

Τίτλος Διδακτορικής Διατριβής:

Διαταραχές της Μεμβράνης των ερυθροκυττάρων (Μεμβρανοπάθειες) σε παιδιά και ενήλικες:
Κλινική και Γενετική Μελέτη

Υποψήφια Διδάκτωρ: Χουλιάρα Βασιλική, Ιατρός

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή: Αντώνης Καττάμης (Επιβλέπων), Έλενα Σολωμού,
Χρυσταλλένα Σοφοκλέους

Περίληψη:

Οι μεμβρανοπάθειες είναι κληρονομικές αιμολυτικές αναιμίες που σχετίζονται με διαταραχή της κυτταρικής μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων και χαρακτηρίζονται από μεγάλη φαινοτυπική και γενετική ετερογένεια. Οφείλονται σε διαταραχές-ποιοτικές ή ποσοτικές- των πρωτεϊνών της μεμβράνης (τόσο των δομικών πρωτεϊνών όσο και των διαμεμβρανικών πρωτεϊνών μεταφοράς/ διαύλων) ή του κυτταροσκελετού με αποτέλεσμα τη διαταραχή της συνοχής, σταθερότητας, πλαστικότητας και διαπερατότητας του κυττάρου. Η σωστή και έγκαιρη διάγνωση της μεμβρανοπάθειας είναι αναγκαία αφενός για την παρακολούθηση και θεραπεία των ίδιων των ασθενών και αφετέρου για την γενετική συμβουλευτική και παρακολούθηση πιθανής κύησης.

Αντικείμενο της παρούσας διατριβής είναι η κλινική και γενετική μελέτη ασθενών με διαταραχές της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων στον ελληνικό πληθυσμό.

Στη μελέτη θα συμμετέχουν ασθενείς που έχουν διαγνωστεί με μεμβρανοπάθεια ή διερευνώνται για πιθανή μεμβρανοπάθεια. Θα αναπτυχθεί ειδική τράπεζα δεδομένων ως αρχείο καταγραφής. Για κάθε ασθενή θα καταγράφονται, πέραν των δημογραφικών, στοιχεία σχετικά με τη διάγνωση, το οικογενειακό ιστορικό, η κλινική εικόνα, η ανάγκη μεταγγίσεων, το χειρουργικό ιστορικό και η λαμβάνουσα και τυχόν προηγηθείσα φαρμακευτική αγωγή. Επίσης θα γίνει καταγραφή της γενικής παιδιατρικής ανάπτυξης συμπεριλαμβανομένων και δοκιμασιών ψυχοκινητικής εξέλιξης. Θα γίνει εργαστηριακός έλεγχος των ασθενών στην Α΄ Παιδιατρική Πανεπιστημιακή Κλινική ΕΚΠΑ, ο οποίος θα περιλαμβάνει μεταξύ άλλων γενική αίματος, ποσοστό δικτυοερυθροκυττάρων, ολική και έμμεση χολερυθρίνη, γαλακτική αφυδρογονάση, eosin-5-maleimide binding test και νεότερους βιοδείκτες σχετιζόμενους με την ερυθροποίηση και τα επίπεδα σιδήρου. Ακόμη, θα πραγματοποιηθεί υπερηχογραφικός έλεγχος κοιλίας. Επιπλέον θα διενεργηθεί γονιδιακός έλεγχος προκειμένου να διερευνηθεί συσχέτιση μεταξύ γονοτύπου και φαινοτύπου. Αναλυτικότερα, θα πραγματοποιείται targeted Next Generation Sequencing (t-NGS) που θα περιλαμβάνει κατ' ελάχιστο το ακόλουθο panel γονιδίων: ABCG5, ABCG8, ABCB6, ADD1, ADD2, AK1, ANK1, APOB, DMTN, EPB41, EPB42, EPB49, KCNN4, MTTP, PIEZO1, RHAG, SLC2A1, SLC4A1, SPTA1, SPTB, STOM, TMOD1, TPM3, XK, GYPC, GPI, KLF1, STAT3. Το πάνελ θα περιλαμβάνει επίσης γονίδια όπως PKLR (διαφορική διάγνωση ή αναζήτηση συνύπαρξης με ανεπάρκεια πυρουβικής κινάσης), CDAN1, C15orf41, COX4I2, GATA1, GATA2, KIF23, LPIN2, SEC23B, TAL1, ALAS2, PARP4, RACGAP1, CAD, VPS4A, MVK (διαφορική διάγνωση από συγγενείς δυσερυθροποιητικές αναιμίες και σύνδρομα). Ο γενετικός έλεγχος θα πραγματοποιηθεί στο εργαστήριο της Πανεπιστημιακής Ογκολογικής Αιματολογικής Μονάδας του Νοσοκομείου Παιδών 'Αγία Σοφία' με τη χρήση της συσκευής MiSeq (Illumina) που υπάρχει στο εργαστήριο. Στην περίπτωση μελών της ίδιας οικογένειας, στα υπόλοιπα μέλη με αντίστοιχη κλινική εικόνα ή παθολογικές εργαστηριακές τιμές, η ύπαρξη της ίδιας μετάλλαξης θα επιβεβαιώνεται με Sanger Sequencing. Όλα τα ανωτέρω θα υποστούν στατιστική επεξεργασία με σκοπό τη διεξαγωγή συμπερασμάτων και τη σύγκριση αυτών με τα δεδομένα από τη διεθνή βιβλιογραφία, η οποία συνεχώς εμπλουτίζεται.

PhD Thesis Title:

Red Blood Cells Membrane Disorders in children and adults: Clinical and Genetic study

PhD Candidate: Vasiliki Chouliara, Medical Doctor

Three-Member Advisory Committee: Antonis Kattamis (Supervisor), Elena Solomou, Chrystallena Sofokleous

Summary:

Red Cells Membrane Disorders are hereditary hemolytic anemias with significant phenotypic and genetic variability. Membranopathies are the result of alterations in the quality or quantity of membrane proteins (both structural proteins and transmembrane transporters/ anion channels) or skeletal proteins leading to disruption of cellular cohesion, stability, plasticity and permeability. The right therapeutic approach (including treatment of the patient, genetic counseling and pregnancy follow up) depends on the accurate and timely diagnosis.

The aim of this thesis is the clinical and genetic study of patients with red blood cells membrane disorders in the Greek population.

The study will include patients who are diagnosed with red blood cell membrane disorder or are currently under evaluation for these conditions. A database will be developed which will include, apart from patients' demographics, description of the diagnosis, family history, clinical features, need for transfusions, surgical history and treatment -current or previous-. Moreover, children's development including the assessment of psychomotor profile will be recorded. Patients will undergo laboratory evaluation at the First Department of Pediatrics (Athens Medical School), which will include among others Hematology, percentage of Reticulocytes, Bilirubin-total and indirect-, Lactate Dehydrogenase, eosin-5-maleimide binding test, erythropoiesis biomarkers, iron status biomarkers. Moreover, abdominal ultrasound will be performed. Finally, genetic testing will be carried out to evaluate possible genotype-phenotype correlation. More specifically, targeted Next Generation Sequencing will be performed with a panel including at least the following genes: ABCG5, ABCG8, ABCB6, ADD1, ADD2, AK1, ANK1, APOB, DMTN, EPB41, EPB42, EPB49, KCNN4, MTPP, PIEZO1, RHAG, SLC2A1, SLC4A1, SPTA1, SPTB, STOM, TMOD1, TPM3, XK, GYPC, GPI, KLF1, STAT3. The panel will also include genes like PKLR (differential diagnosis or coexistence with Puruvate Kinase deficiency), CDAN1, C15orf41, COX4I2, GATA1, GATA2, KIF23, LPIN2, SEC23B, TAL1, ALAS2, PARP4, RACGAP1, CAD, VPS4A, MVK (differential diagnosis from congenital dyserythropoietic anemias and syndromes). Genetic testing will be conducted in the laboratory of Hematology – Oncology Unit of the First Department of Pediatrics (Athens Medical School) of 'Aghia Sophia' Children's Hospital with the device MiSeq (Illumina), which is available in the laboratory. In case of relatives with similar clinical features or abnormal laboratory values, the existence of the same mutation will be confirmed with Sanger Sequencing. All the above data will be analyzed to reach conclusions and compare them with the existing literature, which is constantly enriching.