

ΕΘΝΙΚΟ & ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε. ΚΑΝΑΒΑΚΗΣ

Διδακτορική Διατριβή

Νικόλαος Βογιατζάκης
Βιολόγος

Θέμα: «Εφαρμογή νέων τεχνικών
για την ανίχνευση μοριακών διαταραχών
σε ασθενείς με δυστροφινοπάθειες χωρίς έλλειψη
στο γονίδιο της δυστροφίνης.»

Αθήνα 2013

ΕΘΝΙΚΟ & ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε. ΚΑΝΑΒΑΚΗΣ

Διδακτορική Διατριβή

Νικόλαος Βογιατζάκης
Βιολόγος

Θέμα: «Εφαρμογή νέων τεχνικών για την ανίχνευση
μοριακών διαταραχών σε ασθενείς με δυστροφινοπάθειες
χωρίς έλλειψη στο γονίδιο της δυστροφίνης.»

Αθήνα 2013

ΟΡΚΟΣ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ
ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ
ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ
ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ· ΗΓΗΣΕΘΑΙ
ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗ,
ΕΙΝ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ
ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΘΑΙ, ΚΑΤΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΣ, ΕΣΥΤΟΥ ΑΔΕΛ-
ΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΣΙΝ ΑΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ
ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΟΥΣΙ ΜΑΘΗΣΑΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓ-
ΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΕΛΙΝΕ ΤΕ ΚΑΙ ΑΝΘΡΩΠΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ
ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΘΑΙ ΥΙΟΙΣ ΤΕ ΕΜΟΙΣ
ΚΑΙ ΤΟΙΣ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΗΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜ-
ΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ.
ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΤΟΜΑΙ ΕΠ' ΨΘΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ
ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΕΠΙ ΔΙΑΝΗΣΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ, ΕΙΡΕΕΙΝ.
ΟΥ ΔΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙ-
ΜΟΝ ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ· ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ
ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΡΙΟΝ ΘΘΟΡΙΟΝ ΔΕΩ, ΑΓΝΟΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΞΙΩΣ
ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥΤΕΜΕΩ
ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΑΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΟΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ
ΠΡΗΙΩΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΙΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ
ΕΠ' ΨΘΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙ-
ΗΣ ΚΑΙ ΘΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΔΙΑΝΗΣ ΚΑΙ ΔΟΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ
ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ
ΔΟΥΛΩΝ. Α ΔΕ ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΗΪΔΕ Η ΑΚΟΥΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ
ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑ-
ΛΕΙΣΘΑΙ ΕΣΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙ-
ΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ
ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΜΙ ΣΠΑΥΡΑΘΕΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑ-
ΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ·
ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

ΟΡΚΟΣ

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΚΑΙ ΕΙΣ ΟΛΑΣ ΤΑΣ ΘΕΑΣ, ΕΠΙΚΑΛΟΥΜΕΝΟΣ ΑΥΤΟΥΣ ΩΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ, ΟΤΙ ΘΑ ΤΗΡΗΣ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΡΙΣΙΝ ΜΟΥ ΑΥΤΟΝ ΕΔΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟΝ ΚΑΙ ΑΥΤΗΝ ΕΔΩ ΤΗΝ ΕΓΓΡΑΦΟΝ ΣΥΜΦΩΝΙΑΝ. ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΜΕΝ ΕΚΕΙΝΟΝ, Ο ΟΠΟΙΟΣ ΜΕ ΕΔΙΔΑΣΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΑΥΤΗΝ, ΊΣΟΝ ΠΡΟΣ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΚΑΜΩ ΚΟΙΝΩΝΟΝ ΤΟΥ ΒΙΟΥ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΒΟΗΘΩ, ΟΤΑΝ ΕΥΡΙΣΚΕΤΑΙ ΕΙΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗΝ ΑΝΑΓΚΗΝ, ΚΑΙ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥ ΩΣ ΑΔΕΛΦΟΥΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΣΚΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΑΥΤΗΝ, ΕΑΝ ΘΕΛΟΥΝ ΝΑ ΤΗΝ ΜΑΘΟΥΝ, ΧΩΡΙΣ ΑΜΟΙΒΗΝ ΚΑΙ ΕΓΓΡΑΦΟΝ ΣΥΜΦΩΝΙΑΝ, ΘΑ ΠΑΡΕΧΩ ΔΕ ΣΥΜΒΟΥΛΑΣ, ΕΙΔΙΚΑ ΠΡΟΦΟΡΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΟΛΑΣ ΤΑΣ ΥΠΟΛΟΙΠΟΥΣ ΓΝΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΤΟΥ ΔΙΔΑΚΤΑΛΟΥ ΜΟΥ ΚΑΝΕΙΝ ΤΟΥΣ ΜΑΘΗΤΑΣ, ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΚΑΙ ΕΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙ ΕΙΝΑΙ ΚΑΙ ΕΧΟΥΝ ΔΕΞΕΙ ΟΡΚΟΝ ΣΥΜΦΩΝΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΙΑΤΡΙΚΟΝ ΝΟΜΟΝ, ΕΙΣ ΚΑΝΕΝΑ ΔΕ ΆΛΛΟΝ.

ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩ ΔΕ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΝ ΑΓΩΓΗΝ ΠΡΟΣ ΩΦΕΛΕΙΑΝ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΡΙΣΙΝ ΜΟΥ. ΘΑ ΠΡΟΛΑΜΒΑΝΩ ΔΕ ΒΛΑΒΗΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΔΕΙΚΝΑΙ ΔΕΝ ΘΑ ΔΩΣΩ ΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟΝ ΕΙΣ ΚΑΝΕΝΑ, ΟΥΤΕ ΚΑΙ ΕΑΝ ΜΟΥ ΖΗΤΗΣΗ, ΚΑΙ ΟΥΤΕ ΘΑ ΔΩΣΩ ΤΟΙΑΥΤΗΝ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ, ΩΣ ΑΥΤΩΣ ΟΥΤΕ ΕΙΣ ΕΠΙΥΟΝ ΓΥΝΑΙΚΑ ΘΑ ΔΩΣΩ ΕΚΤΡΩΤΙΚΟΝ ΦΑΡΜΑΚΟΝ, ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΩ ΔΕ ΤΟΝ ΒΙΟΝ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΜΟΥ ΚΑΤΑ ΤΡΟΠΟΝ ΑΓΗΟΝ ΚΑΙ ΣΥΜΦΩΝΟΝ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΘΕΙΟΝ ΝΟΜΟΝ, ΑΚΟΜΗ ΔΕ ΔΕΝ ΘΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΩ ΟΥΤΕ ΚΑΙ ΤΟΥΣ ΠΑΣΧΟΝΤΑΣ ΑΠΟ ΛΙΘΙΑΣΙΝ, ΑΛΛΑ ΘΑ ΤΟΥΣ ΠΑΡΑΓΕΜΠΩΣΤΕΥΑΔΕΥΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΥΣ, ΕΙΔΙΚΟΥΣ ΔΙΑ ΤΟ ΕΡΓΟΝ ΤΟΥΤΟ, ΕΙΣ ΟΣΑ ΔΕ ΟΙΚΙΑΣ ΜΕΤΑΒΑΙΝΩ, ΘΑ ΕΙΣΕΡΧΟΜΑΙ ΠΡΟΣ ΒΟΗΘΕΙΑΝ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ, ΑΠΕΧΩΝ ΠΑΣΗΣ ΕΚΟΥΣΙΑΣ ΑΔΙΚΙΑΣ ΚΑΙ ΑΛΛΗΣ ΔΙΑΦΘΟΡΑΣ ΚΑΙ ΣΑΤΚΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ ΜΕΤΑ ΓΥΝΑΙΚΩΝ Η ΑΝΔΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ.

ΟΣΑ ΔΕ ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑΝ Η ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΝ ΜΟΥ ΜΕΤΑ ΤΩΝ ΆΛΛΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ ΕΙΣ ΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗΝ ΤΟΥΣ ΖΩΗΝ, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΚΑ ΑΝΑΚΟΙΝΩΘΟΥΝ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΆΛΛΟΥΣ, ΘΑ ΚΡΑΤΩ ΜΥΣΤΙΚΑ, ΠΙΣΤΕΥΩΝ ΟΤΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟΡΡΗΤΑ. ΕΦ' ΟΣΟΝ ΜΕΝ ΛΟΙΠΟΝ ΤΗΡΩ ΑΥΤΟΝ ΕΔΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟΝ ΚΑΙ ΔΕΝ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΩ, ΕΙΣΕ ΝΑ ΑΠΟΛΑΥΩ ΚΑΙ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΤΕΧΝΗΣ, ΕΚΤΙΜΩΜΕΝΟΣ ΕΞΑΕΙ ΑΠΟ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ' ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΠΑΡΑΒΩ ΑΥΤΟΝ ΚΑΙ ΓΙΝΩ ΕΠΙΟΡΚΟΣ, ΝΑ ΠΑΘΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΤΟΥΤΩΝ.

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΙΤΗΣΗΣ ΓΙΑ ΕΚΠΟΝΗΣΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: 25.09.2003

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 23.10.2003

ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:

Σοφία Κίτσιου – Τζέλη, Καθηγήτρια Γενετικής, Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών

Εμμανουήλ Καναβάκης, Καθηγητής-Διευθυντής Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών

Αριάδνη Καλπίνη – Μαύρου, Ομότιμη Καθηγήτρια Γενετικής, Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΘΕΜΑΤΟΣ: 23.10.2003

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: 16.01.2013

ΜΕΛΗ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:

Σοφία Κίτσιου – Τζέλη, Καθηγήτρια Γενετικής, Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών

Εμμανουήλ Καναβάκης, Καθηγητής-Διευθυντής Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών

Αριάδνη Καλπίνη - Μαύρου, Ομότιμη Καθηγήτρια Γενετικής, Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών

Γεώργιος Χρούσος, Καθηγητής Παιδιατρικής, Πανεπιστημίου Αθηνών

Μάριος Πάνας, Επίκουρος Καθηγητής Νευρολογίας, Πανεπιστημίου Αθηνών

Κωνσταντίνος Σπέγγος, Αναπληρωτής Καθηγητής Νευρολογίας, Πανεπιστημίου Αθηνών

Πολυξένη Νικολαΐδου, Καθηγήτρια Παιδιατρικής, Πανεπιστημίου Αθηνών

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ ΝΙΚΟΛΑΟΥ ΒΟΓΙΑΤΖΑΚΗ

**ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ
ΣΗΜΕΙΩΜΑ
ΝΙΚΟΛΑΟΥ
ΒΟΓΙΑΤΖΑΚΗ**



ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Όνοματεπώνυμο

Διεύθυνση

Τηλέφωνο

Τηλεομοιοτυπία

Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο

Υπηκοότητα

Ημερομηνία γέννησης

ΒΟΓΙΑΤΖΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

[Γ. Φαραγκουλιτάκη 22, ΤΚ 71409, Ηράκλειο, Κρήτης]

6972208705

Nvogiatz@med.uoa.gr

Ελληνική

[01-10-1980]

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΠΕΙΡΑ

(Μοριακή Βιολογία)

• Ημερομηνίες (από – έως)

• Επωνυμία και διεύθυνση του
εργοδότη

• Είδος της επιχείρησης ή του
κλάδου

• Απασχόληση ή θέση που κατείχατε

• Κύριες δραστηριότητες και
αρμοδιότητες

• Ημερομηνίες (από – έως)

• Επωνυμία και διεύθυνση του
εργοδότη

• Είδος της επιχείρησης ή του
κλάδου

• Απασχόληση ή θέση που κατείχατε

• Κύριες δραστηριότητες και
αρμοδιότητες

• Ημερομηνίες (από – έως)

• Επωνυμία και διεύθυνση του
εργοδότη

1/1/2010 έως σήμερα

Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών,
Νοσοκ. Παίδων «Αγία Σοφία», Θηβών και Λεβαδείας, 11527, Αθήνα

Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής
Διευθυντής : Ε Καναβάκης, Καθηγητής Γενετικής

Υπεύθυνος δημιουργίας, οργάνωσης και διαχείριση του εθνικού μητρώου ασθενών με
Νευρομυϊκά νοσήματα (Hellenic Neuromuscular Disorders Registry)
δημιουργία, οργάνωση και διαχείριση του εθνικού μητρώου ασθενών με Νευρομυϊκά
νοσήματα (HNDR)

10/01/2003 έως 1/1/2010

Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών,
Νοσοκ. Παίδων «Αγία Σοφία», Θηβών και Λεβαδείας, 11527, Αθήνα

Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής
Διευθυντής : Ε Καναβάκης, Καθηγητής Γενετικής

Μοριακός Βιολόγος/Γενετιστής στο τμήμα νευρομυϊκών νοσημάτων
Διάγνωση και προγεννητικός έλεγχος για την μυϊκή δυστροφία Duchenne/Becker και για την
Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία (SMA)

10/01/2003 έως 27/10/2003

Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών,
Νοσοκ. Παίδων «Αγία Σοφία», Θηβών και Λεβαδείας, 11527, Αθήνα

- Είδος της επιχείρησης ή του κλάδου
Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής
Διευθυντής : Ε Καναβάκης, Καθηγητής Γενετικής
- Απασχόληση ή θέση που κατείχατε
 - Κύριες δραστηριότητες και αρμοδιότητες
Διδακτορικός φοιτητής
Εκπόνηση διδακτορικής Διατριβής με τίτλο “Εφαρμογή νέων τεχνικών για την ανίχνευση μοριακών διαταραχών σε ασθενείς με δυστροφινοπάθειες χωρίς έλλειψη στο γονίδιο της δυστροφίνης.”
Διάγνωση και προγεννητικός έλεγχος για την μυϊκή δυστροφία Duchenne/Becker και για την Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία (SMA)
- Ημερομηνίες (από – έως)
• Επωνυμία και διεύθυνση του εργοδότη
• Είδος της επιχείρησης ή του κλάδου
1/6/2002 έως 10/01/2003
Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκ. Παίδων «Αγία Σοφία», Θηβών και Λεβαδείας, 11527, Αθήνα
Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής
Διευθυντής : Ε Καναβάκης, Καθηγητής Γενετικής
- Απασχόληση ή θέση που κατείχατε
 - Κύριες δραστηριότητες και αρμοδιότητες
Εκπαιδευόμενος
Εκπαίδευση σε μοριακές τεχνικές για την διάγνωση και την πρόληψη γενετικών νοσημάτων όπως τα Fragile X, σύνδρομο Prader-Willi/ Angelman, μυϊκή δυστροφία Duchenne/Becker και Spinal Muscular Atrophy
- Ημερομηνίες (από – έως)
• Επωνυμία και διεύθυνση του εργοδότη
• Είδος της επιχείρησης ή του κλάδου
20/06/2002 έως 10/01/2003
Εργαστήριο Κυταρογενετικής, Νοσοκομείο Παίδων «Αγλαΐα Κυριακού»
Υπεύθυνος εργαστηρίου : Α. Γαλλά , Επιμελήτρια Β'
Εργαστήριο Κυταρογενετικής, Β' Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών
- Απασχόληση ή θέση που κατείχατε
 - Κύριες δραστηριότητες και αρμοδιότητες
Εκπαιδευόμενος
Πρακτική εξάσκηση και εκπαίδευση σε τεχνικές κυταρογενετικής και μοριακής βιολογίας
- Ημερομηνίες (από – έως)
• Επωνυμία και διεύθυνση του εργοδότη
• Είδος της επιχείρησης ή του κλάδου
17/10/2001 until 10/6/2002
School of Biological Sciences, University Of East Anglia, Norwich

School of Biological Sciences, University Of East Anglia, Norwich
Norfolk, NR4-7TJ, England
BIO Dep.
- Απασχόληση ή θέση που κατείχατε
 - Κύριες δραστηριότητες και αρμοδιότητες
Προπτυχιακός φοιτητής
Εκπόνηση πτυχιακής εργασίας με τίτλο “Role of IL-3 Matrix Metalloproteinase in CML”

Εκπαίδευση και κατάρτιση

• Ημερομηνίες (από – έως)	27/10/2003 έως σήμερα
• Επωνυμία και είδος του οργανισμού παρείχε την εκπαίδευση ή κατάρτιση	Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκ. Παίδων «Αγία Σοφία», Θηβών και Λεβαδείας, 11527, Αθήνα
• Τίτλος	Διδακτορική διατριβή με τίτλο «Εφαρμογή νέων τεχνικών για την ανίχνευση μοριακών διαταραχών σε ασθενείς με δυστροφινοπάθειες χωρίς έλλειψη στο γονίδιο της δυστροφίνης.»
• Επίπεδο κατάρτισης με βάση την εθνική ταξινόμηση	Ανώτατη
• Ημερομηνίες (από – έως) • Επωνυμία και είδος του οργανισμού παρείχε την εκπαίδευση ή κατάρτιση	10/09/1998 έως 7/2002 University of East Anglia, Norwich, England

• Κύρια θέματα/επαγγελματικές δεξιότητες • Τίτλος • Επίπεδο κατάρτισης με βάση την εθνική ταξινόμηση	Bsc in Molecular Biology and Genetics Ανώτερη εκπαίδευση
• Ημερομηνίες (από – έως)	09/1995 έως 7/1998
• Επωνυμία και είδος του οργανισμού παρείχε την εκπαίδευση ή κατάρτιση	5 ^ο ΓΕΛ Ηρακλείου Κρήτης
• Κύρια θέματα/επαγγελματικές δεξιότητες	
• Τίτλος	Απολυτήριο Λυκείου
• Επίπεδο κατάρτισης με βάση την εθνική ταξινόμηση	Βασική εκπαίδευση

Δημοσιεύσεις

Τίτλος

Screening human genes for small alterations performing an enzymatic cleavage mismatched analysis (ECMA) protocol.

[Vogiatzakis N](#), [Kekou K](#), [Sophocleous C](#), [Kitsiou S](#), [Mavrou A](#), [Bakoula C](#), [Kanavakis E](#).

Περιοδικό

[Mol Biotechnol](#). 2007 Nov;37(3):212-9. Epub 2007 Aug 3

Τίτλος

SURVEYOR on the spot: strengths and weaknesses in molecular diagnostics.

[Vogiatzakis N](#), [Kekou K](#), [Sophocleous C](#), [Kitsiou S](#), [Mavrou A](#), [Bakoula C](#), [Kanavakis E](#).

Περιοδικό

[J Mol Diagn](#). 2010 Mar;12(2):265; author reply 265-6. doi: 10.2353/jmoldx.2010.090193.

Ανακοινώσεις

Development of the Hellenic Neuromuscular Disorders (HNDR) Registry

The European Human Genetics Conference 2012

Nürnberg, Germany, June 23 - 26, 2012

Development of a custom designed aCGH chip (Neuromuscular Chip) for investigation of Neuromuscular Disorders

The European Human Genetics Conference 2012

Nürnberg, Germany, June 23 - 26, 2012

Distribution of mutations in the *DMD* gene in Greek patients with dystrophinopathies

The Golden Helix Symposium "Genetic Analysis in Translational Medicine"

DETECTION OF A HOMOZYGOUS DELETION OF EXON 8 OF SMN1 GENE DURING PRENATAL DIAGNOSIS

20th international congress of Genetics, "Understanding living systems", Berlin 20072

A ten years experience in molecular diagnosis of DMD/BMD patients in Greece

Screening human genes for small alterations performing an enzymatic cleavage mismatched analysis (ECMA) protocol

European Human Genetics Conference 2007 European Society Of Human Genetics, ESHG
Nice, France

Molecular investigation of Angelman syndrome in Greece. Preliminary results from mutation screening of UBE3A gene

3rd international congress on brain and behavior 28/11/07—2/12/07 Thessaloniki, Greece
Διάκριση – 1ο βραβείο.

Συμμετοχή σε βιβλία

**ΑΤΟΜΙΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ
ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ**

ΜΗΤΡΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

ΆΛΛΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

- Ικανότητα ανάγνωσης
 - Ικανότητα γραφής
 - Ικανότητα ομιλίας
- Ικανότητα ανάγνωσης
 - Ικανότητα γραφής
 - Ικανότητα ομιλίας

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΑΓΓΛΙΚΑ

εξαιρετικό
εξαιρετικό
εξαιρετικό

ΙΤΑΛΙΚΑ

Καλό
Βασικό
Καλό

Περιεχόμενα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	12
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	14
ABSTRACT	16
I ΕΙΣΑΓΩΓΗ	18
1.1 Το νόσημα.....	19
1.1.1 Δυστροφινοπάθειες.....	19
1.1.2 Διαφορική διάγνωση	19
1.1.3 Ο φαινότυπος της μυϊκής δυστροφίας τύπου Duchenne (DMD).....	19
1.1.4 Ο φαινότυπος της μυϊκής δυστροφίας τύπου Becker (BMD)	22
1.1.5 ο φαινότυπος των ήπιων μορφών δυστροφινοπάθειας	23
1.1.6 Ο φαινότυπος της διατακτικής μυοκαρδιοπάθειας οφειλόμενης σε διαταραχές της δυστροφίνης.....	23
1.2 Το γονίδιο της δυστροφίνης	24
1.3 Η πρωτεΐνη	31
1.3.1 Η δυστροφίνη και το σύμπλεγμα πρωτεϊνών που συνδέεται με αυτήν (Dystrophin Associated Complex – DAC)	32
1.3.2 Οι ισομορφές της δυστροφίνης και οι ομόλογες με αυτήν πρωτεΐνες.	38
1.4 Μεταλλάξεις στο γονίδιο της δυστροφίνης.....	44
1.5 Επαναφερόμενες μυϊκές ίνες	49
1.6 Διαγνωστικός αλγόριθμος των δυστροφινοπαθειών.....	50
1.6.1 Εργαστηριακός έλεγχος	50
1.7. Αντιμετώπιση Δυστροφινοπαθειών.....	54
1.7.1 Παρακολούθηση	54
1.7.2 Φαρμακευτική αγωγή ασθενών με DMD	54
1.7.3 Πρόληψη δευτερογενών επιπλοκών	55
1.7.4 Διατακτική μυοκαρδιοπάθεια	55
1.7.5 Πειραματικές θεραπευτικές προσεγγίσεις	55
II ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	58
2. Σκοπός της μελέτης	59
III ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	61
3.1 Ασθενείς της μελέτης	62

3.2 ΜΕΘΟΔΟΙ	62
3.2.1 Απομόνωση DNA.....	63
3.2.2 Παρασκευή πηκτωμάτων	66
3.2.3 Τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR: Polymerase Chain Reaction).....	67

3.3 Πρωτόκολλο Μοριακής Διάγνωσης για την Μυϊκή Δυστροφία Duchenne/Becker	71
3.3.1 Ανίχνευση ελλείψεων στο γονίδιο της δυστροφίνης	71
3.3.2 Ανίχνευση Σημειακών μεταλλάξεων στο γονίδιο της δυστροφίνης.	74
3.3.3 Ανίχνευση Διπλασιασμών	94

IV ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ..... 104

4.1 ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΩΝ ΕΥΡΗΜΑΤΩΝ	106
4.1.1 Μοριακά Ευρήματα	106
4.1.2 μελέτη της επίπτωσης της μετάλλαξης c.5068_5070 del (εξόνιο 36) στην πρωτεΐνη και στον φαινότυπο ασθενών	109
4.2.3 Μελέτη ορίων των ελλείψεων που παρατηρούνται σε ασθενείς με μυϊκή δυστροφία Duchenne/Becker στον Ελληνικό πληθυσμό.	110

V ΣΥΖΗΤΗΣΗ..... 119

5.1 Αξιολόγηση της τεχνικής ECMA. 120

5.2 Αξιολόγηση της τεχνικής MLPA..... 122

5.3 Κατανομή των μεταλλάξεων κατά μήκος του γονιδίου .. 123

5.3.1 Ελλείψεις	123
5.3.2 Διπλασιασμοί.....	123
5.3.3 Σημειακές μεταλλάξεις.....	124
5.4 Ανίχνευση μεταλλάξεων σε ασυμπτωματικά κορίτσια με αυξημένα CPK	124
5.5.1 Σχολιασμός για τους πολυμορφισμούς	125
5.5.2 Η μετάλλαξη στο εξόνιο 36.....	125
5.5.3 Μυϊκή δυστροφία και νοητική υστέρηση.....	126

5.6 Καταγραφή ασθενών στο Ελληνικό πληθυσμό (Hellenic NeuroMuscular Disorders Registry - HNMDR) 127

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ..... 129

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο όρος δυστροφινοπάθειες χρησιμοποιήθηκε την τελευταία εικοσαετία και περιλαμβάνει νοσήματα τα οποία οφείλονται σε μοριακή διαταραχή του γονιδίου της δυστροφίνης με συχνότερη και σοβαρότερη την μυική δυστροφία Duchenne (DMD).

Ο σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η ανάπτυξη και η εφαρμογή νέων τεχνικών για την ανίχνευση σημειακών μεταλλάξεων και διπλασιασμών σε ασθενείς με μυική δυστροφία Duchenne/Becker που δεν έφεραν έλλειψη στο γονίδιο της δυστροφίνης με απώτατο στόχο την βελτιστοποίηση της διάγνωσης και της πρόληψης του νοσήματος, αλλά και την βαθύτερη κατανόηση του.

Η εκπόνηση της παρούσας διατριβής πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, στο Χωρέμιο Ερευνητικό Εργαστήριο, στο Νοσοκομείο Παίδων Αγία Σοφία.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον Καθηγητή Γενετικής και Διευθυντή του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής κ. Εμμανουήλ Καναβάκη για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργασθώ στο Εργαστήριο και να παρακολουθήσω εκπαιδευτικά προγράμματα στο Πανεπιστήμιο του Leiden (Εργαστήριο της Ιατρικής σχολής – LUMC) στην Ολλανδία καθώς και για την εποικοδομητική του συμβολή καθόλη την διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας διατριβής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως την Καθηγήτρια Γενετικής κ. Σοφία Κίτσιου-Τζέλη που είχε την επίβλεψη της διατριβής και συνέβαλε σημαντικά στην καθοδήγηση, ολοκλήρωση και συγγραφή της παρούσας εργασίας. Θερμές ευχαριστίες οφείλω στην Ομότιμη Καθηγήτρια Γενετικής κ. Καλπίνη-Μαύρου για τη συνεχή της υποστήριξη στην διεκπαιρέωση της παρούσας μελέτης

Οφείλω επίσης να ευχαριστήσω την Ομότιμη Καθηγήτρια κ. Αικατερίνη Μεταξωτού, διευθύντρια τότε του Εργαστηρίου, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και με δέχθηκε αρχικά ως εκπαιδευόμενο και στη συνέχεια ως υποψήφιο διδάκτορα.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρα κ. Κέκου Κυριακή για την καθοδήγηση και την υπομονή της, καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές για την ολοκλήρωση αυτής της εργασίας.

Πολλές ευχαριστίες για την πρακτική βοήθεια και ηθική συμπαράσταση τους, οφείλω στους βιολόγους, χημικούς και ιατρούς φίλους μου και στελέχη του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής: Χρισταλένα Σοφοκλέους, Χριστίνα Χριστοφίδου, Αγγελική Γαλάνη, Ευμορφία Τζαγκαράκη, Γεράσιμο Δημισιάνο, Ασπασία Δεστούνη, Μυρτώ Πούλου, Ειρήνη Φυλακτού, Άκη Μεγρέμη, Χριστίνα Βρεπτού, Βασίλη Οικονομάκη, Μαρία Σβίγγου, Ελβίνα Σακελαρίου, Έλσα Κουβίδη, Νικολέτα Σελέντη, Γεωργία Τούντα, Γεωργία Κάκουρου, Αμαλία Σερτεδάκη, Αγγελική Κολιαλέξη και Δημήτρη Πετυχάκη.

Ευχαριστώ τις Αναπλ. Καθηγήτριες κυρίες Φρυσίρα Έλενα και Jan Traeger-Synodinos και την Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Μαρία Τζέτη για τις εποικοδομητικές συζητήσεις καθ' όλη την παραμονή μου στο εργαστήριο.

Για την βοήθεια που μου προσέφεραν, ευχαριστώ επίσης τις βιολόγους του τμήματος προγεννητικού ελέγχου κυρίες Τούλα Παναγιωτοπούλου και Ελισάβετ Δαφέρμου καθώς και την επίκουρη επιμελήτρια κα Κωνσταντίνα Κοσμά με την οποία μοιράζομαι το ίδιο γνωστικό αντικείμενο των νευρομυικών νοσημάτων τον τελευταίο χρόνο.

Πολύτιμη ήταν και η βοήθεια των παρασκευαστών του εργαστηρίου Σοφίας Βρέττα, Σταυρούλας Παπαδοπούλου, Κωνσταντίνας Πούλιου, Ανθής Κοσμά, Σουζάνας Γεωργούλα, Γιώτας Παυλοπουλου, Έφης Δανιήλ, Ιωάννας Χριστοδουλάτου και Σπύρου Ανδριώτη καθώς και των γραμματέων του εργαστηρίου Δέσποινας Μπέλλου και Δήμητρας Παλαιοπάνου. Επίσης ευχαριστώ τον Μιχάλη Μόσχο για την επιμέλεια του εξωφύλλου .

Στου γονείς μου οφείλω τα μέγιστα για την αμέριστη συμπαράσταση, οικονομική και ηθική, και την απεριόριστη αγάπη τους όλα αυτά τα χρόνια, καθώς και στην σύζυγό μου Μαρία. Χωρίς τη βοήθεια τους δε θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση αυτής της δουλειάς.

Περίληψη

Εισαγωγή

Η ανίχνευση μεταλλάξεων στο γονίδιο της δυστροφίνης έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα απαιτητική κυρίως λόγω του μεγάλου μεγέθους του γονιδίου (79 εξόνια, 2,4Mb). Παρόλο που έχουν αναφερθεί στην βιβλιογραφία «θερμές περιοχές» («Hot Spot») όπου συσσωρεύονται ελλείψεις και διπλασιασμοί εξονίων, δεν έχει αναφερθεί ένα ανάλογο σημείο συσσώρευσης σημειακών μεταλλάξεων οι οποίες απαντώνται διάσπαρτες καθ'όλο το μήκος του γονιδίου.

Μεθοδολογία

Στην μελέτη αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ελέγχου 645 ασθενών (608 άρρενα άτομα και 37 θήλεα) που παραπέμφθηκαν στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών τις δυο τελευταίες δεκαετίες για έλεγχο για δυστροφινοπάθειες. Οι ελλείψεις και οι διπλασιασμοί εντοπίστηκαν χρησιμοποιώντας το κλασικό πολλαπλό PCR 18 εξονίων αλλά και την τεχνική πολλαπλής ενίσχυσης υβριδοποιημένων ανιχνευτών με το ένζυμο της λιγάσης (Multiplex Ligation – dependant Probe Amplification, MLPA). Οι σημειακές μεταλλάξεις ανιχνεύθηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο σάρωσης ECMA (Enzymatic Cleavage Mismatch Analysis protocol, Vogiatzakis et al, 2007; 2010) η οποία τιτλοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, αρχικά για τις ανάγκες της παρούσας μελέτης. Οι σημειακές μεταλλάξεις επιβεβαιώθηκαν με ανάλυση της πρωτοταγούς δομής του DNA (Direct DNA sequencing). Τα όρια των μεταλλάξεων (όπου δεν ήταν προφανή) μελετήθηκαν περαιτέρω με πολλαπλό PCR ή MLPA. Για την σύγκριση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η τράπεζα μεταλλάξεων για το γονίδιο DMD του πανεπιστημίου του Leiden, Ολλανδία (www.dmd.nl).

Αποτελέσματα

Η παρούσα μελέτη αποκάλυψε συνολικά 309 μεταλλάξεις και ειδικότερα, 254 ελλείψεις εξονίων, 24 διπλασιασμούς και 31 σημειακές μεταλλάξεις. Επίσης

ταυτοποιήθηκαν αρκετοί πολυμορφισμοί του γονιδίου της δυστροφίνης από τους οποίους 6 χρήζουν περαιτέρω μελέτης λόγω της αμφίβολης παθογένειας τους. Παρόλο που η πλειοψηφία των μεταλλάξεων που βρέθηκαν εντοπίζονται στα γνωστά «θερμά σημεία» του γονιδίου παρατηρήθηκαν διαφορές στα όρια των μεταλλάξεων σε σχέση με τα αναφερόμενα στην διεθνή βιβλιογραφία.

Συμπεράσματα

1. Παρατηρήθηκε μη τυχαία κατανομή μεγάλου αριθμού ελλείψεων στο κεντρομερικό «θερμό σημείο» (εξόνια 45-55) καθώς επίσης και μεγάλου αριθμού διπλασιασμών στο αμινοτελικό «θερμό σημείο» (εξόνια 2-8). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με την διεθνή βιβλιογραφία, (Tuffery-Giraud S et al, 2009, Aartsma-Rus A et al, 2006). Ανάμεσα στις 31 σημειακές μεταλλάξεις που εντοπίστηκαν, παρατηρήθηκε συσσώρευση μεταλλάξεων στα εξόνια 21 και 66, με τρεις διαφορετικές μεταλλάξεις στο κάθε ένα.
2. Κατά την διάρκεια της μελέτης αποκαλύφθηκαν 31 σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου της δυστροφίνης σε ασθενείς με μυϊκή δυστροφία Duchenne Becker. Συγκεκριμένα, 37% των μεταλλάξεων ήταν μεταλλάξεις αλλαγής πλαισίου ανάγνωσης, 17% ήταν μεταλλάξεις σε σημεία ματίσματος και 46% μεταλλάξεις που προκαλούν πρόωρο κωδικόνιο λήξης. Τα αποτελέσματα της μελέτης συμφωνούν και με την διεθνή βιβλιογραφία παρόλο που ο αριθμός των ασθενών δεν ήταν ικανός για να διευκρινιστεί το ποσοστό των σημειακών μεταλλάξεων σε ασθενείς με Duchenne, και Becker ξεχωριστά.
3. Απαιτείται η μελέτη των μεταλλάξεων στο γονίδιο της δυστροφίνης ακόμα και στις περιπτώσεις ασθενών που εμφανίζουν απλά υποκλινικά συμπτώματα (όπως αυξημένα CPK) καθώς και σε περιπτώσεις φορέων της νόσου.
4. Η δυσκολία μοριακής επιβεβαίωσης πολλών νευρομυικών παθήσεων οδηγεί στην παραπομπή για έλεγχο του γονιδίου DMD περιστατικών όπου η δυστροφινοπάθεια αποτελεί διαφορική διάγνωση. Ως εκ τούτου πολλοί ασθενείς παραπέμπονται χωρίς να έχουν την τυπική κλινική εικόνα δυστροφινοπάθειας (αρκετές παραπομπές έχουν γίνει με μοναδικό εύρημα αυξημένα CPK στο αίμα) γεγονός που ερμηνεύει το μειωμένο ποσοστό διάγνωσης στην παρούσα μελέτη.

Abstract

Introduction

Mutation detection in the DMD gene has historically been challenging, due mainly to the large size of the gene and the fact that over 90% of the point mutations are unique. Although hot spots have been reported for exon deletions and duplications no such spot has been identified for point mutations which are scattered across the whole gene.

Materials and Methods

In our study we present a general overview of the molecular analysis findings in 645 patients (608 male and 37 female) referred to our department during the past 2 decades for *DMD* gene testing. Exon deletions and duplications were identified using either the standard 18 exon multiplex PCR (mPCR) or the MLPA method while Enzymatic Cleavage Mismatch Analysis protocol (Vogiatzakis *et al*, 2007; 2010) followed by direct DNA sequencing was performed for the detection of point mutations.

The deletion boundaries, where not apparent, were further investigated with either mPCR or MLPA.

Results

The study revealed 309 alterations comprising 254 exon deletions, 24 exon duplications and 31 point mutations. Several polymorphisms were also identified on the DMD gene, of which 6 single nucleotide alterations remain still under investigation regarding their possible pathogenic character. Although the majority of the mutations were detected along the DMD gene hotspot regions (as mentioned in literature), minor discrepancies were noted concerning the boundaries of the exons' deletions.

Conclusions

1. A non-random distribution concerning a high incidence of deletions in the distal hot spot (exons 45-55) and duplications in exons 2-8 was noticed and is consistent with the results reported for previous large cohorts (Tuffery-Giraud S *et al*, 2009, Aartsma-Rus A *et al*, 2006). Among the 31 point mutations disclosed, a rather high detection rate was noted in exons 21 and 66 having 3 different mutations each.

2. This study revealed 31 point mutations on the DMD gene. Specifically, 37% frameshift mutation 17% splice site mutation and 46% stop codon mutation. All the results are in accordance to the international literature.

3. Mutations in the DMD gene should be studied even in individuals with chronic subclinical CK elevations such as DMD carriers

4. It should be noted that 251 of the patients (males and females) were referred solely due to minor BMD-like phenotypic symptoms such as hyperCKemia thus explaining the reduced (47%) detection rate among referrals.