

**Γεφυρώνοντας μεγάλα ομικά, γενετικά και ιατρικά
δεδομένα για την ευρεία εφαρμογή της Ιατρικής
Ακριβείας στην Ελλάδα**

ΠΑΡΑΔΟΤΕΟ Π1.3

«Διερευνητική Ανάλυση των Δεδομένων»

Φορέας	Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Τύπος Παραδοτέου	Έκθεση
Ημερομηνία Υποβολής Παραδοτέου	31 Δεκεμβρίου 2025
Ενότητα Εργασίας	Ενότητα Εργασίας 1 «Δημιουργία Οικοσυστήματος Μητρώων Νοσημάτων»

1	Εισαγωγή	4
2	Συνολική περιγραφή και σύσταση του δείγματος	5
2.1	Επισκόπηση των εξεταζόμενων γονιδίων	7
3	Ανάλυση των παραλλαγών BRCA1	9
3.1	Συνολικός αριθμός φορέων και μοναδικών παραλλαγών	9
3.2	Κατανομή νόσων και φαινοτυπικών ομάδων	9
3.3	Ανάλυση παραλλαγών στο γονίδιο BRCA2	9
3.4	Συγκριτική λειτουργική ανάλυση των παραλλαγών BRCA1 και BRCA2	9
3.5	Ανάλυση παραλλαγών BRCA1 και BRCA2 σε πρωτεϊνικό επίπεδο	10
3.6	Μεταγραφική Κατανομή και Φαινοτυπικός Αντίκτυπος των Παραλλαγών BRCA1	16
3.7	Μεταγραφική Κατανομή και Φαινοτυπικός Αντίκτυπος των Παραλλαγών BRCA2	17
3.8	Ανάλυση παραλλαγών BRCA1 σε πρωτεϊνικό επίπεδο	18
3.9	Ανάλυση παθογονικών παραλλαγών BRCA1	20
4	Συμπεράσματα	21

<i>Εικόνα 1: συχνότητα εμφάνισης νεοπλασιών ή συνδυασμών αυτών.</i>	<i>5</i>
<i>Εικόνα 2: κατανομή του αριθμού παραλλαγών ανά άτομο (1–20) για τις πέντε πιο συχνές νόσους και η διαφορά στο γενετικό φορτίο μεταξύ πασχόντων και υγιών.</i>	<i>6</i>
<i>Εικόνα 3: συχνότητα και λειτουργική ερμηνεία των παραλλαγών στα γονίδια BRCA1 και BRCA2 σε επίπεδο πρωτεΐνης και νόσου.....</i>	<i>Error! Bookmark not defined.</i>
<i>Εικόνα 4:Κατανομή Top-20 Παραλλαγών BRCA1 ανά Νεοπλασία.....</i>	<i>15</i>
<i>Εικόνα 5:Κατανομή Top-20 Παραλλαγών BRCA2 ανά Νεοπλασία.....</i>	<i>15</i>
<i>Εικόνα 6: Καταγραφή μεταγραφών και νόσων ανά παραλλαγή BRCA1 ...</i>	<i>Error! Bookmark not defined.</i>
<i>Εικόνα 7: Κατανομή Παραλλαγών BRCA1 ανά θέση, Τύπο και Κατάσταση.....</i>	<i>19</i>
<i>Εικόνα 8: Συνολικός αριθμός BRCA1 ανά τύπο και Κατάσταση</i>	<i>20</i>

1 Εισαγωγή

Στα πλαίσια του Έργου «Γεφυρώνοντας μεγάλα ομικά, γενετικά και ιατρικά δεδομένα για την ευρεία εφαρμογή της Ιατρικής Ακριβείας στην Ελλάδα», και πιο συγκεκριμένα της Ενότητας Εργασίας «*EEI: Δημιουργία Οικοσυστήματος Μητρώων Νοσημάτων*» σχεδιάσαμε και εφαρμόσαμε μεθόδους στατιστικής ανάλυσης, μείωσης διάστασης και οπτικοποίησης των δεδομένων για πρωτόλεια ανάλυσή τους.

Η παρούσα μελέτη βασίστηκε σε διερευνητική ανάλυση δεδομένων (exploratory data analysis) 7.459 εξεταζόμενων ατόμων που περιλαμβάνονται στο Canvas dataset¹. Αρχικά πραγματοποιήθηκε περιγραφική αποτύπωση του συνολικού δείγματος και της κατανομής των εξεταζόμενων γονιδίων, με στόχο τον εντοπισμό εκείνων που εμφανίζουν τη μεγαλύτερη συχνότητα παραλλαγών και το υψηλότερο φαινοτυπικό ενδιαφέρον. Με βάση τα ευρήματα του αρχικού ελέγχου, η ανάλυση εστιάστηκε στους φορείς παραλλαγών (variant carriers) των γονιδίων BRCA1 και BRCA2, τα οποία αποτελούν κρίσιμους δείκτες γενετικής προδιάθεσης για καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών.

Οι υπολογισμοί και οι κατανομές που παρουσιάζονται στις επιμέρους ενότητες αφορούν αποκλειστικά τα άτομα που φέρουν τουλάχιστον μία παραλλαγή στα εν λόγω γονίδια, ανεξάρτητα από τον φαινότυπο ή την ύπαρξη εκδηλωμένης νόσου. Η επιλογή αυτής της προσέγγισης επιτρέπει τη διερεύνηση των λειτουργικών και φαινοτυπικών διαφοροποιήσεων σε βιολογικά ουσιαστικό επίπεδο, παρέχοντας ακριβέστερη αποτύπωση των μοριακών διαφορών μεταξύ των δύο γονιδίων.

Σε επόμενο στάδιο, η ανάλυση επικεντρώνεται στη χαρτογράφηση της κατανομής, της παθογονικότητας και των δομικών χαρακτηριστικών των παραλλαγών του BRCA1 και BRCA2, αναδεικνύοντας τη σχέση τους με τα αντίστοιχα φαινοτυπικά πρότυπα. Η παρούσα μελέτη διαφοροποιείται από τις κλασικές προσεγγίσεις σε επίπεδο γονιδίου, καθώς εξετάζει την κατανομή και τη λειτουργική διαφοροποίηση των παραλλαγών σε μεταγραφικό επίπεδο (isoform-level).

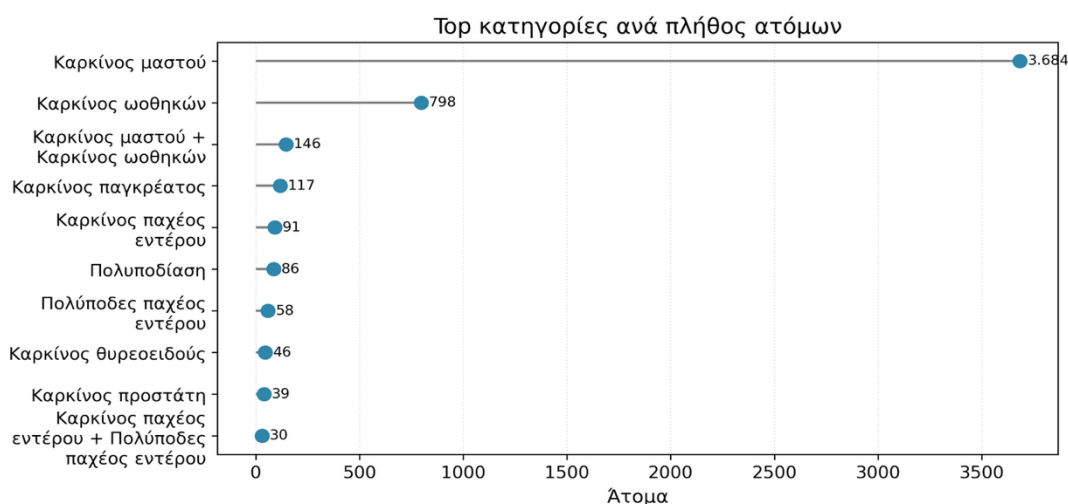
¹ Kalfakakou D, Fostira F, Papathanasiou A, Apostolou P, Dellatola V, Gavra IE, Vlachos IS, Scouras ZG, Drosopoulou E, Yannoukakos D, Konstantopoulou I. CanVaS: Documenting the genetic variation spectrum of Greek cancer patients. Hum Mutat. 2021 Sep;42(9):1081-1093. doi: 10.1002/humu.24249. Epub 2021 Jul 6. PMID: 34174131.

2 Συνολική περιγραφή και σύσταση του δείγματος

Η διερευνητική αποτύπωση του συνόλου δεδομένων με έμφαση στη σύνθεση του δείγματος και στο τοπίο των παραλλαγών και γονιδίων έδειξε ότι στο δείγμα των 7.459 ατόμων, 1.375 άτομα καταγράφηκαν ως μη-ασθενείς, 262 ως μη διαθέσιμες περιπτώσεις (χωρίς καταγεγραμμένη νόσο) και 5.822 με κάποια νεοπλασία. Οι αριθμοί που αναφέρονται σε κάθε κατηγορία νόσου αφορούν διακριτές ή συνδυασμένες διαγνώσεις έτσι, το άθροισμα των επιμέρους περιπτώσεων μπορεί να υπερβαίνει το συνολικό πλήθος ασθενών (5.822), καθώς ένα άτομο μπορεί να έχει περισσότερες από μία νεοπλασίες.

Ο καρκίνος μαστού αποτέλεσε την κυρίαρχη κατηγορία με 3.684 περιπτώσεις (63,3% των ασθενών), ακολουθούμενος από τον καρκίνο ωθηκών (798 περιπτώσεις), ενώ καταγράφηκαν επίσης συνδυαστικές διαγνώσεις (π.χ. μαστού και ωθηκών σε 146 άτομα), ο καρκίνος παγκρέατος (117 άτομα), ο καρκίνος του παχέος εντέρου (91), η πολυποδίαση (86), ο καρκίνος του θυρεοειδούς (46) και ο καρκίνος του προστάτη (39), Εικόνα 1.

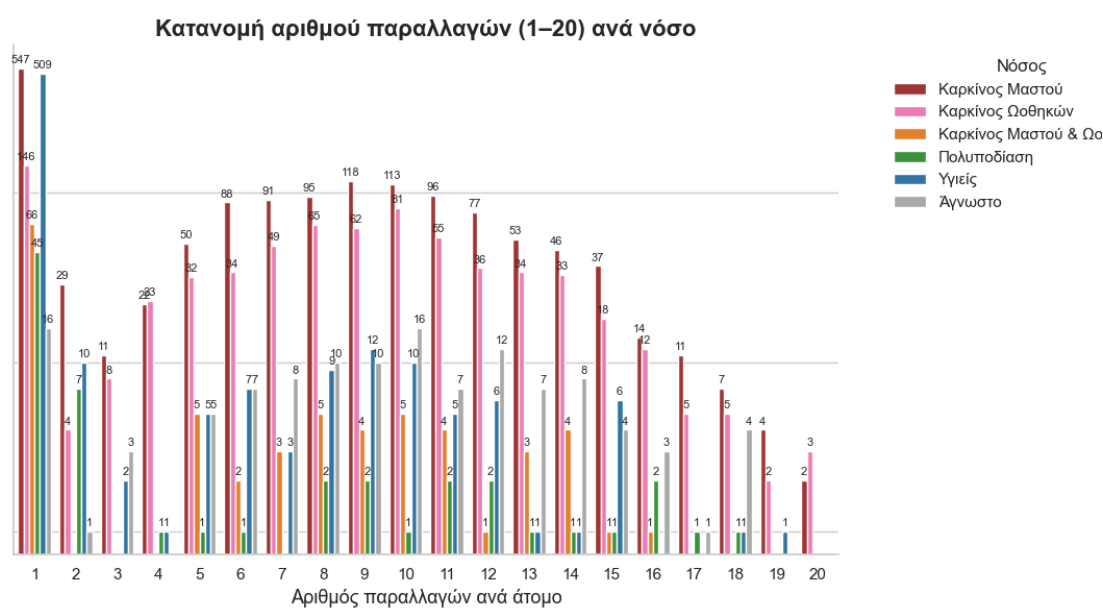
Συνολικά, στο δείγμα εντοπίστηκαν 285 μοναδικές κατηγορίες νεοπλασιών ή συνδυασμών αυτών, με τις περισσότερες όμως να αφορούν σπάνιες περιπτώσεις με πολύ μικρή συχνότητα εμφάνισης.



Εικόνα 1: συχνότητα εμφάνισης νεοπλασιών ή συνδυασμών αυτών.

Ο προληπτικός έλεγχος καταγράφηκε σε 4.208 από τα 7.459 άτομα. Μεταξύ αυτών, περιλαμβάνονται 1.272 μη ασθενείς, 2.786 ασθενείς και 150 άτομα με μη διαθέσιμη κατηγοριοποίηση. Από το σύνολο των 7.459 ατόμων, τα 3.952 παρουσίασαν τουλάχιστον μία παραλλαγή. Η κατανομή των παραλλαγών ανά άτομο διαφοροποιείται σημαντικά μεταξύ των

νόσων. Τα περισσότερα άτομα με καρκίνο μαστού και καρκίνο ωοθηκών εμφάνισαν πολλαπλές παραλλαγές (συνχά 10 ή περισσότερες), γεγονός που αντικατοπτρίζει τη γνωστή συσχέτιση των γονιδίων BRCA1/2 με αυτούς τους τύπους καρκίνου. Στους υγιείς, ο αριθμός παραλλαγών ανά άτομο είναι μικρός (1-2), ωστόσο παραλλαγές εντοπίζονται και στα BRCA1/2, καθώς και σε CHEK2, PALB2, ATM, που συνδέονται με κληρονομική προδιάθεση. Στην πολυποδίαση, οι περισσότερες παραλλαγές αφορούν το γονίδιο APC, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρούνται και σε MLH1, MSH2, ή TP53. Συνολικά, τα δεδομένα υπογραμμίζουν ότι η κατανομή των παραλλαγών διαφοροποιείται ανάλογα με τη νόσο, με τις BRCA1/2 να κυριαρχούν στους καρκίνους μαστού και ωοθηκών.



Εικόνα 2: κατανομή του αριθμού παραλλαγών ανά άτομο (1–20) για τις πέντε πιο συχνές νόσους και τη διαφορά στο γενετικό φορτίο μεταξύ πασχόντων και υγιών.

Στην Εικόνα 2 παρουσιάζεται ένα γράφημα με την κατανομή του αριθμού παραλλαγών ανά άτομο (1–20) για τις πέντε πιο συχνές νόσους και δείχνει τη διαφορά στο γενετικό φορτίο μεταξύ πασχόντων και υγιών. Παρατηρείται ότι τα περισσότερα άτομα με καρκίνο μαστού φέρουν πολλαπλές παραλλαγές, με τη συχνότητα να κορυφώνεται γύρω στις 8–12 ανά άτομο, ενώ ορισμένα φτάνουν έως και τις 20. Παρόμοια κατανομή εμφανίζεται και στον καρκίνο ωοθηκών, γεγονός που αντανάκλα τη στενή βιολογική σχέση των γονιδίων BRCA1 και BRCA2 με τις δύο αυτές νόσους. Οι υγιείς συγκεντρώνονται κυρίως στις χαμηλές τιμές (1–2 παραλλαγές), υποδηλώνοντας χαμηλό γενετικό φορτίο χωρίς παθολογική σημασία. Η κατηγορία καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών παρουσιάζει επίσης αυξημένο αριθμό παραλλαγών, ενισχύοντας την κοινή γενετική βάση των δύο τύπων καρκίνου. Αντίθετα, στην πολυποδίαση οι παραλλαγές είναι λιγότερες (3–8 ανά άτομο) και επικεντρώνονται κυρίως στο

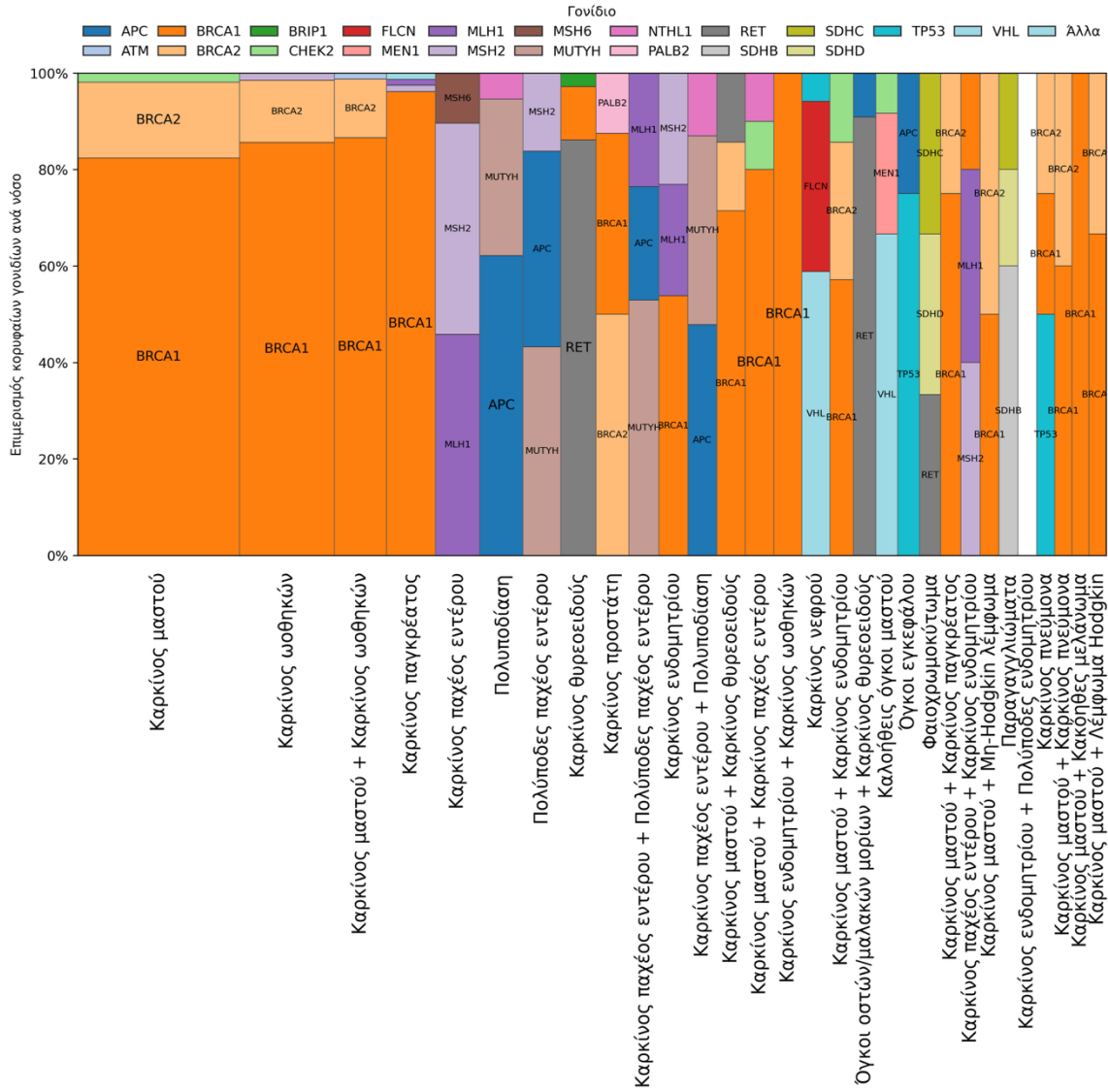
γονίδιο APC, που σχετίζεται με την ανάπτυξη πολυπόδων. Η κατηγορία χωρίς καταγεγραμμένη νόσο (“-”) εμφανίζει μεγαλύτερη διασπορά τιμών, πιθανόν λόγω ελλιπών ή μη διαθέσιμων κλινικών δεδομένων. Συνολικά, το γράφημα αναδεικνύει ότι τα άτομα με καρκίνους του μαστού και των ωοθηκών παρουσιάζουν το υψηλότερο πλήθος παραλλαγών, κυρίως στα BRCA1/2, ενώ οι υγιείς φέρουν ελάχιστες, πιθανώς καλοήθεις ή χαμηλής διεισδυτικότητας παραλλαγές.

Παρατηρείται ότι τα περισσότερα άτομα με καρκίνο μαστού υποβλήθηκαν σε έλεγχο για BRCA1 και BRCA2, ενώ σημαντικός αριθμός παραλλαγών καταγράφηκε σε αυτά τα γονίδια, όπως περιγράφηκε προηγουμένως, γεγονός που αντικατοπτρίζει τη γνωστή συσχέτιση των BRCA με τον καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών. Στους υγιείς, ο γενετικός έλεγχος (screening) αφορά επίσης κυρίως τα γονίδια BRCA1/2, με καταγραφή παραλλαγών. Για τις κατηγορίες όπως ο καρκίνος του παχέος εντέρου και η πολυποδίαση, το γονίδιο APC εμφανίζεται με υψηλή συχνότητα παραλλαγών. Επίσης, σε άλλες κατηγορίες (π.χ. PNCA2, TRC) ο έλεγχος είναι πιο περιορισμένος, ενώ καταγράφονται παραλλαγές σε γονίδια όπως CHEK2, PALB2, RET, MLH1, MSH2, TP53, ATM, που σχετίζονται με διαφορετικά κληρονομικά καρκινικά σύνδρομα. Συνολικά, ο πίνακας αναδεικνύει την ετερογένεια των εξετασθέντων γονιδίων και την κατανομή των παραλλαγών ανά νόσο, με κυρίαρχη την επίπτωση του BRCA1/2 σε καρκίνους μαστού και ωοθηκών και του APC σε πολυποδίαση.

2.1 Επισκόπηση των εξεταζόμενων γονιδίων

Για την καλύτερη κατανόηση του συνολικού τοπίου, απεικονίστηκε στην Εικόνα 3 το γράφημα με τον επιμερισμό των σημαντικότερων γονιδίων ανά κατηγορία νεοπλασίας. Το γράφημα βασίζεται σε δεδομένα γενετικού ελέγχου και απεικονίζει τον επιμερισμό των γονιδίων-στόχων ανά κατηγορία νόσου. Κάθε οριζόντιο block αντιστοιχεί σε μία κατηγορία νεοπλασίας, με το ύψος του να είναι ανάλογο με το πλήθος των ασθενών που την απαρτίζουν, ενώ το εσωτερικό του block κατακερματίζεται ανάλογα με τα γονίδια που ανιχνεύθηκαν. Με αυτόν τον τρόπο αποτυπώνεται όχι μόνο το μέγεθος κάθε νοσολογικής κατηγορίας, αλλά και το γονιδιακό προφίλ που τη χαρακτηρίζει. Έτσι, το γράφημα δεν απεικονίζει απόλυτη επιδημιολογική συχνότητα, αλλά το γονιδιακό τοπίο που προκύπτει από το γενετικό έλεγχο (screening) στο δείγμα μας. Στο σύνολο των 3.684 ατόμων με καρκίνο μαστού, καταγράφηκαν 1.780 με BRCA1 και 340 με BRCA2. Στα 798 άτομα με καρκίνο ωοθηκών, το BRCA1 εμφανίζεται σε 167 περιπτώσεις έναντι 25 του BRCA2. Στην πολυποδίαση (86 άτομα), οι 46 περιπτώσεις σχετίζονται με APC.

Στον καρκίνο παχέος εντέρου (91 άτομα), εμφανίζονται κυρίως MLH1 (22) και MSH2 (21). Από το συνολικό δείγμα των 7.459 ατόμων, τα 1.131 φέρουν παραλλαγές στο BRCA1 και τα 882 στο BRCA2, αριθμοί που αναλύονται εκτενέστερα στις επόμενες ενότητες.



Εικόνα 3: Συχνότητα και λειτουργική ερμηνεία των παραλλαγών στα γονίδια BRCA1 και BRCA2 σε επίπεδο πρωτεΐνης και νόσου

3 Ανάλυση των παραλλαγών BRCA1

Οι αριθμοί που παρουσιάζονται στην ανάλυση αναφέρονται σε φορείς παραλλαγών των γονιδίων BRCA1 και BRCA2, όπως προέκυψαν από τον γενετικό έλεγχο (screening), και όχι στην παρουσία των ίδιων των γονιδίων στο γονιδίωμα. Η προσέγγιση αυτή αποτυπώνει τη συχνότητα και την κατανομή των παραλλαγών σε πληθυσμιακό επίπεδο, παρέχοντας βιολογικά τεκμηριωμένη σύγκριση των δύο γονιδίων. Η ανάλυση των παραλλαγών επικεντρώθηκε κυρίως στα γονίδια BRCA1 και BRCA2, που αποτελούν το 25,8% του συνολικού δείγματος (1.131 και 882 φορείς αντίστοιχα).

3.1 Συνολικός αριθμός φορέων και μοναδικών παραλλαγών

Σε επίπεδο φορέων παραλλαγών, 1.131 άτομα έφεραν παραλλαγές στο BRCA1 με 221 μοναδικές παραλλαγές και 882 άτομα στο BRCA2 με 295 μοναδικές παραλλαγές, υποδηλώνοντας ότι οι παραλλαγές του BRCA1 είναι πιο συχνές ανά άτομο, αν και το BRCA2 περιλαμβάνει περισσότερους διαφορετικούς τύπους αλλαγών. Το άθροισμα των επιμέρους κατηγοριών (μαστού, ωοθηκών, συνδυασμών, υγιών) είναι μικρότερο από το συνολικό πλήθος BRCA1 φορέων (1.131), καθώς περίπου 120 άτομα εντάσσονται σε άλλες κατηγορίες (παγκρέατος, παχέος εντέρου, θυρεοειδούς, προστάτη ή μη διαθέσιμες περιπτώσεις). Η κατανομή των νόσων δείχνει καθαρές διαφορές ανάμεσα στα δύο γονίδια.

3.2 Κατανομή νόσων και φαινοτυπικών ομάδων

Για το BRCA1, 488 άτομα σχετίζεται με καρκίνο μαστού, 225 με καρκίνο ωοθηκών και περίπου 71 με συνδυασμό των δύο νοσημάτων. Εντυπωσιακό είναι ότι 225 άτομα είναι υγιή άτομα, δηλαδή φορείς χωρίς εκδηλωμένη νόσο τη στιγμή της καταγραφής. Λιγότερο συχνές εμφανίσεις παρατηρούνται σε καρκίνους θυρεοειδούς, παχέος εντέρου, παγκρέατος και πολυποδίαση.

3.3 Ανάλυση παραλλαγών στο γονίδιο BRCA2

Για το BRCA2, η εικόνα είναι 424 άτομα να συνδέονται με καρκίνο μαστού, 162 με ωοθηκών, ενώ οι υγιείς φορείς είναι 110. Συνοσηρότητα του καρκίνου των μαστών και ταυτόχρονα των ωοθηκών έχουν 20 άτομα και 166 άτομα με άλλες νεοπλασίες. Επομένως, το BRCA2 σχετίζεται πιο στενά με μαστοκαρκίνωμα, σε αντίθεση με το BRCA1 που εμφανίζει ευρύτερη φαινοτυπική κατανομή και μεγαλύτερη παρουσία σε υγιείς φορείς.

3.4 Συγκριτική λειτουργική ανάλυση των παραλλαγών BRCA1 και BRCA2

Η ανάλυση της λειτουργικής επίδρασης αναδεικνύει σαφείς λειτουργικές διαφοροποιήσεις. Οι συχνότερες παραλλαγές του BRCA1 αντιστοιχούν σε παθογονικές μορφές θετικού τύπου, με 87 περιπτώσεις (37,3%), ακολουθούμενες από παραλλαγές αβέβαιης σημασίας με 48 περιπτώσεις (20,6%), μορφές αρνητικού τύπου με 40 (17,2%) και συνδυασμένες μορφές

αρνητικού τύπου με 36 (15,5%). Λιγότερο συχνές ήταν οι μη προσδιορισμένες μορφές με 15 περιπτώσεις (6,4%), καθώς και οι μορφές θετικού αλλά αβέβαιου τύπου με 7 περιπτώσεις (3,0%).

Αντίστοιχα, στο γονίδιο BRCA2 καταγράφηκαν συνολικά 295 μοναδικές παραλλαγές. Οι πιο συχνές μορφές ήταν αβέβαιης σημασίας γονοτυπικές παραλλαγές, με 87 περιπτώσεις (28,2%), και ετεροζυγώτες θετικού τύπου, με 81 (26,3%). Ακολούθησαν οι παραλλαγές αρνητικού τύπου με συνδυασμένα χαρακτηριστικά, με 62 περιπτώσεις (20,1%), οι παραλλαγές αρνητικού τύπου που εμφανίζονται και στα δύο αντίγραφα του γονιδίου, με 55 (17,9%), οι μη προσδιορισμένες μορφές, με 21 (6,8%), και τέλος οι παραλλαγές θετικού αλλά αβέβαιου τύπου, με 2 περιπτώσεις (0,6%). Συνολικά, και στα δύο γονίδια παρατηρείται επικράτηση παραλλαγών τύπου υποκατάστασης, με μεγαλύτερη ετερογένεια στο BRCA2, όπου οι διαφορετικές κατηγορίες εμφανίζονται με πιο ισοκατανεμημένες συχνότητες.

Η ανάλυση στο συγκεκριμένο δείγμα ατόμων έδειξε ότι το BRCA1 σχετίζεται με περισσότερους τύπους καρκίνου, κυρίως μαστού και ωοθηκών, αλλά και με υγιείς φορείς χωρίς εκδηλωμένη νόσο. Το BRCA2 συνδέεται πιο συγκεκριμένα με τον καρκίνο του μαστού. Και στα δύο γονίδια κυριαρχούν παραλλαγές τύπου υποκατάστασης, με το BRCA1 να παρουσιάζει μεγαλύτερη ποικιλία και το BRCA2 πιο σταθερή κατανομή παραλλαγών.

Παρότι ορισμένες παραλλαγές και μεταγραφές του BRCA1 ανιχνεύονται και σε υγιείς φορείς, το εύρημα αυτό δεν αποτελεί ένδειξη ασυνέπειας, αλλά αντανακλά τη μερική διεισδυτικότητα και τη διαφοροποιημένη λειτουργική έκφραση των μεταγραφικών ισομορφών του γονιδίου. Η παρουσία παραλλαγών σε φαινοτυπικά υγιή άτομα αποδίδεται σε μορφές χαμηλής ή αβέβαιης λειτουργικής σημασίας (VUS), οι οποίες δεν οδηγούν απαραίτητα σε εκδήλωση νόσου αλλά παραμένουν βιολογικά σχετικές ως φορείς γενετικής μεταβολής.

3.5 Ανάλυση παραλλαγών BRCA1 και BRCA2 σε πρωτεϊνικό επίπεδο

Παρουσιάζεται η κατανομή, συχνότητα και λειτουργική ερμηνεία των παραλλαγών στα γονίδια BRCA1 και BRCA2 σε επίπεδο πρωτεΐνης και νόσου. Στόχος είναι η συσχέτιση των τύπων παραλλαγών με το προφίλ νόσου, καθώς και η ποσοτική αξιολόγηση παθογονικών και καλοήθων παραλλαγών.

Ο Πίνακας 1 συνοψίζει τις δέκα συχνότερες παραλλαγές για καθένα από τα γονίδια BRCA1 και BRCA2, με βάση το πλήθος ατόμων, την κλινική κατάσταση (πάσχοντες/υγιείς), το κύριο λειτουργικό αποτέλεσμα (Effect) και την αντίστοιχη ερμηνεία παθογονικότητας.

Οι παραλλαγές BRCA1_000050, BRCA1_000090 και BRCA2_000049 αποτελούν τις πλέον διαδεδομένες και εμφανίζουν υψηλά ποσοστά σε πάσχοντες από καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών.

Πίνακας 1: δέκα συχνότερες παραλλαγές για καθένα από τα γονίδια BRCA1 και BRCA2, με βάση το πλήθος ατόμων, την κλινική κατάσταση (πάσχοντες/υγιείς), το κύριο λειτουργικό αποτέλεσμα (Effect) και την αντίστοιχη ερμηνεία παθογονικότητας.

Κωδικός Παραλλαγής	Γονίδιο	Σύνολο Ατόμων	Πάσχοντες	Υγιείς	Κύριο Effect	Κύριες Νόσοι	Ερμηνεία
BRCA1_000050	BRCA1	149	125	24	+/+	BrCa	Παθογονική
BRCA1_000090	BRCA1	87	66	21	+/+	BrCa	Παθογονική
BRCA1_000049	BRCA1	78	61	17	+/+	BrCa	Παθογονική
BRCA1_000015	BRCA1	55	33	22	+?/+?	Healthy/Control	Πιθανώς Παθογονική
BRCA1_000015	BRCA1	55	33	22	./.	Healthy/Control	Μη ταξινομημένη
BRCA1_000102	BRCA1	54	38	16	+/+	BrCa	Παθογονική
BRCA1_000231	BRCA1	42	41	1	./.	BrCa	Μη ταξινομημένη
BRCA1_000014	BRCA1	40	30	10	+/+	BrCa	Παθογονική
BRCA1_000014	BRCA1	40	30	10	./.	BrCa	Μη ταξινομημένη
BRCA1_000160	BRCA1	33	26	7	+/+	BrCa	Παθογονική
BRCA2_000321	BRCA2	74	73	1	./.	BrCa	Μη ταξινομημένη
BRCA2_000320	BRCA2	74	73	1	./.	BrCa	Μη ταξινομημένη
BRCA2_000018	BRCA2	46	46	0	-/-	BrCa	Άγνωστη
BRCA2_000018	BRCA2	46	46	0	./.	BrCa	Μη ταξινομημένη
BRCA2_000013	BRCA2	44	44	0	-/-	OVCA	Άγνωστη
BRCA2_000026	BRCA2	32	32	0	-/-	BrCa	Άγνωστη
BRCA2_000026	BRCA2	32	32	0	./.	BrCa	Μη ταξινομημένη
BRCA2_000024	BRCA2	22	22	0	-/-	BrCa	Άγνωστη
BRCA2_000025	BRCA2	21	20	1	-/-	BrCa	Άγνωστη
BRCA2_000044	BRCA2	19	12	7	+/+	Healthy/Control	Παθογονική

Οι παραλλαγές του BRCA1 εμφανίζουν έντονη διαφοροποίηση ως προς τη λειτουργικότητα και τη φαινοτυπική τους έκφραση. Οι BRCA1_000050, BRCA1_000090, BRCA1_000049, BRCA1_000102 και BRCA1_000160 καταγράφονται αποκλειστικά σε μορφές “+/+”, υποδηλώνοντας παθογονική επίδραση και σύνδεση με καρκίνο του μαστού. Αντίθετα, οι BRCA1_000014 και BRCA1_000015 εμφανίζονται σε δύο λειτουργικές καταστάσεις, τόσο σε παθογονικές μορφές (+/+) όσο και σε μη ταξινομημένες (./.), που σημαίνει ότι η διαφοροποιημένη έκφραση ανάλογα με το γενετικό και φαινοτυπικό υπόβαθρο του φορέα. Η BRCA1_000015 απαντά κυρίως σε υγιείς φορείς, και πιθανότατα αντιπροσωπεύει παραλλαγή χαμηλής ή αβέβαιης λειτουργικής σημασίας (VUS), ενώ η BRCA1_000231 ταξινομείται ως

μη παθογονική. Συνολικά, το φάσμα των παραλλαγών του BRCA1 αποκαλύπτει πολλαπλά επίπεδα παθογονικότητας, από πλήρως παθογονικές έως ουδέτερες μορφές, ενισχύοντας την άποψη ότι οι μεταγραφικές και λειτουργικές διαφοροποιήσεις του γονιδίου οδηγούν σε διαφορετικό βαθμό φαινοτυπικής έκφρασης και κινδύνου.

Για την καλύτερη απεικόνιση των ευρημάτων, στις Εικόνες 4 και 5 παρουσιάζονται τα γραφήματα με την κατανομή των 20 πιο συχνών παραλλαγών των γονιδίων BRCA1 και BRCA2, όπως αυτές καταγράφηκαν στο δείγμα. Για κάθε νεοπλασία εμφανίζεται το πλήθος των ατόμων που φέρουν κάθε παραλλαγή, καθώς και η ερμηνεία της κατηγορία (effect) αποτυπωμένη με διαφορετικό χρώμα, σύμφωνα και με τον Πίνακα 2. Η χρωματική κλίμακα αποτυπώνει τη βαθμίδα λειτουργικής επίδρασης των παραλλαγών από καλοήθεις έως παθογόνες, αναδεικνύοντας τη συγκέντρωση λειτουργικά επιβαρυντικών παραλλαγών των BRCA1 και BRCA2 σε διαφορετικούς τύπους νεοπλασιών.

Πίνακας 2: Η σημειογραφία και η εσωτερική ταξινόμηση των αποτελεσμάτων

Σύμβολο (R/C)	Ερμηνεία	Κατηγορία λειτουργικού αποτελέσματος	Περιγραφή
	Affects function (επηρεάζει τη λειτουργία)	Παθογονική / λειτουργικά επιβαρυντική	Η παραλλαγή επηρεάζει σίγουρα τη λειτουργία της πρωτεΐνης.
<td>Probably does not affect function</td> <td>Πιθανώς καλοήθης / ουδέτερη</td> <td>Πιθανότατα δεν επηρεάζει τη λειτουργία της πρωτεΐνης.</td>	Probably does not affect function	Πιθανώς καλοήθης / ουδέτερη	Πιθανότατα δεν επηρεάζει τη λειτουργία της πρωτεΐνης.
	Effect unknown	Άγνωστη / μη καθορισμένη	Δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για το αν επηρεάζει ή όχι τη λειτουργία.
	Effect not classified	Μη ταξινομημένη / χωρίς δεδομένα	Δεν έχει αξιολογηθεί ακόμη ή δεν υπάρχει πληροφορία.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η σημειογραφία ακολουθεί εσωτερική ταξινόμηση των αποτελεσμάτων και δεν αντιστοιχεί σε πραγματικούς γονότυπους.

Όλες οι παραλλαγές εντοπίζονται στα πέντε κύρια μεταγραφικά ισομορφικά του BRCA1 (NM_007294.3, NM_007297.3, NM_007298.3, NM_007299.3 και NM_007300.3), τα οποία αντιστοιχούν σε διαφορετικές μορφές του mRNA που παράγει η περιοχή του γονιδίου.

Η παραλλαγή BRCA1_000090 είναι η πιο χαρακτηριστική παθογονική μετάλλαξη, αφού καταγράφεται σε 66 πάσχοντες και 21 υγιείς φορείς, όλοι με το ίδιο effect “+/+”. Το μοτίβο αυτό δείχνει ισχυρή διαταραχή στη λειτουργία του BRCA1 και ιδιαίτερα στις οδούς

επιδιόρθωσης του DNA. Η συγκεκριμένη μετάλλαξη εντοπίζεται σε πολλαπλούς τύπους καρκίνου, κυρίως του μαστού (36) και των ωθηκών (18) και έχει και 22 υγιεινούς φορείς.

Η παραλλαγή BRCA1_000050 εμφανίζεται σε 149 άτομα, εκ των οποίων τα 125 ανήκουν στην ομάδα των πασχόντων και τα 24 στους υγιείς φορείς. Επηρεάζει επίσης και τα πέντε transcripts του BRCA1, με effect “+/-” σε όλες τις περιπτώσεις. Αν και η παρουσία της στους υγιείς φορείς δείχνει μερική διεισδυτικότητα, η αναλογία πέντε προς ένα υπέρ των ασθενών και η συγκέντρωσή της σε περιπτώσεις καρκίνου του μαστού και των ωθηκών υποδηλώνουν ότι πρόκειται για μετάλλαξη με πιθανή παθογονική δράση, η οποία αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου χωρίς να τον καθορίζει απόλυτα. Πρόκειται επομένως για μια “likely pathogenic” παραλλαγή, με μέτριο έως υψηλό βαθμό κινδύνου.

Επίσης, η παραλλαγή BRCA1_000049, που εντοπίζεται σε 81 άτομα, παρουσιάζει ευρεία κατανομή σε διάφορους τύπους καρκίνου, με κυριότερη παρουσία στους καρκίνους του μαστού (34) και των ωθηκών (21), ενώ μικρότερες συχνότητες καταγράφονται σε καρκίνους του ενδομητρίου και του παχέος εντέρου. Όλοι οι φορείς φέρουν το effect “+/-”, γεγονός που δηλώνει παθογονικό χαρακτήρα.

Η αναλογία ασθενών προς υγιείς (περίπου 8:1) αποδουκνεί ισχυρή συσχέτιση της παραλλαγής με την εμφάνιση νεοπλασιών του γεννητικού και γυναικολογικού συστήματος, χωρίς ωστόσο να αποκλείεται η παρουσία φορέων με χαμηλότερη διεισδυτικότητα.

Η παραλλαγή BRCA1_000014 εμφανίζεται σε 40 άτομα, με 30 πάσχοντες και 10 υγιείς φορείς. Εμφανίζει δύο διαφορετικά effects, “+/-” και “./.”. Η παρουσία και των δύο τύπων υποδεικνύει μεταβλητή γενετική έκφραση και μικρότερη παθογονικότητα. Η παρουσία της σε ποσοστό 25% των υγιών φορέων δηλώνει πιθανή καλοήγη δράση.

Στο γράφημα “Κατανομή Top-20 Παραλλαγών BRCA1 ανά Νεοπλασία”, όπου απεικονίζονται 17 κατηγορίες, παρατηρείται ότι οι παραλλαγές BRCA1_000050, BRCA1_000049 και BRCA1_000090 εμφανίζουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις σε καρκίνους του μαστού και των ωθηκών (με έως 71 και 32 καταγεγραμμένους φορείς αντίστοιχα), καθώς και μικρότερες παρουσίες σε καρκίνους παχέος εντέρου και ενδομητρίου. Η BRCA1_000014 εμφανίζεται σε πολύ μικρότερη συχνότητα και διασκορπισμένα, επιβεβαιώνοντας τον μη παθογονικό της χαρακτήρα. Η σαφής υπεροχή των παραλλαγών αυτών στους ασθενείς ενισχύει τη συσχέτισή τους με τη νόσο και αναδεικνύει τη βιολογική τους σημασία.

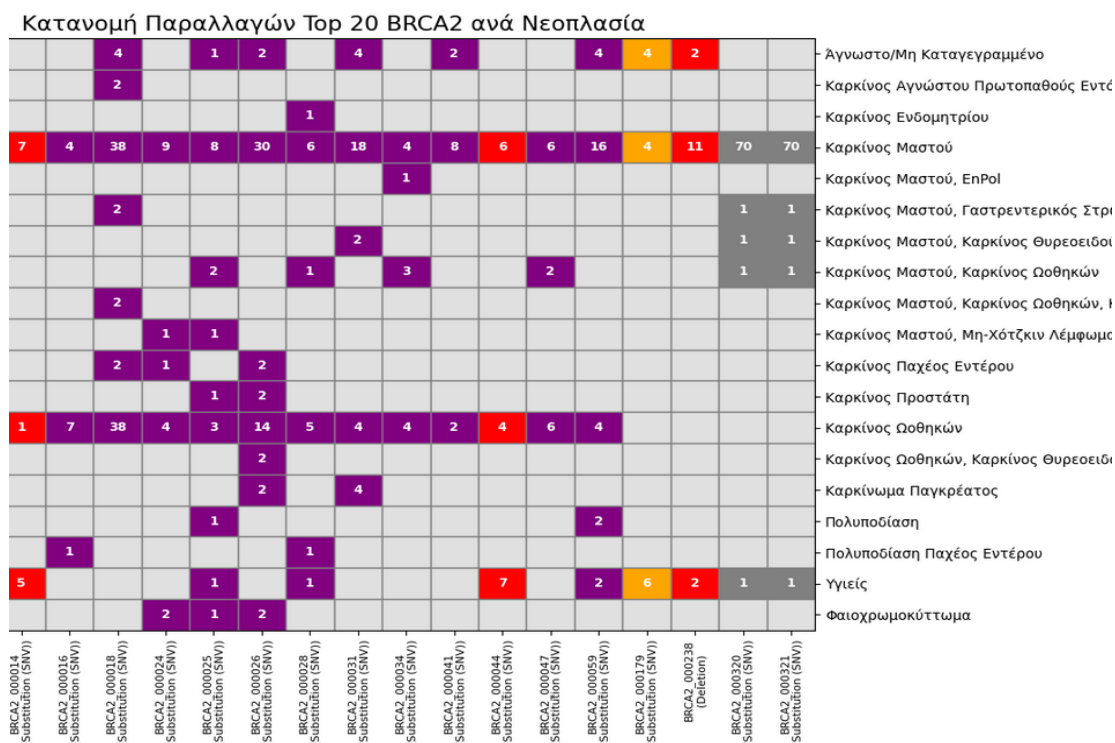
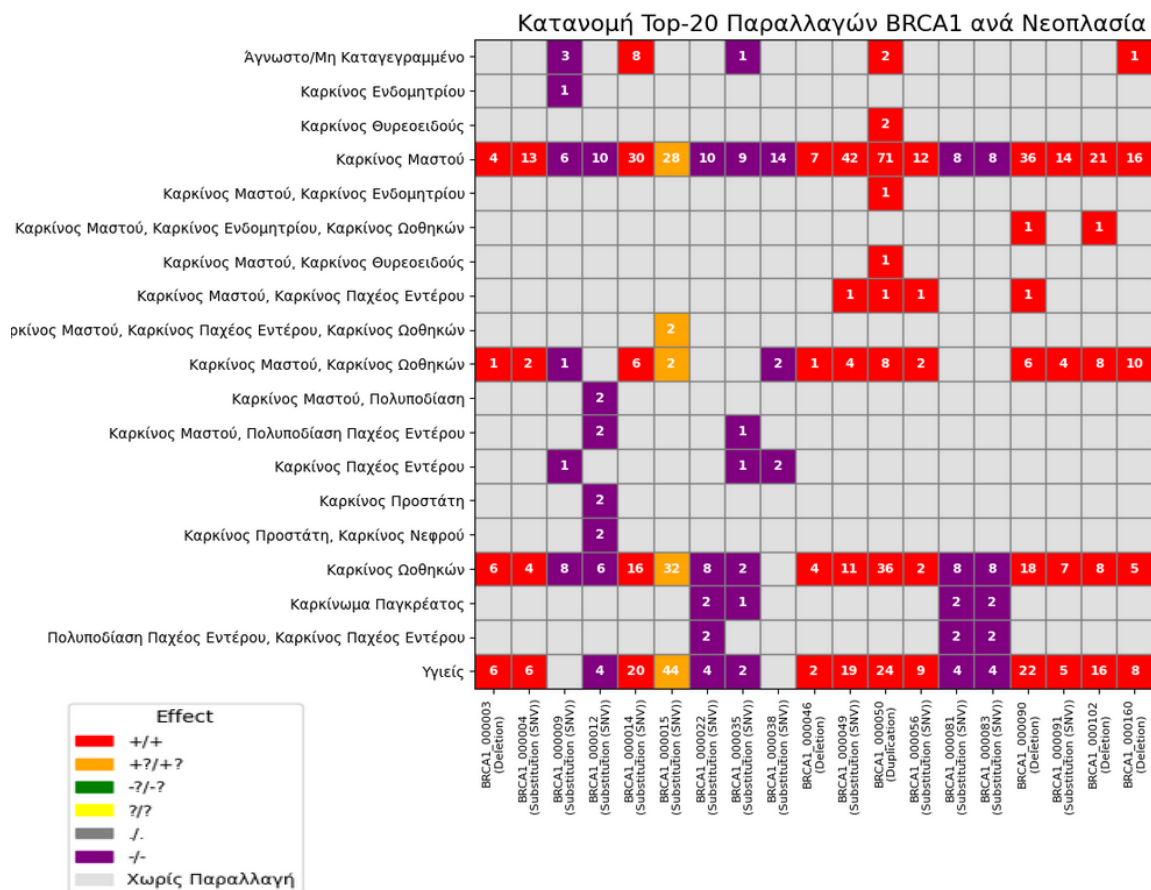
Αντίστοιχη ανάλυση για το BRCA2 αποτυπώνεται στο δεύτερο γράφημα (“Κατανομή Παραλλαγών Top-20 BRCA2 ανά Νεοπλασία”) για τις 17 κορυφαίες κατηγορίες. Οι συχνότερες παραλλαγές BRCA2_000320, BRCA2_000321, BRCA2_000018 και BRCA2_000016 συνδέονται επίσης με καρκίνο μαστού και ωθηκών, εμφανίζοντας έως και 70 καταγεγραμμένους φορείς στην περίπτωση της BRCA2_000320, με κατηγορία λειτουργικού αποτελέσματος “+/-”.

Στην περίπτωση του BRCA2, οι περισσότερες παραλλαγές συγκεντρώνονται σε καρκίνους του μαστού, ενώ παρατηρούνται μικρότερες συχνότητες σε καρκίνους παχέος εντέρου, προστάτη και παγκρέατος. Το μοτίβο αυτό αναδεικνύει την υψηλή παθογονικότητα, κάτι που είναι βιολογικά συνεπές με τη λειτουργία του BRCA2 στην οδό ομόλογου ανασυνδυασμού και στη διατήρηση της γονιδιακής σταθερότητας.

Αντίθετα, ορισμένες παραλλαγές με λειτουργικό αποτέλεσμα “?/?” ή “-?/-?” εμφανίζονται σποραδικά και κυρίως σε υγιείς φορείς, άρα υπάρχει ουδέτερη ή αβέβαιης σημασίας λειτουργικότητα.

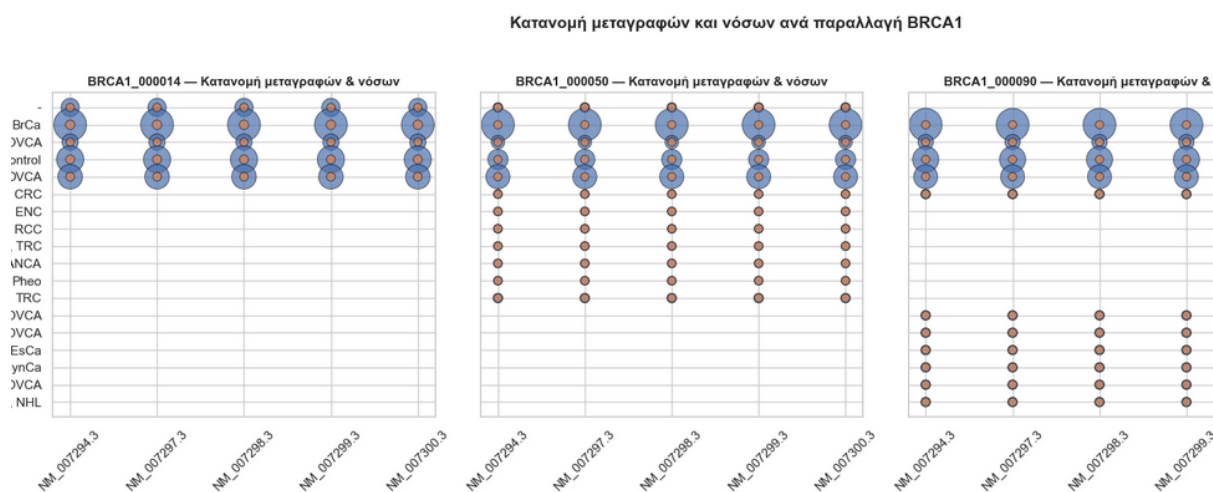
Συνολικά, και τα δύο γονίδια, BRCA1 και BRCA2, παρουσιάζουν υψηλή συγκέντρωση παθογονικών παραλλαγών σε καρκίνους του μαστού και των ωοθηκών, ενώ οι παραλλαγές τους επηρεάζουν πολλαπλά μεταγραφικά ισομορφικά, γεγονός που αυξάνει την πολυπλοκότητα των επιπτώσεων στη γονιδιακή λειτουργία. Οι αριθμητικές αναλογίες νοσούντων προς υγιών για τις παραλλαγές BRCA1_000090 (67:22), BRCA1_000050 (125:24) και BRCA1_000014 (30:10) αποτυπώνουν τη διαβαθμισμένη παθογονικότητα των παραλλαγών, με σαφή βιολογική ιεράρχηση από πλήρως παθογονική έως πιθανώς καλοήγη.

Η ταύτιση των ποσοτικών δεδομένων με τις οπτικές απεικονίσεις των δύο γραφημάτων επιβεβαιώνει ότι το προφίλ παραλλαγών του BRCA1 και BRCA2 στον συγκεκριμένο πληθυσμό ακολουθεί το αναμενόμενο μοτίβο των γνωστών προδιαθεσικών παραλλαγών: υψηλή επίπτωση σε καρκίνους του μαστού και των ωοθηκών και διαταραχή πολλαπλών μεταγραφικών ισομορφών που επηρεάζουν κρίσιμες πρωτεΐνες επιδιόρθωσης του DNA.



3.6 Μεταγραφική Κατανομή και Φαινοτυπικός Αντίκτυπος των Παραλλαγών BRCA1

Η ανάλυση των μεταγραφικών ισομορφών του BRCA1 ανέδειξε ότι και οι τρεις κύριες παραλλαγές, BRCA1_000014, BRCA1_000050 και BRCA1_000090, εντοπίζονται σταθερά σε όλα τα κύρια transcripts του γονιδίου (NM_007294.3, NM_007297.3, NM_007298.3, NM_007299.3, NM_007300.3) Εικόνα 6.



Εικόνα 5: Καταγραφή μεταγραφών και νόσων ανά παραλλαγή BRCA1

Η BRCA1_000090 εμφανίζεται ομοιόμορφα σε όλα τα transcripts, με την υψηλότερη συχνότητα στον καρκίνο του μαστού (πάνω από 3.000 περιπτώσεις) και τον καρκίνο των ωοθηκών (περίπου 1.600 περιπτώσεις). Η απόλυτη επικράτηση της μορφής (“+/+”) υποδεικνύει ισχυρή παθογονικότητα και διαταραχή των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA ενώ παράλληλα, μικρό ποσοστό ανιχνεύεται σε υγιείς φορείς.

Η BRCA1_000050 παρουσιάζει παρόμοια καθολική έκφραση σε όλα τα transcripts, με εξαιρετικά υψηλή συχνότητα στον καρκίνο του μαστού (>10.000 καταγραφές) και τον καρκίνο ωοθηκών (~5.000), χωρίς ουσιαστική παρουσία σε υγιείς φορείς. Οι απόλυτοι αριθμοί (>10.000, ~5.000) αναφέρονται σε εμφανίσεις παραλλαγών ανά transcript, όχι σε ξεχωριστά άτομα. Αντίθετα, η BRCA1_000014 καταγράφει σημαντικά μικρότερο αριθμό περιπτώσεων και διαφοροποιημένο προφίλ ως προς τα effects (“+/+” και “./.”).

Ένα ενδιαφέρον εύρημα είναι ότι, παρά την κοινή παρουσία των παραλλαγών σε όλα τα transcripts, το φαινοτυπικό αποτέλεσμα φαίνεται να διαφοροποιείται ανά transcript. Για παράδειγμα, σε ορισμένα ισομορφικά, η BRCA1_000090 σχετίζεται περισσότερο με μαστοκαρκίνωμα, ενώ σε άλλα εμφανίζεται σε συνδυασμό με ωοθηκικούς ή γυναικολογικούς όγκους. Συνολικά, οι παραλλαγές του BRCA1 φαίνεται να έχουν συστηματική παρουσία σε όλα τα μεταγραφικά προϊόντα, με διαφοροποιημένο φαινοτυπικό αντίκτυπο. Η BRCA1_000090

αποτελεί τον πιο καθαρά παθογονικό τύπο, η BRCA1_000050 εντάσσεται στη ζώνη “likely pathogenic”, ενώ η BRCA1_000014 έχει πιθανώς χαμηλότερη λειτουργική βαρύτητα.

Η ανάλυση των μεταγραφικών ισομορφών του BRCA1 ανέδειξε ότι οι τρεις κύριες παραλλαγές, BRCA1_000014, BRCA1_000050 και BRCA1_000090, εντοπίζονται σταθερά σε όλα τα κύρια transcripts του γονιδίου (NM_007294.3, NM_007297.3, NM_007298.3, NM_007299.3, NM_007300.3).

Η BRCA1_000014 αποτελεί τη λειτουργικά πιο ενεργή μεταγραφή, με υψηλή παρουσία παθογονικών μορφών (“+/+”) και συνολικές καταγραφές 585 περιπτώσεων καρκίνου μαστού, 312 καρκίνου ωοθηκών και 117 συνδυασμένων περιστατικών, ενώ 390 υγιείς φορείς φέρουν ήπιες μορφές (“./.”). Οι παραλλαγές BRCA1_000050 και BRCA1_000090 καταγράφονται ομοιόμορφα σε όλα τα transcripts, με υψηλές συχνότητες αλλά αποκλειστικά ουδέτερες ή αβέβαιης σημασίας μορφές (./.). Η BRCA1_000090 καταγράφεται σε 3.200 καρκίνους μαστού, 1.600 καρκίνους ωοθηκών και 1.900 υγιείς φορείς, με παρουσία και σε μη τυπικές BRCA1-σχετιζόμενες νόσους, όπως καρκίνο της ουροδόχου κύστης, γυναικολογικούς καρκίνους και καρκίνο της κεφαλής και του τραχήλου. Παρά την κοινή παρουσία των παραλλαγών σε όλα τα transcripts, το φαινοτυπικό τους αποτύπωμα διαφοροποιείται: η BRCA1_000014 συνδέεται με ισχυρή παθογονικότητα, ενώ οι BRCA1_000050 και BRCA1_000090 με χαμηλότερη λειτουργική βαρύτητα.

Συνολικά, το BRCA1 εμφανίζει πολλαπλές μεταγραφικές εκδοχές με διακριτή παθογονική ένταση, γεγονός που υποδεικνύει διαφοροποιημένη συμβολή των επιμέρους μεταγραφών στη γονιδιακή λειτουργία. Διαφορετικές μεταγραφές του ίδιου γονιδίου συνδέονται με διαφορετικούς τύπους καρκίνου ή ακόμη και με υγιείς φορείς χωρίς εκδηλωμένη νόσο.

3.7 Μεταγραφική Κατανομή και Φαινοτυπικός Αντίκτυπος των Παραλλαγών BRCA2

Η ανάλυση των παραλλαγών του BRCA2 σε μεταγραφικό επίπεδο (transcript NM_000059.3) αποκάλυψε συνολικά 5.766 παρατηρήσεις σε τέσσερις κύριες παραλλαγές: BRCA2_000012, BRCA2_000016, BRCA2_000054 και BRCA2_000320.

Η BRCA2_000320 είναι η πιο συχνή, με 5.402 εμφανίσεις συνολικά, εκ των οποίων 5.180 σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού και μικρότερο αριθμό (74 περιπτώσεις) σε κατηγορίες που συχνά συνυπάρχουν, όπως γαστρεντερικοί στρωματικοί όγκοι, καρκίνος του μαστού, καρκίνος των ωοθηκών, καρκίνος του θυρεοειδούς και υγιή άτομα.

Η BRCA2_000012 καταγράφει 100 περιπτώσεις συνολικά, κυρίως σε καρκίνο του μαστού (50) και καρκίνο των ωοθηκών (30), ενώ λιγότερες περιπτώσεις παρατηρούνται σε συνδυασμούς κακοηθειών όπως μαστού-λειομυοσαρκώματος και μαστού-λεμφώματος μη Hodgkin (10 περιπτώσεις σε κάθε ομάδα).

Η BRCA2_000016 παρουσιάζει 196 παρατηρήσεις, με την πλειονότητα να αφορά καρκίνο του μαστού (56) και ωοθηκών (98), και μικρότερες ομάδες σε καρκίνο του παχέος εντέρου,

οικογενή πολυποδίαση και γλοϊώμα βαθμού III (14 περιπτώσεις ανά κατηγορία). Όλες οι περιπτώσεις παρουσιάζουν κοινό λειτουργικό αποτέλεσμα (effect “-/-”).

Τέλος, η BRCA2_000054 είναι σπάνια, με 4 συνολικά καταγραφές (2 σε καρκίνο του μαστού και 2 σε καρκίνο τω ωθηκών), πιθανότατα με χαμηλή κλινική σημασία.

Συνολικά, τα δεδομένα δείχνουν ότι το δείγμα του BRCA2 είναι πολύ περιορισμένο σε εύρος σε σχέση με το BRCA1 και η BRCA2_000320 κυριαρχεί αριθμητικά, γεγονός που δυσχεραίνει τη στατιστική σύγκριση και την ερμηνεία της λειτουργικής ποικιλότητας μεταξύ μεταγραφών.

3.8 Ανάλυση παραλλαγών BRCA1 σε πρωτεϊνικό επίπεδο

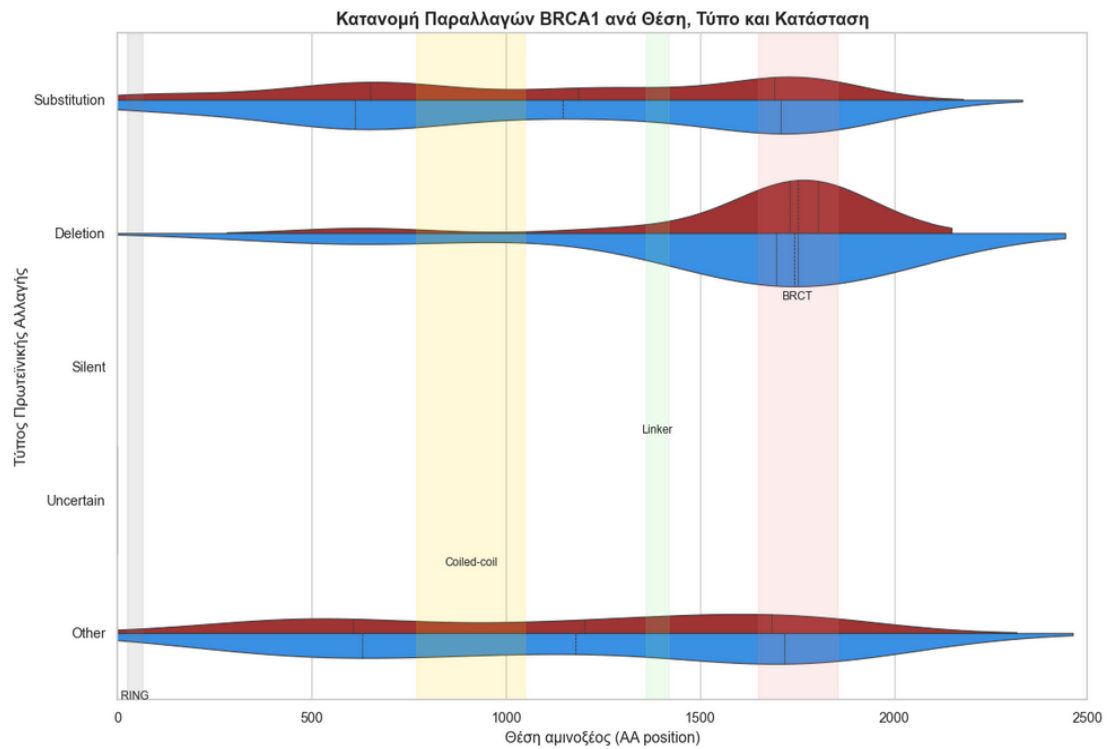
Η ανάλυση του γονιδίου BRCA1 σε πρωτεϊνικό επίπεδο ανέδειξε σημαντική ετερογένεια ως προς τον τύπο και τη συχνότητα των παραλλαγών. Από το σύνολο των καταγεγραμμένων μεταβολών, οι αντικαταστάσεις αμινοξέων (Substitutions) αποτελούν την πολυπληθέστερη κατηγορία, με 2.297 παραλλαγές σε ασθενείς και 663 σε υγιή άτομα, όπως απεικονίζεται στο γράφημα «Συνολικός αριθμός παραλλαγών BRCA1 ανά άτομο».

Οι σιωπηλές παραλλαγές (Silent) ανέρχονται σε 559 και 118 περιπτώσεις αντίστοιχα, ενώ οι διαγραφές (Deletions) εμφανίζονται λιγότερο συχνά (110 και 34). Οι αβέβαιες (Uncertain) και λοιπές (Other) παραλλαγές καταλαμβάνουν ποσοστό περίπου 10-15 % του συνολικού αριθμού. Στο γράφημα «Κατανομή παραλλαγών BRCA1 ανά τύπο, θέση και κατάσταση» αποτυπώνεται η κατανομή των μεταλλάξεων κατά μήκος της πρωτεΐνης, με βάση τη θέση των αμινοξέων.

Οι παραλλαγές με θετικά effects (“+/-” και “+?/+?”) εμφανίζουν αυξημένη πυκνότητα στις περιοχές μεταξύ 500–900 και 1600–1850 θέσεων, οι οποίες αντιστοιχούν σε γνωστά δομικά domains του BRCA1. Αντίθετα, στους υγιείς φορείς, οι παραλλαγές κατανέμονται πιο ομοιόμορφα σε όλο το μήκος της πρωτεΐνης και περιλαμβάνουν κυρίως σιωπηλές ή αβέβαιες μεταβολές. Η συνολική κατανομή δείχνει διαφοροποίηση μεταξύ των δύο ομάδων (με κόκκινο χρώμα να συμβολίζονται οι ασθενείς και μπλε οι υγιείς), ως προς τον τύπο και τη θέση των μεταλλάξεων.

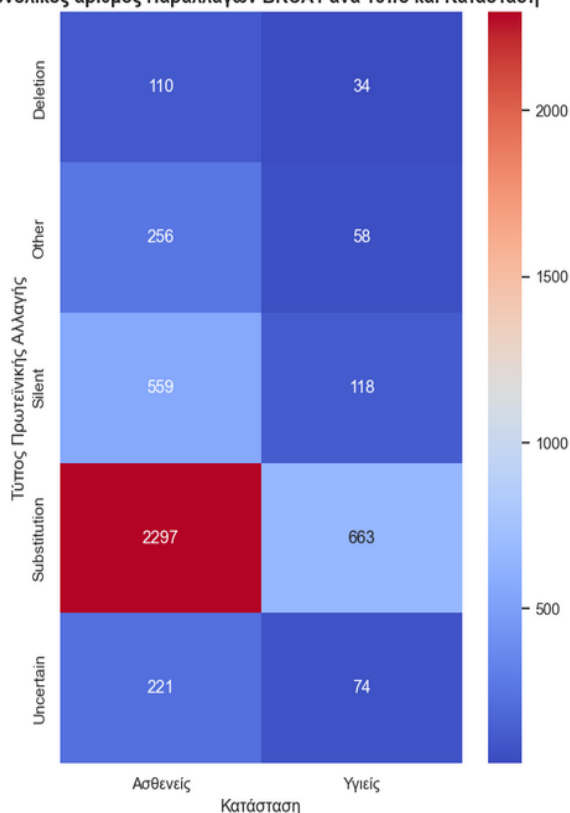
Η ανάλυση των μοναδικών παραλλαγών (unique variants) έδειξε διαφοροποιήσεις στην ποικιλία και στη συχνότητα μεταξύ ασθενών και υγιών. Συνολικά, ανιχνεύθηκαν 322 μοναδικές παραλλαγές στους ασθενείς και 91 στους υγιείς. Οι Substitutions αποτελούν την κυρίαρχη κατηγορία, με 120 μοναδικές παραλλαγές στους ασθενείς και 39 στους υγιείς.

Οι Deletions και Uncertain παραλλαγές είναι λιγότερο συχνές, ενώ η κατηγορία Other περιλαμβάνει ετερογενείς μεταβολές με περιορισμένες διαθέσιμες πληροφορίες. Η διαφορά στον αριθμό και στην ποικιλία των μοναδικών παραλλαγών ανάμεσα στις δύο ομάδες καταγράφει τη στατιστική διαφοροποίηση του προφίλ τους, χωρίς να συνεπάγεται αξιολόγηση παθογονικότητας



Εικόνα 6: Κατανομή Παραλλαγών BRCA1 ανά θέση, Τύπο και Κατάσταση

Συνολικός αριθμός Παραλλαγών BRCA1 ανά Τύπο και Κατάσταση



Εικόνα 7: Συνολικός αριθμός BRCA1 ανά τύπο και Κατάσταση

3.9 Ανάλυση παθογονικών παραλλαγών BRCA1

Η διερεύνηση των παθογονικών παραλλαγών του BRCA1 αποκάλυψε σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ ασθενών και υγιών ατόμων, τόσο ως προς το πλήθος όσο και ως προς τη μοναδικότητά τους. Συνολικά, εντοπίστηκαν συνολικά 812 παθογονικές ή πιθανώς παθογονικές εμφανίσεις παραλλαγών (effect +/- και +?/+?), που αντιστοιχούν σε 94 μοναδικούς τύπους παραλλαγών στους ασθενείς και 44 μοναδικούς τύπους σε υγιείς (σύνολο 138 διαφορετικές παραλλαγές), υποδηλώνοντας σαφή υπεροχή και μεγαλύτερη γενετική ποικιλότητα παθογονικών αλλοιώσεων στο BRCA1 μεταξύ των ατόμων με καρκινική νόσο.

Οι συχνότερες παθογονικές παραλλαγές του BRCA1 εντοπίζονται κυρίως σε λειτουργικά κρίσιμα για τη σταθερότητα και τη δραστηριότητά της. Οι παραλλαγές p.(Gln1709Profs*74), p.(Gln1756Profs*74) και p.(Gln1777Profs*74) (όλες με DB-ID BRCA1_000050) παρατηρήθηκαν σε 149 άτομα. Αντίστοιχα, οι p.(Cys14Gly) και p.(Cys61Gly) (DB-ID BRCA1_000014) ανιχνεύθηκαν σε 39 άτομα. Επιπλέον, παραλλαγές όπως η p.(Gly1803_Tyr1863del) (BRCA1_000090, 89 άτομα) και η p.(Arg1751*) (BRCA1_000091, 30 άτομα) οδηγούν σε διαγραφή ή πρόωρη διακοπή της μετάφρασης, ενισχύοντας περαιτέρω τη λειτουργική επιβάρυνση του BRCA1.

4 Συμπεράσματα.

Η ανάλυση των παραλλαγών των γονιδίων BRCA1 και BRCA2 ανέδειξε σημαντικές ποσοτικές και λειτουργικές διαφορές μεταξύ τους. Το BRCA1 εμφάνισε συνολικά περισσότερες από 800 παραλλαγές, εκ των οποίων 94 μοναδικές παθογονικές, ενώ το BRCA2 παρουσίασε μικρότερο αριθμό συνολικών μεταλλάξεων αλλά υψηλή συγκέντρωση σε συγκεκριμένες θέσεις, κυρίως σε καρκίνους του μαστού και των ωοθηκών. Η αναλογία πασχόντων προς υγιείς φορείς υπολογίζεται σε περίπου 5:1 για το BRCA1 και 7:1 για το BRCA2, γεγονός που υποδεικνύει μεγαλύτερη διεισδυτικότητα και παθογονικό δυναμικό του δεύτερου.

Περίπου 70–80% των παραλλαγών ταξινομούνται ως παθογονικές, με μικρές διαφορές ανάλογα με το γονίδιο (BRCA1 ~70%, BRCA2 ~80%).

Οι παραλλαγές “+/?” και “+?/+?” εντοπίζονται κυρίως σε λειτουργικά κρίσιμες περιοχές των πρωτεϊνών, όπως τα RING και BRCT domains του BRCA1 και την περιοχή δέσμευσης RAD51 του BRCA2, επηρεάζοντας βασικές διεργασίες επιδιόρθωσης διπλών θραύσεων DNA. Αντίθετα, οι “?/?” και “./.” παρατηρούνται πιο συχνά σε υγιείς φορείς και φαίνεται να συνδέονται με παραλλαγές αβέβαιης ή ουδέτερης σημασίας.

Συνολικά, η μελέτη επιβεβαιώνει ότι και τα δύο γονίδια διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στη συντήρηση της γονιδιακής σταθερότητας και στη μείωση του κινδύνου καρκινογένεσης.

Η παρούσα διερεύνηση, αν και περιγραφική, αναδεικνύει τα σημεία με τη μεγαλύτερη γενετική ευαισθησία στα γονίδια BRCA σε επιλεγμένο πληθυσμό και μπορεί να αποτελέσει βάση για στοχευμένες μελέτες λειτουργικής επικύρωσης ή φαινοτυπικής συσχέτισης.

Η παρούσα ανάλυση δείχνει ότι οι παραλλαγές του γονιδίου BRCA1 δεν έχουν απαραίτητα την ίδια βιολογική σημασία σε όλα τα σημεία του γονιδίου.

Αν και πολλές μεταγραφές του BRCA1 φαίνεται να φέρουν παρόμοια πρότυπα παραλλαγών, τα διαθέσιμα δεδομένα δεν επιτρέπουν ακόμη σαφή συσχέτιση κάθε μεταγραφής με συγκεκριμένη λειτουργική επίδραση στους διάφορους τύπους καρκίνου. Η μεταγραφική ανάλυση ωστόσο υποδεικνύει ότι η θέση και η επίδραση μιας παραλλαγής ενδέχεται να διαφοροποιούν τη λειτουργικότητα του γονιδίου, κάτι που μπορεί να επηρεάζει τον κίνδυνο εκδήλωσης καρκίνου.

Επομένως, η διερεύνηση σε επίπεδο μεταγραφής προσφέρει νέες προοπτικές για πιο ακριβή πρόγνωση και προσωποποιημένη ερμηνεία του γενετικού κινδύνου, ιδίως εφόσον ενσωματωθούν μελλοντικά δεδομένα λειτουργικής παθογονικότητας.

Οι απόλυτοι αριθμοί που εμφανίζονται σε ορισμένες ενότητες (π.χ. μεταγραφικό επίπεδο) μπορεί να υπερβαίνουν το συνολικό μέγεθος δείγματος, καθώς αντιπροσωπεύουν πολλαπλές εγγραφές ανά άτομο (π.χ. παραλλαγές σε διαφορετικά transcripts ή ισομορφές του ίδιου γονιδίου). Όλα τα ποσοστά και οι συγκρίσεις αφορούν επίπεδο ατόμου, εκτός αν δηλώνεται διαφορετικά.

Κατηγορία	Μεταβλητή / Παράμετρος	BRCA1	BRCA2	Συμπέρασμα
1. Πληθυσμιακά δεδομένα	Σύνολο φορέων παραλλαγών Μοναδικές παραλλαγές	1.131 άτομα 221	882 άτομα 295	Το BRCA1 εμφανίζεται σε περισσότερους φορείς, με υψηλότερη συχνότητα ανά άτομο. Το BRCA2 παρουσιάζει περισσότερους διαφορετικούς τύπους παραλλαγών.
2. Ποσοτικά δεδομένα παραλλαγών	Κατανομή κύριων νοσημάτων	Μαστού: 488 Ωοθηκών: 225 Συνδυασμοί: 71 Υγιείς: 225 Λοιπές κατηγορίες: ~120	Μαστού: 424 Ωοθηκών: 162 Συνδυασμοί: 20 Υγιείς: 110 Άλλες νεοπλασίες: 166	Το BRCA1 συνδέεται με ευρύτερο φάσμα φαινοτύπων, ενώ το BRCA2 κυριαρχεί στον καρκίνο του μαστού.
3. Παθογονικότητα (Effect)	Είδος γενετικών παραλλαγών	Substitution: 156 (70,6%) Deletion: 47 (21,3%) Insertion: 10 (4,5%) Duplication: 8 (3,6%)	Substitution: 210 (71,2%) Deletion: 52 (17,6%) Insertion: 18 (6,1%) Duplication: 15 (5,1%)	Και στα δύο γονίδια κυριαρχούν οι αντικαταστάσεις βάσεων (substitutions), με το BRCA2 να εμφανίζει ελαφρώς μεγαλύτερη ποικιλία δομικών μεταβολών.
4. Κυρίαρχες παραλλαγές	Τύποι μεταλλάξεων (δομικά χαρακτηριστικά)	Αντικαταστάσεις βάσεων (substitution) και απαλοιφές (deletion) αποτελούν το 92% των συνολικών παραλλαγών.	Αντικαταστάσεις (substitution) αποτελούν ~71%, με υψηλότερο ποσοστό duplication και insertion συγκριτικά με το BRCA1.	Το BRCA1 χαρακτηρίζεται από περισσότερες απαλοιφές, ενώ το BRCA2 από περισσότερες προσθήκες και αντιγραφές τμημάτων DNA.
5. Δομική / Λειτουργική κατανομή	Επηρεαζόμενες περιοχές πρωτεΐνης	Κυρίως στα RING και BRCT domains (περιοχές πρόσδεσης και επιδιόρθωσης DNA).	Κυρίως στις περιοχές DNA-binding και RAD51-interaction.	Οι παραλλαγές BRCA1 εντοπίζονται σε ρυθμιστικά και επιδιορθωτικά domains, ενώ οι BRCA2 σε θέσεις αλληλεπίδρασης με RAD51.
6. Φαινοτυπική συσχέτιση	Συσχετιζόμενοι τύποι καρκίνου	Μαστού, Ωοθηκών, Θυρεοειδούς, Παχέος εντέρου, Παγκρέατος	Μαστού, Ωοθηκών, Προστάτη, Παγκρέατος	Το BRCA1 συνδέεται με περισσότερους τύπους καρκίνου, ενώ το BRCA2 με πιο συγκεκριμένο φαινοτυπικό προφίλ.
7. Συνολική αξιολόγηση				Το BRCA1 παρουσιάζει υψηλότερη συχνότητα φορέων και ευρύτερη φαινοτυπική κατανομή, ενώ το BRCA2 εμφανίζει περισσότερες μοναδικές παραλλαγές και μεγαλύτερη λειτουργική ετερογένεια. Και τα δύο εμπλέκονται σε κρίσιμους μηχανισμούς επιδιόρθωσης DNA με διαφορετικά πρότυπα παθογονικότητας.

