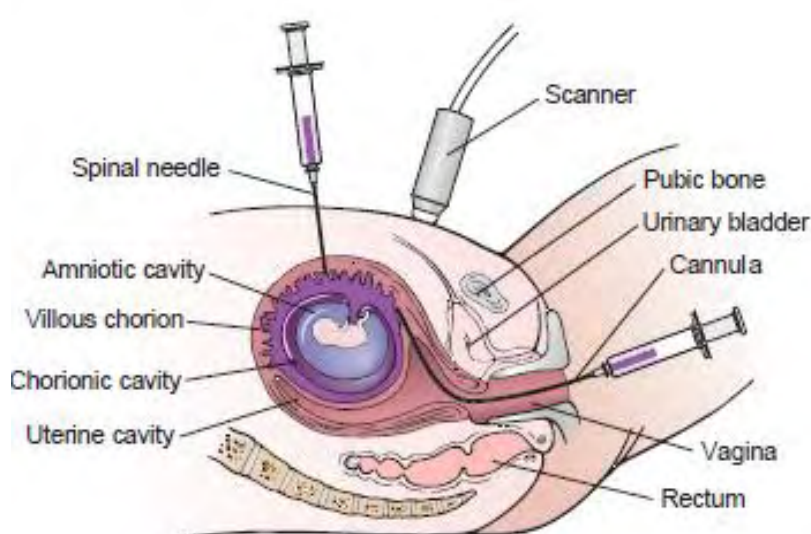


Εικόνα 30: Διαδικασία αμνιοπαρακέντησης.

Η αμνιοπαρακέντηση πραγματοποιείται την 16^η-20^η εβδομάδα κύησης και παραπέμπονται κυρίως υψηλού κινδύνου κυήσεις, όπως για παράδειγμα γυναίκες με ηλικία άνω των 35 χρονών, προηγούμενο παιδί με χρωμοσωμικές ανωμαλίες ή φυλοσύνδετες γενετικές ασθένειες καθώς και αν ανεβρεθεί AFP (α-εμβρυική πρωτεΐνη) στον ορό της μητέρας (Nussbaum, et al., 2016).

Η αμνιοπαρακέντηση είναι μια επεμβατική τεχνική και ο κίνδυνος αυτόματης αποβολής είναι 1%. Γίνεται με την εισαγωγή μιας βελόνας από το κοιλιακό τοίχωμα στην αμνιακή κοιλότητα με βοήθεια υπέρηχου για την αποφυγή τραυματισμού του εμβρύου. Σκοπός είναι η αναρρόφηση αμνιακού υγρού περίπου 20cc για την καλλιέργεια του. Η τεχνική γίνεται πάντα με γεμάτη την ουροδόχο κύστη, κατόπιν τοπικής αναισθησίας και αντισηψίας του σημείου εισαγωγής της βελόνας. Το αμνιακό υγρό συλλέγεται σε ειδικά αποστειρωμένα φιαλίδια και στη συνέχεια εξετάζεται με τις κυτταρογενετικές μεθόδους (Αντωνίου , et al., 2007) (Levene, et al., 2006) (Nussbaum, et al., 2016).

5.2 Λήψη χοριακών λαχνών



Εικόνα 31: Διαδικασία λήψης χοριακών λαχνών-CVS.

Η λήψη χοριακών λαχνών (CVS) ή αλλιώς τροφοβλάστης γίνεται όπως και η αμνιοπαρακέντηση με την βοήθεια του υπέρηχου. Η είσοδος της βελόνας μπορεί να γίνει μέσω του τραχήλου ενώ συνηθέστερη είναι η διακοιλιακή είσοδος και λήψη της τροφοβλάστης. Η λήψη γίνεται στις αρχές του πρώτου τριμήνου μεταξύ της 10^{ης} και 13^{ης} εβδομάδας (Nussbaum, et al., 2016).

Οι ενδείξεις για CVS είναι ο αυξημένος κίνδυνος για εμφάνιση χρωμοσωμικής ανωμαλίας, η ηλικία της μητέρας άνω των 35 ετών, οι γονείς να είναι φορείς κάποιας χρωμοσωμικής ανωμαλίας, προηγούμενο παιδί με χρωμοσωμική ανωμαλία καθώς και η ανίχνευση μεταβολικών νοσημάτων.

Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι πολλά. Αρχικά πραγματοποιείται στο 1^ο τρίμηνο της κύησης με ευκολότερη την διακοπή κύησης σε περίπτωση παθολογικών ευρημάτων και μικρότερη ψυχολογική επίπτωση στο ζευγάρι (Nussbaum, et al.,

2016) (Αντωνίου , et al., 2007). Σημαντικό όμως μειονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι η ύπαρξη μωσαϊκισμού με ποσοστό 1% που μπορεί να οδηγήσει σε αμφίβολο αποτέλεσμα. Σε αυτή την περίπτωση συστήνεται αμνιοπαρακέντηση. Ο κίνδυνος αυτόματης αποβολής είναι 2-5% μετά από τη λήψη χοριακών λαχνών (Nussbaum, et al., 2016).

Πριν την λήψη, απαραίτητες ενέργειες είναι η διαπίστωση ύπαρξης εμβρυικού παλμού αλλά και η μέτρηση του κεφαλοουριαίου μήκους (CRL) για την ακριβή ηλικία κύησης. Η λήψη τροφοβλάστης με διακοιλιακή είσοδο απαιτεί καλή αντισηψία στο σημείο εισόδου της βελόνας, και συνεχόμενη υπερηχογραφική παρακολούθηση. Αφού καθοριστεί το σημείο εισαγωγής της βελόνας, εισάγεται μέχρι το σημείο που έχει προκαθοριστεί για τη λήψη του τροφοβλαστικού ιστού και γίνεται αναρρόφηση του. Η βελόνα είναι συγκεκριμένου μήκους και χωρητικότητας. Αφού γίνει η λήψη το δείγμα τοποθετείται σε ειδικά τρυβλία με ειδικό υγρό για την συντήρηση του ώσπου να εξεταστεί με κυτταρογενετικές μεθόδους (Levene, et al., 2006).

5.3 Υπερηχογράφημα

Το υπερηχογράφημα είναι σημαντικό για τον έλεγχο της πορείας της κύησης. Καθορίζει την ηλικία της κύησης και βοηθάει στη διάγνωση παθολογικών καταστάσεων. Το υπερηχογράφημα του 1^{ου} τρίμηνου μεταξύ της 11^{ης} και 13^{+6ης} εβδομάδας είναι από τις πιο σημαντικές εξετάσεις κατά τη διάρκεια της κύησης. Τα σημαντικότερα σημεία που εξετάζονται είναι η αυχενική διαφάνεια, το ρινικό οστό, η ροή του φλεβώδους πόρου και η λειτουργία της τριγλώχινος. Εκείνη τη χρονική περίοδο το υπερηχογράφημα πρέπει να συνοδεύεται και από άλλες εργαστηριακές εξετάσεις για την αποτελεσματικότερη διάγνωση ανωμαλιών. Τέτοιες εξετάσεις είναι η PAPP-A και η hCG. Στο 2^ο τρίμηνο της κύησης την 20^η-24^η εβδομάδα γίνεται το υπερηχογράφημα του β' επιπέδου. Αυτό ελέγχει την ανατομία του εμβρύου. Τέλος, στο 3^ο τρίμηνο χρειάζεται ένα υπερηχογράφημα για τον έλεγχο του βιοφυσικού προφίλ αλλά και έλεγχο για την καλή λειτουργία της εμβρυοπλακουντιακής μονάδας, που διενεργείται την 32^η με 34^η εβδομάδα (Αντωνίου , et al., 2007).

5.4 Cell-free DNA test

Μετά τις 7 εβδομάδες κύησης, στον ορό της γυναίκας εντοπίζεται εμβρυικό DNA, το οποίο βρίσκεται ελεύθερο στο κυκλοφορικό σύστημα της γυναίκας και όχι στον πυρήνα κάποιου κυττάρου. Υπολογίζεται ότι στην κυκλοφορία της γυναίκας υπάρχει 2-10% ελεύθερο εμβρυικό DNA, το οποίο προέρχεται από τον πλακούντα του εμβρύου, επομένως κύτταρα της τροφοβλάστης. Το γεγονός ότι υπάρχει εμβρυικό DNA στην αιματική κυκλοφορία της γυναίκας δίνει την δυνατότητα ανάλυσης του χωρίς την ανάγκη για επεμβατική τεχνική. Το Cell-free DNA test έχει μεγάλο ποσοστό ακρίβειας φτάνοντας το 97.7% στην ανίχνευση των υποχρωμοσωμικών ανωμαλιών (Lefkowitz, et al., 2016) (Scott, 2017).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. Σκοπός

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η καταγραφή των εμβρύων, νεογνών και παιδιών με υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας (ΠΓΝΛ). Το δείγμα ελήφθη από το εργαστήριο Κυτταρογενετικής και Μοριακής Γενετικής του νοσοκομείου και περιλαμβάνει τον καρυοτυπικό έλεγχο στις παραπάνω κατηγορίες κατά την πενταετία 2012-2017.

B. Μέθοδος και Υλικό

B1. Μέθοδος

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε ήταν η καταγραφή των περιστατικών σε έμβρυα, νεογνά και παιδιά, που παραπέμφθηκαν για καρυότυπο την πενταετία 2012-2017 από τα αρχεία του εργαστηρίου Κυτταρογενετικής και Μοριακής Γενετικής του Νοσοκομείου αλλά και περαιτέρω διερεύνησή τους στις αντίστοιχες κλινικές.

Για την πρόσβαση στα αρχεία παραχωρήθηκε άδεια από τους αρμόδιους των αντίστοιχων τμημάτων:

Στο εργαστήριο κυτταρογενετικής παραχωρήθηκε άδεια από την κ. Τσέζου, διευθύντρια του εργαστηρίου Κυτταρογενετικής και Μοριακής Γενετικής του νοσοκομείου και καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Για τη Μαιευτική-Γυναικολογική κλινική από τον κ. Δαπόντε, διευθυντή της κλινικής, καθηγητή Μαιευτικής-Γυναικολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και διευθυντή του ΠΜΣ.

Για τη Νεογνολογική κλινική-MENN από την κ. Γαϊτανά, παιδίατρο-νεογνολόγο, διευθύντρια ΕΣΥ και νεογνολογικής κλινικής-MENN του ΠΓΝΛ.

Τέλος, στην Παιδιατρική κλινική από την κ. Γριβέα, αναπληρώτρια καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

B2. Υλικό

Το αρχείο καρυοτυπικού ελέγχου ήταν καταγεγραμμένο σε δύο βιβλία, το ένα περιείχε τα έτη 2011 έως 2016 και το άλλο του έτους 2017, και περιείχαν αποτελέσματα καρυοτύπων από όλες τις κλινικές του νοσοκομείου, καθώς και δείγματα περιστατικών από εξωτερικούς ασθενείς, που είχαν παραπεμφθεί από ιδιώτες ιατρούς. Τα βιβλία περιείχαν τις εξής στήλες:

- αριθμό μητρώου (ΑΜ)
- ημερομηνία παραλαβής δείγματος
- ονοματεπώνυμο
- παραπέμπων ιατρός
- κλινική
- αίτια παραπομπής
- καρυότυπος
- ταμείο

Από τα βιβλία αυτά καταγράψαμε τα περιστατικά α) της Παιδιατρικής κλινικής (Π/Δ), β) της Νεογνολογικής κλινικής (Ν/Γ ή Νεογνά), γ) της ΜΕΝΝ, δ) της Γυναικολογικής κλινικής (ΓΥΝ/ΚΗ), ε) τους Εξωτερικούς Ασθενείς και στ) τα Εξωτερικά Ιατρεία της Παιδιατρικής (Ε.Ι Π/Δ) και της Γυναικολογικής (Ε.Ι ΓΥΝ/ΚΗ). Συνολικά, τα περιστατικά που κατεγράφησαν ήταν 507.

Για την καλύτερη καταγραφή αλλά κι επεξεργασία τους, δημιουργήθηκε ένα έγγραφο υπολογιστικών φύλλων Excel, όπου καταχωρήθηκαν περιστατικά από τους παραπάνω τομείς του νοσοκομείου με μορφοποίηση που θα αναλυθεί παρακάτω.

Όσον αφορά τους εξωτερικούς ασθενείς κατεγράφησαν παιδιατρικά, νεογνολογικά και γυναικολογικά περιστατικά. Σχετικά με τα τελευταία, στην έρευνά μας συμπεριλάβαμε μόνο όσα αφορούσαν αποβολές, παλίνδρομες κυήσεις/εκτρώσεις και νεκρά έμβρυα. Τα δείγματα που αναλύθηκαν με εργαστηριακές μεθόδους ήταν ιστοί, δέρμα, αίμα και σε μερικές περιπτώσεις ολόκληρο το κύημα. Έπειτα από την διαλογή αυτών των περιστατικών, από τα 507 που συνολικά είχαν εντοπιστεί, καταγράφηκαν στο Excel που δημιουργήθηκε τα 286.

Στο Excel που δημιουργήθηκε υπάρχουν τρία υπολογιστικά φύλλα: Έμβρυα, Νεογνά, και Παιδιά. Στο φύλλο των νεογνών εισάγαμε τις εξής στήλες: Αύξοντα αριθμό (Α/Α), Ημερομηνία, Κωδικός, Ονοματεπώνυμο, Φύλο, Κλινική, Αίτια, Αποτέλεσμα (Φυσιολογικό/ Παθολογικό), Καρυότυπος, Περιγραφή, Παρατηρήσεις. Στο φύλλο της Παιδιατρικής, υπάρχουν οι ίδιες στήλες με τα Νεογνά με μια παραπάνω στήλη, αυτή της Ηλικίας. Στο φύλλο με τα Έμβρυα υπάρχουν οι παρακάτω λίστες: Α/Α, Ημερομηνία, Κωδικός, Ονοματεπώνυμο, Αίτια, Αποτέλεσμα, Καρυότυπος, Περιγραφή, Παρατηρήσεις. Επεξηγηματικά:

Κωδικός Ονόματος (Κ.Ο.): Τα ονόματα των ατόμων έχουν αποκρυφτεί και στη θέση τους έχει μπει ένας μοναδικός αριθμός που αντιστοιχεί σε συγκεκριμένο άτομο.

Αίτια: Έχουν καταγραφεί όπως ήταν καταγεγραμμένα στα βιβλία με επιπρόσθετα στοιχεία από τους φακέλους των κλινικών. Ορισμένες πληροφορίες που ήταν στα αίτια παραπομπής τοποθετήθηκαν σε ειδική στήλη «Παρατηρήσεις». Για παράδειγμα σε όσα περιστατικά έγινε εξέταση FISH, αυτή είναι καταχωρημένη στη στήλη των Παρατηρήσεων και όχι στα Αίτια.

Καρυότυπος: Στη στήλη αυτή έχουν καταγραφεί τα αποτελέσματα των περιστατικών όπως ήταν καταχωρημένα στο αρχείο.

Περιγραφή: Σε αυτή τη στήλη έχουμε εισάγει την σημασιολογία των καρυοτύπων με βάση το διεθνές σύστημα ονοματολογίας από το ISCN. Περιγράφουμε τον αριθμό και τη δομή των χρωμοσωμάτων και ονοματοποιούμε τα σύνδρομα.

Για παράδειγμα : 46,XX,del(22)(q13,3) Θήλυ με φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων και έλλειμμα στον μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 22. Ο καρυότυπος αυτός υποδεικνύει το σύνδρομο Phelan McDermid (chromosome 22, 2017).

Παρατηρήσεις: Στη στήλη αυτή καταγράφονται αν υπήρχαν στοιχεία των γονέων, η τεχνική FISH αλλά και πόσα κύτταρα εξετάστηκαν.

Γ. Αποτελέσματα

Γ1. Ανάλυση Παθολογικών περιστατικών

Κατόπιν έρευνας σε βιβλιογραφικές παραπομπές και στο διεθνές σύστημα ονοματολογίας στην κυτταρογενετική του ανθρώπου (ISCN) έγινε η αποκωδικοποίηση των καρυοτυπικών αποτελεσμάτων.

Τα περιστατικά που κατεγράφησαν στο Excel, ήταν συνολικά 286.

	Συνολικά περιστατικά	Παθολογικά	Υποχρωμοσωμικές Ανωμαλίες
Έμβρυα	13*	1	1
Νεογνά	91	24	4
Παιδιά	182	17	9

Πίνακας 2: Ανάλυση παθολογικών περιστατικών. Αναγράφονται τα Συνολικά περιστατικά, πόσα είναι παθολογικά και ποια με υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες.

*Από τα 13 περιστατικά εμβρύων της Μαιευτικής-Γυναικολογικής κλινικής, μόνο τα 3 μπόρεσαν να αναλυθούν λόγω μόλυνσης των δειγμάτων.

	Παθολογικοί Καρυότυποι	Περιστατικά
<u>Μαιευτική-Γυναικολογική</u>	45,XX,der(13;14) (q10;q10)	Στις 18/11/2013, περιστατικό της Γυναικολογικής κλινικής (Κ.Ο. Ε3) με ιστορικό 3 αποβολών παραπέμφθηκε για καρυότυπο. Οι αποβολές όπως φαίνεται από το αρχείο γινόταν την 7 ^η - 8 ^η εβδομάδα κύησης. Το δείγμα ήταν ιστός και το αποτέλεσμα παθολογικό. Από την ανάλυση του καρυότυπου διαπιστώθηκε ότι το δείγμα ήταν από θήλυ έμβρυο. Το έμβρυο αυτό έφερε αυτοσωμική μονοσωμία λόγω αμοιβαίας μετατόπισης των σημείων θραύσης (q10;q10) στο μακρύ σκέλος κάθε χρωμοσώματος 13 και 14. Η μετάθεση αυτή είναι μετάθεση Robertson.

Πίνακας 3: Ανάλυση παθολογικού περιστατικού στη Μαιευτική-Γυναικολογική κλινική. Αναγράφονται ο παθολογικός καρυότυπος καθώς και η περιγραφή του περιστατικού.

	Παθολογικοί Καρυότυποι	Περιστατικά
<u>Νεογνολογική</u>	46,XX,del (22)(q13,3)	Στις 12/6/2012, παραπέμφθηκε για καρυότυπο θήλυ (Κ.Ο. Ν6) εξαιτίας επιμένουσας υπασβεστιαμίας. Συγκεκριμένα, ζητήθηκε καρυοτυπικός έλεγχος για το σύνδρομο DiGeorge. Το δείγμα που λήφθηκε ήταν αίμα και το αποτέλεσμα βγήκε παθολογικό. Το νεογνό αυτό διαγνώστηκε με σύνδρομο Phelan McDermid, το οποίο φέρει ένα μικροέλλειμμα στο μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 22 στη περιοχή q13.3.
	46,XY,qh+	Στις 21/1/2013, παραπέμφθηκε για καρυότυπο άρρεν (Κ.Ο. Ν19) κατόπιν προγεννητικής διάγνωσης βραχέων άκρων. Το δείγμα που πάρθηκε ήταν αίμα. Ο καρυότυπος υπέδειξε πολυμορφισμό στο μακρύ χρωμόσωμα ενός χρωμοσώματος.
	46,XX [19]/ 46, XX, fra (16) (q22) [14]	Στις 21/7/2015, παραπέμφθηκε για καρυότυπο θήλυ (Κ.Ο. Ν60) νεογνό με ιδιάζον προσωπείο, χαμηλή πρόσφυση ώτων, βραχύ τράχηλο, σκολίωση, εξαδακτυλία. Το δείγμα που λήφθηκε ήταν αίμα και το αποτέλεσμα παθολογικό. Ο καρυότυπος υπέδειξε χίμαιρα με ένα εύθραυστο χρωμόσωμα 16 στη μια κυτταρική σειρά.

<u>Νεογνολογική</u>	46,XY, ish del(15)(q11.2)(SNRPN)	Στις 11/8/2015, παραπέμφθηκε για καρυότυπο άρρεν (Κ.Ο. Ν61) νεογνό με υποτονία και κρυφορχία. Το δείγμα που λήφθηκε ήταν αίμα. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση FISH με ειδικό ανιχνευτή SNRPN για το σύνδρομο Prader-Willi και το αποτέλεσμα ήταν παθολογικό. Το άρρεν νεογνό είχε φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων αλλά με μικροέλλειμμα στον μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 15 στην περιοχή q11.2.
----------------------------	---	--

Πίνακας 4: Ανάλυση παθολογικών περιστατικών στη Νεογνολογική κλινική-MENN. Αναγράφονται ο παθολογικός καρυότυπος καθώς και οι περιγραφές των περιστατικών.

	Παθολογικοί Καρυότυποι	Περιστατικά
<u>Παιδιατρική</u>	46,XY,9qh+ / 46,XX,9qh+	<p>1)Στις 11/6/2012, παραπέμφθηκε άρρεν (Κ.Ο. Π9) με μακροκεφαλία, διάταση μετώπου, ιδιάζουσα ελίκωση και χαμηλή πρόσφυση ώτων. Ακόμα, είχε γίνει καρυότυπος στους γονείς με την μητέρα να έχει 46,XX (φυσιολογικό αποτέλεσμα) και τον πατέρα να φέρει το ίδιο αποτέλεσμα με το παιδί, δηλαδή 46,XY,9qh+.</p> <p>2)Στις 28/8/2012, παραπέμφθηκε άρρεν (Κ.Ο. Π18) με μεταβολική αλκάλωση.</p> <p>3)Στην 1/4/2013, παραπέμφθηκε θήλυ (Κ.Ο. Π41) 10 ετών με κοντό ανάστημα.</p>

<u>Παιδιατρική</u>		<p>4)Στις 23/9/2013, παραπέμφθηκε άρρεν (Κ.Ο. Π64) με επεισόδια απώλειας συνείδησης.</p> <p>Τα δείγματα που πάρθηκαν για ανάλυση από τα παραπάνω περιστατικά ήταν αίμα. Το καρυοτυπικό αποτέλεσμα ήταν φυσιολογικός αριθμός χρωμοσωμάτων αλλά εντοπίστηκε αύξηση της ετεροχρωματινικής περιοχής 9qh+ στο χρωμόσωμα 9.</p>
	45X/46X/r(x), (93%/17%)	<p>Στις 21/2/2013, παραπέμφθηκε για καρυότυπο θήλυ (Κ.Ο. Π36) 7,5 ετών με ήπια νοητική στέρωση, ιδιάζον προσωπείο, κοντό ανάστημα και ασάφεια θηλών. Το δείγμα ήταν αίμα και το αποτέλεσμα παθολογικό για σύνδρομο Turner με μωσαϊκισμό*. Ο καρυότυπος υπέδειξε μονοσωμία στο 93% στην πρώτη κυτταρική σειρά και φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων με ποσοστό 7% με ένα δακτυλιοειδές X χρωμόσωμα.</p> <p>*Αυτή η ανωμαλία κατατάσσεται στις αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες που αναλύονται εκτενώς σε άλλη διπλωματική εργασία. Στην παρούσα εργασία αναφέρεται λόγω του δακτυλιωτού χρωμοσώματος, που όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, ανήκει στις υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες.</p>
	46, X, i(x)(q10) ισοχρωμόσωμα Xq	<p>Στις 16/12/2013, παραπέμφθηκε θήλυ (Κ.Ο. Π76) από τα Ε.Ι Π/Δ για καρυότυπο λόγω υποψίας για σύνδρομο Turner. Το δείγμα που λήφθηκε ήταν αίμα. Το αποτέλεσμα ήταν παθολογικό και διαφορετικό από την αρχική υποψία. Ο καρυότυπος υπέδειξε φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων αλλά με ισοχρωμόσωμα για το μεγάλο βραχίονα του ενός χρωμοσώματος X.</p>

<u>Παιδιατρική</u>	46,XY inv (6) (p12q24)	<p>1) Στις 18/9/2015, παραπέμφθηκε άρρεν (Κ.Ο. Π127) για καρυότυπο και το δείγμα που λήφθηκε ήταν αίμα. Τα αίτια παραπομπής του ήταν ποικίλα. Ήταν υποτονικό, είχε μικροκεφαλία, μικρογναθία, μικροφθαλμία και οι ραφές του κρανίου ήταν διατεταγμένες. Το αποτέλεσμα του καρυότυπου ήταν παθολογικό με φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων αλλά με περικεντρική αναστροφή στο χρωμόσωμα 6.</p> <p>Στις 6/11/2015, εξετάστηκε καρυοτυπικά και η μητέρα του παιδιού και έφερε την ίδια υποχρωμοσωμική ανωμαλία με το παιδί. Ο πατέρας είχε φυσιολογικό καρυότυπο μη γνωρίζοντας την ημερομηνία εξέτασης του. Η ίδια παρουσίαζε γενικευμένη υποτονία, είχε φύσημα, θολωτή υπερωία, μικροφθαλμία, προέχον μέτωπο και μεγάλη πρόσθια πηγγή.</p> <p>2) Στις 17/02/2016 εξετάστηκε θήλυ 6 ετών με Κ.Ο. Π138. Αίτιο παραπομπής ήταν το χαμηλό ανάστημα και το αποτέλεσμα του καρυότυπου έδειξε περικεντρική αναστροφή στο χρωμόσωμα 6, όπως είχε προκύψει και από τον πρώτο έλεγχο στις 20/10/2015. Στις 23/11/2015 εξετάστηκε και η μητέρα του παιδιού και ξανά στις 17/02/2016, το αποτέλεσμα ήταν το ίδιο με του παιδιού.</p>
	46,X del (x)(p11.2)	<p>Στις 11/4/2016, θήλυ (Κ.Ο. Π143) εξωτερικός ασθενής με χαμηλό ανάστημα παραπέμφθηκε για καρυότυπο. Λήφθηκε αίμα και το αποτέλεσμα του καρυότυπου ήταν παθολογικό με υποχρωμοσωμική ανωμαλία. Ο αριθμός των χρωμοσωμάτων ήταν φυσιολογικός, αλλά υπήρχε έλλειμμα στον μικρό βραχίονα του X χρωμοσώματος στη περιοχή p11.2.</p>

Πίνακας 5: Ανάλυση παθολογικών περιστατικών στην Παιδιατρική κλινική. Αναγράφονται ο παθολογικός καρυότυπος καθώς και οι περιγραφές των περιστατικών.

Γ2. Παραπομπή περιστατικών για έλεγχο συγκεκριμένων συνδρόμων με αποτέλεσμα φυσιολογικό.

Όλα τα περιστατικά που έχουν καταγραφεί, παραπέμφθηκαν για ανάλυση καρυότυπου εξαιτίας του φαινότυπου που παρουσίαζαν (αίτια παραπομπής) ή λόγω γνωστής ανωμαλίας συγγενικού προσώπου. Αρκετά από τα περιστατικά αυτά στόχευαν, εξαιτίας του φαινότυπου, σε συγκεκριμένα σύνδρομα για τα οποία γινόταν τις περισσότερες φορές και ανάλυση FISH, με αρκετά από αυτά να έχουν φυσιολογικά αποτελέσματα. Λόγω του φαινότυπου τους και της υποψίας για συγκεκριμένο σύνδρομο, αξίζει να αναφερθούν, παρότι το αποτέλεσμα βγήκε φυσιολογικό.

- Περιστατικό της Ν/Γ κλινικής στις 14/2/2012 με Κ.Ο. Ν3. Το νεογνό ήταν θήλυ και παραπέμφθηκε λόγω βαριάς γενικευμένης υποτονίας για έλεγχο Prader-Willi και Werdnig Hoffman. Το αποτέλεσμα του καρυότυπου ήταν φυσιολογικό 46, XX και το αποτέλεσμα της ανάλυσης FISH αρνητικό.
- Περιστατικό της Ν/Γ κλινικής στις 10/4/2013. Ήταν άρρεν Κ.Ο. Ν24 με αίτια παραπομπής υδροκεφαλία, μακροκεφαλία και κρυφορχία. Στάλθηκε δείγμα να ελεγχθεί για σύνδρομο Dandy-Walker. Το αποτέλεσμα ήταν φυσιολογικό 46, XY.

Στις 23/7/2013 έγινε επανάληψη του καρυότυπου με δείγμα που στάλθηκε από την Π/Δ κλινική, αυτή τη φορά με αιτιολογία παραπομπής σύστοιχη κρυφορχία, ιδιάζον προσωπείο, βουβωνοκήλη στα δεξιά και υδροκεφαλία. Ο έλεγχος αφορούσε ξανά το σύνδρομο Dandy-Walker. Το αποτέλεσμα ήταν και πάλι φυσιολογικό 46, XY.

- Περιστατικό της Ν/Γ κλινικής στις 25/7/2014 με Κ.Ο. Ν42. Το νεογνό ήταν άρρεν, είχε θωρακική δυσπλασία, αχονδροπλασία και παραπέμφθηκε για έλεγχο του συνδρόμου SEN (Scalp-Ear-Nipple Syndrome). Το δείγμα δεν καλλιεργήθηκε γιατί είχε δημιουργηθεί πήγμα και η ποσότητα ήταν πολύ λίγη. Το νεογνό απεβίωσε.
- Περιστατικό της Ν/Γ κλινικής στις 16/12/2016. Κ.Ο. Π185. Ήταν άρρεν νεογνό και υπήρχε υποψία για σύνδρομο Prune Belly. Το αποτέλεσμα ήταν φυσιολογικό 46,XY.
- Περιστατικό της Π/Δ κλινικής στις 21/8/2012. Κ.Ο. Π17. Ήταν θήλυ με κανένα φαινοτυπικό χαρακτηριστικό και αίτιο παραπομπής. Το δείγμα στάλθηκε για έλεγχο ύπαρξης του συνδρόμου Beckwith-Wiedemann. Το αποτέλεσμα του καρυότυπου ήταν φυσιολογικό 46,XX.

- Περιστατικό της Π/Δ κλινικής στις 8/4/2014. Κ.Ο. Π88 Το νεογνό ήταν θήλυ και δεν υπήρχαν αίτια παραπομπής σύμφωνα με το αρχείο. Το δείγμα στάλθηκε για έλεγχο του συνδρόμου Angelman. Δεν υπήρχε αποτέλεσμα καρυότυπου στα αρχεία, παρά μόνο το αποτέλεσμα της ανάλυσης της FISH που ήταν αρνητικό.

Δ. Δυσκολίες στην έρευνα και στη συγγραφή της εργασίας

Οι δυσκολίες που αντιμετωπίστηκαν ήταν αρκετές. Αρχικά, δεν υπήρχε ομοιογένεια στη γραφή των αποτελεσμάτων του καρυότυπου και χρειάστηκε έρευνα σε αρκετές βιβλιογραφικές παραπομπές αλλά και διερεύνηση των φακέλων για περισσότερες λεπτομέρειες.

Επιπλέον, εκτός από τα αρχεία της Π/Δ κλινικής, τα οποία ήταν σε ηλεκτρονική μορφή, όλα τα υπόλοιπα ήταν σε έντυπη. Αυτό προϋπέθετε την αφιέρωση περισσότερου χρόνου σε κάθε τομέα και περιστατικό χωρίς θετικό, αρκετές φορές, αποτέλεσμα. Πολλά από αυτά τα αρχεία είχαν ελλιπή στοιχεία των περιστατικών ή μερικά από τα περιστατικά που αναζητήθηκαν δεν υπήρχαν. Χαρακτηριστικό παράδειγμα ήταν μερικά από τα περιστατικά των Ε.Ι της Π/Δ, τα οποία δεν ήταν στο ηλεκτρονικό αρχείο και χρειάστηκε ο έλεγχος των βιβλίων των Ε.Ι Π/Δ, αλλά ούτε εκεί εντοπίστηκαν. Το ίδιο συνέβη και σε περιστατικά των άλλων κλινικών.

Τέλος, μια ακόμη δυσκολία που έχρηζε μεγάλης προσοχής ήταν η διαλεύκανση ορισμένων περιστατικών ως προς το βαθμό συγγένειας των ασθενών, δεδομένου ότι στέλνονται και δείγματα για ανάλυση καρυότυπου από τους γονείς.

Τέτοια περιστατικά είναι:

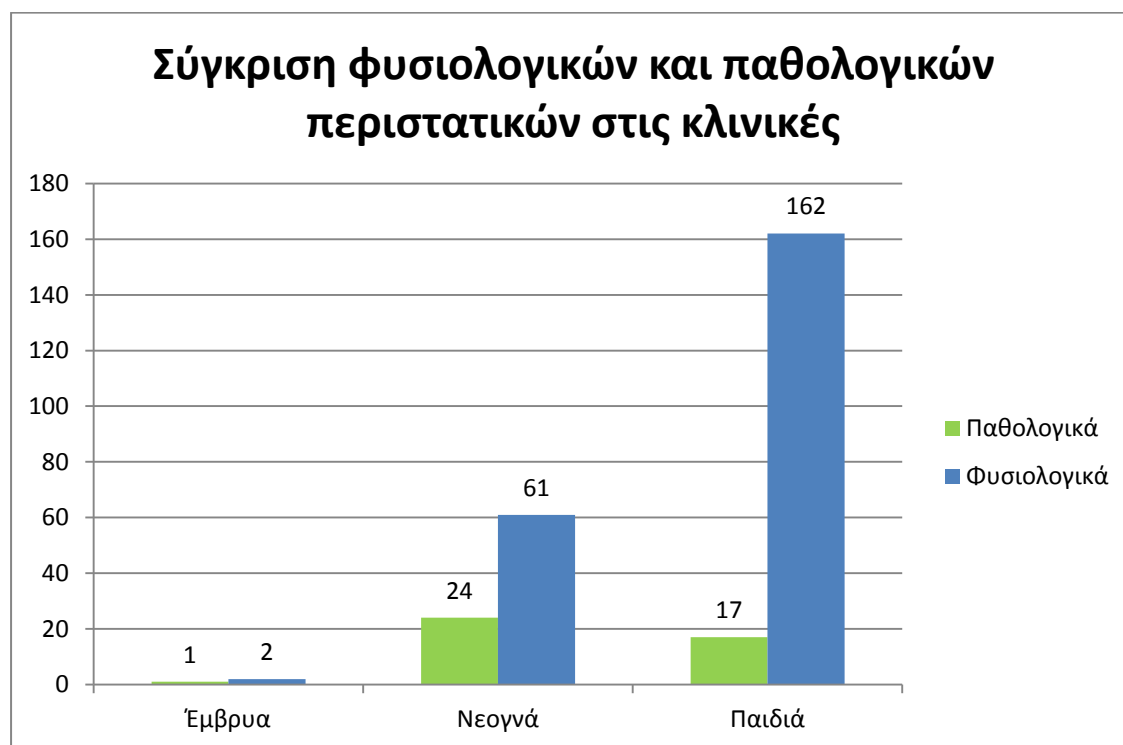
- i. Στις ημερομηνίες 8/6/2015 και 22/9/2015 έχουν σημειωθεί περιστατικά με δίδυμα νεογνά στη Νεογνολογική κλινική. Τα πρώτα στις 8/6/2015 είναι δίδυμα νεογνά μονοχοριακής κύησης με σύνδρομο εμβρυικής μετάγγισης. Το ένα είναι άρρεν νεογνό με Κ.Ο. Ν58 και το άλλο θήλυ με Κ.Ο. Ν59 . Και τα δύο έχουν παθολογικό καρυότυπο, 46,XX /46,XY ο οποίος υποδεικνύει ότι είναι χίμαιρες. Τα δεύτερα στις 22/9/2015 είναι πάλι διαφορετικού φύλου με το άρρεν νεογνό να έχει Κ.Ο. Ν63 και το θήλυ Κ.Ο. Ν64. Στα αίτια παραπομπής δεν αναφέρεται κάποιο κλινικό εύρημα και οι καρυότυποι τους υποδεικνύουν μωσαϊκές χίμαιρες. Πιο αναλυτικά το άρρεν νεογνό έχει καρυότυπο mos 46,XX [18]/ 46, XY [12] και το θήλυ mos 46, XX [24]/ 46, XY [6]. Λογικά, συμπεραίνεται ότι πρόκειται για τα

ίδια μονοχοριακά δίδυμα εφόσον τα επίθετα είναι ίδια και στις δύο περιπτώσεις και αφού και τα δύο με βάση τον καρυότυπο είναι χίμαιρες. Ο καρυότυπος τους όμως διαφέρει ως προς τη γραφή και τον συμβολισμό και δεν αναγράφεται ότι πρόκειται για επαναληπτικό έλεγχο. Για τους παραπάνω λόγους έχουν καταχωρηθεί ως ξεχωριστά περιστατικά στο Excel.

- ii. Μια παρόμοια περίπτωση είναι αυτή στις ημερομηνίες 20/11/2012 και 17/1/2013 στη Παιδιατρική Κλινική. Στην πρώτη ημερομηνία με Κ.Ο. Π28 το παιδί είναι θήλυ 8 ετών με νοητική καθυστέρηση και στην άλλη με Κ.Ο. Π35 είναι θήλυ με διαταραχές λόγου και κίνησης. Και στις δύο περιπτώσεις το ονοματεπώνυμο του παιδιού είναι ίδιο. Λογικά, συμπεραίνεται ότι πρόκειται για το ίδιο άτομο και ότι η δεύτερη καρυοτυπική ανάλυση είναι επαναληπτική. Εξαιτίας όμως των διαφορετικών αιτιών παραπομπής και απουσία επεξήγησης επαναληπτικού ελέγχου, έχουν καταγραφεί ως δύο διαφορετικά περιστατικά.

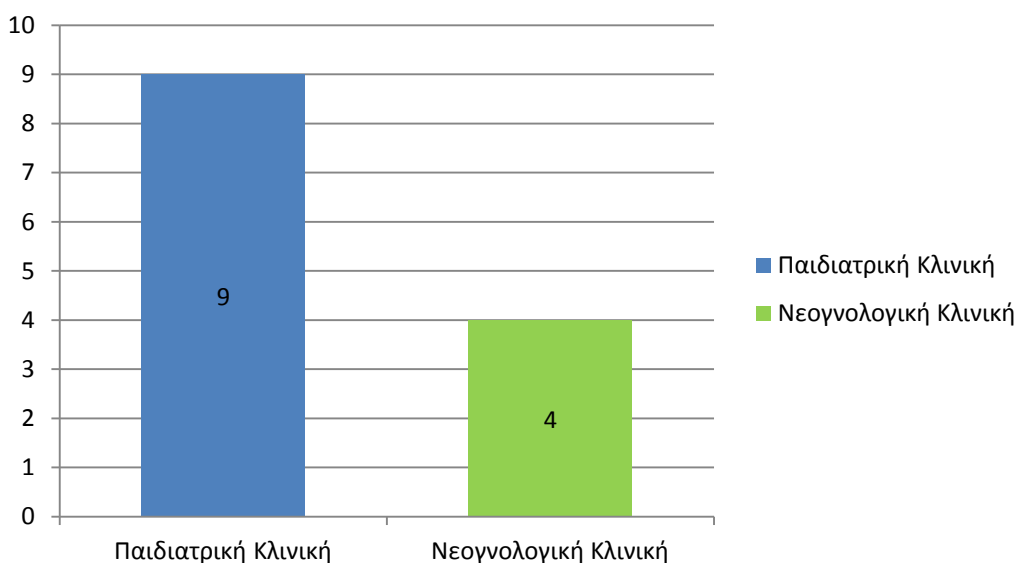
Συμπεράσματα

Τα δείγματα που κατεγράφησαν και αναλύθηκαν σε αυτή τη διπλωματική εργασία ήταν συνολικά 286. Τα παθολογικά περιστατικά ήταν 42. Από αυτά, 14 είχαν υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες, 1 εντοπίστηκε στην Γυναικολογική κλινική, 4 στην Νεογνολογική και 9 στην Παιδιατρική.



Από αυτά τα αποτελέσματα συμπεραίνεται ότι τα περιστατικά της Παιδιατρικής (9) με υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες ήταν παραπάνω από τα διπλάσια από αυτά της Νεογνολογικής (4), γεγονός που συνάδει και με την βιβλιογραφία, καθώς υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες σπάνια ανιχνεύονται πριν το πρώτο τουλάχιστον εξάμηνο ζωής ενός παιδιού. Αυτό οφείλεται στην έλλειψη παθολογικού φαινότυπου έως εκείνη περίπτωση την ηλικία του παιδιού (Helgeson, et al., 2015). Επίσης, το γεγονός ότι παραπέμπονται για προγεννητικό έλεγχο μόνο γυναίκες με συγκεκριμένους επιβαρυντικούς παράγοντες όπως η ηλικία, προηγούμενο παιδί με χρωμοσωμική ανωμαλία κ.ά. αποτελεί αίτιο για την μη έγκαιρη διάγνωση παιδιών με υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες. Επιπλέον, πρέπει να αναφερθούν και οι περιπτώσεις όπου έχει ανιχνευτεί κάποια χρωμοσωμική ανωμαλία και κατόπιν ενημέρωσης και του ζευγαριού αποφάσισαν να μην διακόψουν την κύηση, με αποτέλεσμα τη γέννηση παιδιού με χρωμοσωμική ανωμαλία.

Περιστατικά με Υποχρωμοσωμικές Ανωμαλίες



Ακόμα, όσον αφορά τα αποτελέσματα με καρυότυπο 46,XX ή 46,XY 9qh+, αξίζει να αναφερθεί ότι είναι αυτά που καταγράφηκαν με τη μεγαλύτερη συχνότητα στα περιστατικά. Αναλυτικότερα, εντοπίστηκαν 4 περιστατικά με διαφορετικό φαινότυπο στην παιδιατρική κλινική. Ακόμη, καρυότυπος 46,XY,qh+ ανιχνεύθηκε σε 1 νεογνολογικό περιστατικό, αφού είχε προηγηθεί προγεννητικός έλεγχος και είχε φανεί ότι το έμβρυο είχε βραχεία άκρα. Όπως προαναφέρθηκε, το αποτέλεσμα αυτό είναι πολυμορφισμός. Ο πολυμορφισμός, με βάση τη βιβλιογραφία, είναι οι διαφορές στη μορφολογία των χρωμοσωμάτων αλλά σε φυσιολογικό πρότυπο. Οι πιο γνωστοί πολυμορφισμοί είναι το μέγεθος του Y, το μέγεθος της ετεροχρωματίνης του κεντρομεριδίου, πολυμορφισμοί των δορυφόρων και τα εύθραυστα σημεία. Στο συγκεκριμένο περιστατικό ο πολυμορφισμός αφορά διευρυμένη ετεροχρωματίνη στο χρωμόσωμα 9, η οποία έχει υπολογιστεί ότι εμφανίζεται σε ένα 6-8% του πληθυσμού (Nogueira Belangero, et al., 2009). Η διευρυμένη ετεροχρωματίνη πιο αναλυτικά δεν παρουσιάζει παθολογικό φαινότυπο. Όμως, φαίνεται πως συσχετίζεται με την ανδρική υπογονιμότητα (Nogueira Belangero, et al., 2009). Ωστόσο, μερικά από τα περιστατικά που καταγράφηκαν έφεραν παθολογικό φαινότυπο, για παράδειγμα μακροκεφαλία, διάταση μετώπου, ιδιάζουσα ελίκωση και χαμηλή πρόσφυση ώτων, επεισόδια απώλειας συνείδησης, κοντό ανάστημα, μεταβολική αλκάλωση.

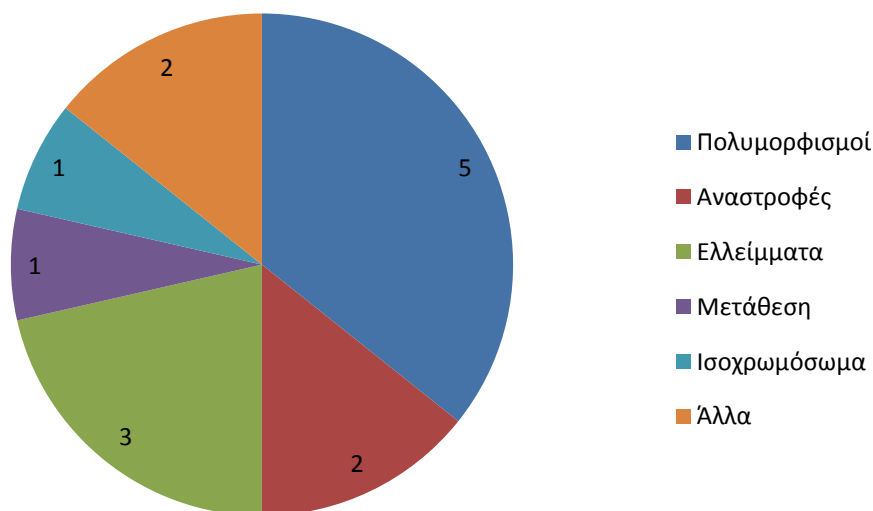
Επίσης, είναι άξια αναφοράς 2 περιστατικά στην Παιδιατρική κλινική με καρυότυπο 46,XY inv (6) (p12q24), δηλαδή περικεντρική αναστροφή στο χρωμόσωμα 6. Με βάση την πρόσφατη βιβλιογραφία (Nussbaum, et al., 2016), γνωρίζουμε ότι οι αναστροφές συνήθως δεν προκαλούν αλλαγή στον φαινότυπο. Ωστόσο, στο ένα από

τα περιστατικά που καταγράψαμε, ο φαινότυπος των παιδιού ήταν παθολογικός. Το παιδί ήταν υποτονικό, είχε μικροκεφαλία, μικρογναθία, μικροφθαλμία και οι ραφές του κρανίου ήταν διατεταγμένες. Όσον αφορά το άλλο περιστατικό παραπέμφθηκε λόγω χαμηλού αναστήματος.

Ακόμα, όσον αφορά τα περιστατικά της Γυναικολογικής από τα 13 συνολικά που καταγράφηκαν αναλύθηκαν μόνο 3 λόγω μόλυνσης του δείγματος των υπολοίπων. Από αυτά μόνο ένα ήταν παθολογικό και είχε υποχρωμοσωμική ανωμαλία. Πιο συγκεκριμένα, ο καρυότυπος από τον ιστό που αναλύθηκε έδειξε 45,XX,der(13;14)(q10;q10), δηλαδή μετάθεση Robertson. Αυτό το αποτέλεσμα έρχεται να συμφωνήσει με την βιβλιογραφία, καθώς οι μεταθέσεις έχουν αποδειχθεί ότι μπορούν να προκαλέσουν αυτόματη αποβολή (Korf, 2012).

Επίσης, εντοπίστηκαν συνολικά 3 υποχρωμοσωμικές ανωμαλίες που οφείλονται σε έλλειψη. Αυτά είναι το σύνδρομο Prader-Willi, το σύνδρομο Phelan McDermid και ένα έλλειμμα στον μικρό βραχίονα του X χρωμοσώματος 46,X del (x)(p11.2). Με βάση την βιβλιογραφία οι ελλείψεις τείνουν να παρουσιάζουν σωματικές ανωμαλίες (Lissauer & Clayden, 2011). Οι λόγοι παραπομπής συνάδουν με την βιβλιογραφία καθώς στο έλλειμμα 46,X del (x)(p11.2) το παιδί παραπέμφθηκε για καρυότυπο λόγω χαμηλού αναστήματος. Όσον αφορά το περιστατικό από τη Νεογνολογική που διαγνώσθηκε με σύνδρομο Prader-Willi, είχε παραπεμφθεί εξαιτίας κρυπορχίας και υποτονίας του νεογνού, τα οποία είναι από τα βασικά κλινικά χαρακτηριστικά νεογνού με σύνδρομο Prader-Willi (Goldstone, 2004).

Υποχρωμοσωμικές Ανωμαλίες των εξεταζόμενων κλινικών του ΠΓΝΛ κατά τα έτη 2012-2017.



Συμπερασματικά, η έκδοση στατιστικών αποτελεσμάτων δεν ήταν δυνατή εξαιτίας ελλιπών στοιχείων για τον τόπο γέννησης των νεογνών ή ποια περιστατικά είχαν παραπεμφθεί από άλλο νοσοκομείο της περιφέρειας ή ακόμα και ιδιωτική κλινική. Το ίδιο ισχύει και για τα μαιευτικά περιστατικά διότι δεν γνωρίζουμε τον τόπο κατοικίας των γυναικών. Όλα τα παραπάνω αποτελούν λόγους για την αναγκαιότητα ηλεκτρονικής βάσης δεδομένων, όπου θα καταγράφονται λεπτομερώς τα στοιχεία των ασθενών. Η βάση αυτή είναι καίριας σημασίας τόσο για τα παραπάνω, όσο και για τον διαχωρισμό των ασθενών, διότι η μεγαλύτερη δυσκολία που αντιμετωπίστηκε στη διπλωματική αυτή εργασία ήταν η κατανόηση του βαθμού συγγένειας μεταξύ τους.

Τέλος, πέρα από τη σύσταση ηλεκτρονικής βάσης δεδομένων, προτείνεται περαιτέρω έρευνα των υποχρωμοσωμικών ανωμαλιών στην Ελλάδα, καθώς υπάρχουν ακόμα πολλά πεδία προς διερεύνηση. Η παρούσα διπλωματική εργασία ήταν μια προσπάθεια καταγραφής αυτού του κλάδου, ο οποίος χρήζει περισσότερης έρευνας και έκδοσης στατιστικών αποτελεσμάτων, τα οποία ως και σήμερα εντοπίζονται σπάνια ως και καθόλου στην χώρα μας.

Βιβλιογραφία

- 22q13.3, 2017. *Genetics Home Reference*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/22q133-deletion-syndrome>
[Πρόσβαση 19 Σεπτεμβρίου 2017].
- Alberts, B. et al., 2006. *Βασικές Αρχές Κυτταρικής Βιολογίας*. 2η Έκδοση ed. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης.
- Alberts, B. et al., 2006. *Βασικές Αρχές Κυτταρικής Βιολογίας*. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης.
- Antonarakis, S. E. et al., 2004. Chromosome 21 and Down syndrome: from genomics to pathophysiology. *Nature Reviews Genetics* 5, October, pp. 725-738.
- Beckwith-Wiedemann syndrome, 2017. *Genetics Home Reference*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/beckwith-wiedemann-syndrome>
[Πρόσβαση 20 Σεπτεμβρίου 2017].
- Behrman, R. E. & Kliegman, R., 2010. *Nelson Βασική Παιδιατρική*. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας.
- Bittel, D. C. & Butler, M. G., 2005. Prader-Willi syndrome: clinical genetics, cytogenetics and molecular biology. *Expert reviews in molecular medicine* 7(4), July, pp. 1-20.
- Burrow, A. A., Marullo, A., Holder, L. R. & Wang, Y.-H., 2010. Secondary structure formation and DNA instability at fragile site FRA6B.(38). *Nucleic Acids Research*, January, pp. 2865-2877.
- Carr, M., 2015. *Prune Belly Syndrome*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=566&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Prune-belly-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=Prune-belly-syndrome&title=Prune-belly-syndrome&sear](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=566&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Prune-belly-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Prune-belly-syndrome&title=Prune-belly-syndrome&sear)
[Πρόσβαση 25 Σεπτεμβρίου 2017].
- chromosome 22, 2017. *Genetics Home Reference*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/chromosome/22>
[Πρόσβαση 15 Σεπτεμβρίου 2017].
- Cocchi, G. et al., 2010. International trends of Down syndrome 1993-2004: Births in relation to maternal age and terminations of pregnancies. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular* 88(6), June, pp. 474-479.
- Connor, M. & Ferguson-Smith, M., 2004. *Βασικές Αρχές Ιατρικής Γενετικής*. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης.

- Dandy-Walker malformation, 2017. *Genetics Home Reference*. [Online] Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/dandy-walker-malformation> [Accessed 19 Σεπτεμβρίου 2017].
- Gelehrter, T. D., Collins, F. S. & Ginsburg, D., 2003. *Αρχές Ιατρικής Γενετικής*. Αθήνα: Π.Χ. Πασχαλίδης.
- Goldstone, A. P., 2004. Prader-Willi syndrome: advances in genetics, pathophysiology and treatment. *Trends in Endocrinology and metabolism:TEM*.15(1), January-February, pp. 12-20.
- Hamilton, M. J. & Eason, J., 2015. Prenatal Diagnosis of genetics disorders 25(11). *Obstetrics, Gynaecology & Reproductive Medicine*, November, pp. 307-313.
- Harony-Nicolas, H., De Rubeis, S. & Buxbaum, J. D., 2015. Phelan McDermid syndrome: from genetic discoveries to animal models and treatments 30(14). *Journal Child Neurology*, December, pp. 1861-1870.
- Hassett, S., Smith, G. H. & Holland, A. A., 2012. Prune belly syndrome. *Pediatric Surgery International* 28, pp. 219-228.
- Hassold, T. & Sherman, S., 2000. Down syndrome: genetic recombination and the origin of the extra chromosome 21. *Clinical Genetics* 57(2), February, pp. 95-100.
- Hattori, M. et al., 2000. The DNA sequence of human chromosome 21. *Nature* 405 (6784), May, pp. 311-9.
- Helgeson, J. et al., 2015. Clinical outcome of subchromosomal events detected by whole-genome noninvasive prenatal testing 35(10). *Prenatal Diagnosis*, July, pp. 999-1004.
- Horsthemke, B. & Buiting, K., 2006. Imprinting defects on human chromosome 15 (113). *Cytogenetic and Genome Research*, pp. 292-299.
- Jiang, J. et al., 2013. Translating Dosage Compensation to Trisomy 21. *Nature* 500, August, pp. 296-300.
- Jonas, R. K., Montojo, C. A. & Bearden, C. E., 2014. Biological Psychiatry. *The 22q11.2 Deletion Syndrome an a Window into Complex Neuropsychiatric Disorders the Lifespan* 75(5), March, pp. 351-360.
- Kheir, A. E., Ali, E. M., Medani, S. A. & Maaty, H. S., 2017. Prune belly syndrome: A report of 15 cases from Sudan. *Sudanese Journal of Paediatrics*.
- Kolevzon, A. et al., 2014. Phelan-McDermid syndrome: a review of the literature and practice parameters from medical assessment and monitoring 6. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, p. 39.
- Korf, B. R., 2012. *Γενετική και γονιδιωματική του ανθρώπου*. 3η Έκδοση επιμ. Αθήνα: Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιανού Α.Ε..

- Lefkowitz, R. B. et al., 2016. Clinical validation of a noninvasive prenatal test for genomewide detection of a fetal copy number variants.. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, August, pp. 227. e1-16.
- Levene, M. I., Tudehope, D. I. & Thearle, M., 2006. *Βασικές Αρχές Νεογνολογίας*. 3η Έκδοση επιμ. Αθήνα: Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιανού.
- Lissauer, T. & Clayden, G., 2011. *Σύγχρονη Παιδιατρική*. Αθήνα: Εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης.
- Lyle, R. et al., 2009. Genotype-phenotype correlations in Down syndrome identified by array CGH in 30 cases of partial trisomy and partial monosomy chromosome 21.. *European journal of human genetics* 17(4), April, pp. 454-466.
- Malt, E. A. et al., 2013. Health and disease in adults with Down syndrome. *Tidsskr Nor Laegeforen* 133, February, pp. 290-294.
- Margolis, S. S., Sell, G. L., Zbinden, M. A. & Bird, L. M., 2015. Angelman Syndrome. *The American Society for Experimental Neuro Therapeutics* 12, June, pp. 641-650.
- Merscher, S. et al., 2001. TBX1 Is Responsible for Cardiovascular Defects in Velo-Cardio-Facial/DiGeorge Syndrome104. *Cell*, February, pp. 619-629.
- Nicholls, R. D. & Knepper, J. L., 2001. Genome organization, function, and imprinting in Prader-Willi and Angelman syndromes 2. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, September, pp. 153-175.
- Nogueira Belangero, S. I. et al., 2009. Male infertility related to an aberrant karyotype, 46,XX,9ph,9qh+. (91). *Fertility and Sterility*, June, pp. 0015-0282.
- Nogueira, S. και συν., 2008. Atypical 22q11.2 deletion in a patient with DGS/VGFS spectrum 51(3). *European Journal of Medical Genetics*, pp. 226-230.
- Nussbaum, R. L., McInnes, R. R. & Willard, H. F., 2011. *Thompson & Thompson Ιατρική Γενετική*. 2η Έκδοση επιμ. Αθήνα: Εκδόσεις Π.Χ. Παχαλίδης.
- Nussbaum, R. L., McInnes, R. R. & Willard, H. F., 2016. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*. 8η Έκδοση επιμ. Philadelphia: Elsevier.
- Oliver, T. R. και συν., 2008. New insights into human nondisjunction of chromosome 21 in oocytes. *PLoS Genetics* 4(3), March, p. e1000033.
- Patrinos, G. P. & Ansorge, W., 2008. *Μοριακή Διάγνωση*. Πάτρα: Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιανού.
- Phelan, K. & McDermid, H. E., 2011. The 22q13.3 Deletion Syndrome (Phelan-McDermid Syndrome) 2. November, pp. 186-201.
- Rocha, C. F. & Paiva, C. A., 2014. Prader-Willi-like phenotypes: a systematic review of their chromosomal abnormalities. *Genetics and Molecular Research* 13(1), March, pp. 2290-2298.

Sack, G. H., 2002. *Η Γενετική στην Ιατρική*. Αθήνα: Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιανού Α.Ε..

Scalp-Ear-Nipple syndrome, 2017. *Genetics Home Reference*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/scalp-ear-nipple-syndrome>
[Πρόσβαση 27 Σεπτεμβρίου 2017].

Scott, R. T., 2017. Subchromosomal abnormalities in preimplantation embryonic aneuploidy screenig.107. *Fertility and Sterility*, January, pp. 0015-0282.

Shpintzen, R. J., 2008. Velo-Cardio-Facial Syndrome: 30 Years of Study. *Developmental Disabilities Research Reviews* 14(1), pp. 3-10.

Shuman, C. & Weksberg, R., 2011. *Σύνδρομο Beckwith-Wiedemann*. [Online]
Available at: <https://www.orpha.net/data/patho/GR/-BeckwithWiedemann-GRgrAbs260.pdf>
[Accessed 20 Σεπτεμβρίου 2017].

Solinas-Toldo, S. et al., 1997. Matrix-based comparative genomic hybridization: Biochips to screen for genomic imbalances 20. December, pp. 399-407.

Soorya, L. και συν., 2013. Prospective investigation of autism and genotype-phenotype correlations in 22q13 deletion syndrome and SHANK3 deficiency 4:18. *Molecular Autism*, June.

Taylor, T. H. et al., 2014. The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans. *Human Reproduction Update* 20(4), March, pp. 571-581.

Thurik, F. F. et al., 2015. Analysis of false-positive results of fetal RHD typing in a national screening program reveals vanishing twins as a potential cause of discrepancy. *Prenatal Diagnosis* 35, pp. 754-760.

Veltman, J. et al., 2002. High-throughput analysis of subtelomeric chromosome rearrangements by use of array-based comparative genomic hybridization.70(5). *American journal of human genetics*, May, pp. 1269-1276.

Wattendorf, D. J. & Muenke, M., 2005. Prader-Willi Syndrome. *American Academy of Family Physicians* 72(5), September, pp. 827-830.

Werdnig-Hoffmann Disease, 2012. *National Organization for Rare Disorders*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://rarediseases.org/rare-diseases/werdnig-hoffmann-disease/>
[Πρόσβαση 25 Σεπτεμβρίου 2017].

Wiseman, F. K. et al., 2015. A genetic cause of Alzheimer disease: mechanistic insights from Down syndrome. *Nature Reviews Neuroscience* 16, September, pp. 564-574.

Yurov, Y. B. et al., 2007. Aneuploidy and Confined Chromosomal Mosaicism in the Developing Human Brain. *PLoS ONE* 2(6), June, p. e558.

Zitelli, B. J. & Davis, H. W., 2009. *Παιδιατρική Φυσική Εξέταση και Διάγνωση*. Αθήνα: Εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης.

Αντωνίου , Ε. και συν., 2007. *Η Γυναίκα & το Νεογνό στην Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας*. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης .

Παρθενίου, Φ.-Β., 2008. *Μελέτη χρωμοσωματικών ανωμαλιών με κυτταρογενετικές και μοριακές μεθόδους*. Θεσσαλονίκη: Μεταπτυχιακή Διατριβή.

Τζέτη, Μ. & Τσαρουχά, Χ., 2015. Μελέτη των χρωμοσωμάτων του ανθρώπου. Στο: Γ. Παπανικολάου, και συν. επιμ. *Εργαστηριακές Ασκήσεις Γενετικής του Ανθρώπου*. Αθήνα: Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών, pp. 47-65.

Τριανταφυλλίδης , Κ. & Κουβάτση, Α., 2009. *Γενετική Ανθρώπου*. Αθήνα: Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη Α.Ε.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ