

# Klinička obilježja djece sa mikroduplikacijskim i mikrodelecijskim sindromima

---

**Seletković, Dominik**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:884886>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-04**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I  
DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINE**

**Dominik Seletković**

**KLINIČKA OBILJEŽJA DJECE S  
MIKRODUPLIKACIJSKIM I  
MIKRODELECIJSKIM SINDROMIMA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2022.**



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I  
DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINE**

**Dominik Seletković**

**KLINIČKA OBILJEŽJA DJECE S  
MIKRODUPLIKACIJSKIM I  
MIKRODELECIJSKIM SINDROMIMA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2022.**

Rad je izrađen na Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mentorica rada: prof. dr. sc. Silvija Pušeljić, dr. med.

Rad sadrži: 46 stranica, 13 tablica i jednu sliku.

## ZAHVALE

*Od srca se zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Silviji Pušeljić, na susretljivosti, pristupačnosti i pomoći pri izradi diplomskog rada te svom prenesenom znanju.*

*Želim zahvaliti svojoj obitelji i svim prijateljima koji su bili uz mene kroz cijelo vrijeme mogega studiranja te mi bili podrška u svim trenucima.*

*Posebno hvala mojoj sestri Dori koja mi je bezuvjetna podrška tokom cijelog života.*

## SADRŽAJ RADA

POPIS KRATICA.....	II
1. UVOD.....	1
1.1. Kromosomske aberacije.....	1
1.2. Mikrodelecijski i mikroduplikacijski sindromi.....	2
1.3. Epigenetički mehanizmi povezani s mikrodelecijskim i mikroduplikacijskim sindromima.....	4
1.4. Klinički simptomi u sindromske djece.....	6
1.5. Najčešći mikrodelecijski sindromi.....	7
1.6. Molekularno - citogenetičke tehnike u detekciji mikrodelecijskih I mikroduplikacijskih sindroma.....	11
2. CILJEVI RADA.....	12
3. ISPITANICI I METODE.....	13
3.1. Ustroj studije.....	13
3.2. Ispitanici.....	13
3.3. Metode.....	13
3.4. Statističke metode.....	15
4. REZULTATI.....	16
4.1. Demografski podaci i dinamika pojavnosti sindroma u promatranome razdoblju.....	16
4.2. Obilježja rodoslovnog stabla i prenatalnih rizika.....	18
4.3. Obilježja djece s mikrodelecijskim/mikroduplikacijskim sindromima.....	22
4.4. Genetičke promjene kod djece s mikrodelecijskim/mikroduplikacijskim sindromima.....	25
5. RASPRAVA.....	28
6. ZAKLJUČAK.....	34
7. SAŽETAK.....	35
8. SUMMARY.....	36
9. LITERATURA.....	37
10. ŽIVOTOPIS.....	46

## POPIS KRATICA

aCGH	komparativna genomska hibridizacija na mikropostroju/mikročipovima (prema engl. <i>Microarray comparative genomic hybridization</i> )
ADHD	poremećaj s nedostatkom pažnje i hiperaktivnošću (prema engl. <i>Attention deficit hyperactivity disorder</i> )
AS	Angelmanov sindrom
ASD	Atrijski septalni defekt
CHD	prirodna srčana greška (prema engl. <i>Congenital heart defects</i> )
CMA	molekularna kariotipizacija (prema engl. <i>Chromosomal microarray</i> )
CNV	varijacije u broju kopija (prema engl. <i>Copy number variations</i> )
DGS	DiGeorgeov sindrom
DNA	deoksiribonukleinska kiselina (prema engl. <i>deoxyribonucleic acid</i> )
FISH	fluorescentna <i>in situ</i> hibridizacija
kb	kilobaza
Mb	megabaza
MLPA	metoda višestrukog umnažanja vezanih sonda (prema engl. <i>Multiplex ligation - dependent probe amplification</i> )
MMS	mikrodelecijski i mikroduplikacijski sindromi
NAHR	nealelnom homolognom rekombinacijom (prema engl. <i>Non - allelic homologous recombination</i> )
NGS	sekvencioniranje sljedeće generacije (prema engl. <i>Next genome sequencing</i> )



OMIM	McKusickov katalog mendelijeviskih nasljednih bolesti (prema engl. <i>Online Mendelian Inheritance in Man</i> )
PWS	Prader - Willijev sindrom
RNA	ribonukleinska kiselina (prema engl. <i>ribonucleic acid</i> )
SD	segmentalna duplikacija
SNP	polimorfizam jednog nukleotida (engl. <i>single nucleotide polymorphism</i> )
UPD	uniparentna disomija
VOUS	varijanta nepoznatog kliničkog značenja (engl. <i>Variants of uncertain clinical significance</i> )
VSD	ventrikularni septalni defekt
WHS	Wolf - Hirschhornov sindrom

## 1. UVOD

### 1.1. Kromosomske aberacije

Sposobnost reprodukcije temeljno je svojstvo svih živih bića. Svi organizmi nasljeđuju od svojih roditelja genetičku informaciju koja određuje njihovu funkciju i strukturu. Deoksiribonukleinska kiselina (DNA) je genetički materijal stanice, sadržan u kromosomima unutar stanične jezgre i mitohondrija te je nositelj genetičke informacije (1). Gen je osnovna jedinica nasljeđa, a to je segment DNA koji sadrži sve informacije potrebne za sintezu polipeptida (proteina). Sinteza proteina, savijanje te terciarna i kvartarna struktura u konačnici određuju veći dio strukture i funkcije tijela (2). Riječ kromosom dolazi od dviju grčkih riječi i to *chromo* što znači boja i *soma* što znači tijelo (3). Većina kromosoma ima dva segmenta odvojena centromerom koji se nazivaju "ruke". Kratki krak, koji je gornja polovica kromosoma, naziva se "p krak" od francuske riječi „petit“ što znači malen, a duga ruka, koja je donja polovica kromosoma, je "q krak". 1952 godine, godinu dana prije nego su James Watson i Francis Crick objavili rad o strukturi DNA, smatralo se da čovjek ima 48 kromosoma, a 1956 godine točan broj ljudskih kromosoma je utvrđen kao 46 (4). Jedan set od 23 kromosoma nasljeđuje se od biološke majke, a drugi set od biološkog oca (5).

Kromosomske aberacije mogu biti numeričke ili strukturne (6). Numerička aberacija može biti dobitak jednog ili više genskog seta što se naziva poliploidijom ili nedostajanje jednog kromosoma iz para ili višak kromosoma u paru što se naziva aneuploidijom. Gubitak samo jednog kromosoma naziva se monosomija. Jedina monosomija spojiva sa životom je Turnerov sindrom (45, X). Trisomija označava prisutnost jednog dodatnog kromosoma. Najznačajnije trisomije su Downov sindrom (47, XX, +21 ili 47, XY, +21), Patauov sindrom (47, XX, +13 ili 47, XY, +13) te Edwardsov sindrom (47, XX, +18 ili 47, XY, +18) (3). Numeričke aberacije predstavljaju značajan udio kromosomskih promjena pronađenih u ljudi i predstavljaju značajan uzrok gubitka trudnoće, kao i abnormalnosti pronađene kod živorođene djece. Ove aberacije mogu nastati kao posljedica defekta segregacije kromosoma tijekom stanične diobe (7). Strukturna abnormalnost znači da je struktura kromosoma promijenjena na jedan od nekoliko načina. Delecije nastaju kada se kromosom slomi i dio genetičkog materijala se izgubi. Duplikacije nastaju kada je dio kromosoma abnormalno kopiran (dupliciran). Ova vrsta kromosomske promjene rezultira dodatnim kopijama genetskog materijala iz dupliciranog segmenta. Translokacije nastaju kad se dio jednog kromosoma prenosi na drugi kromosom (8). Postoje dvije glavne vrste translokacije, recipročna translokacija i

Robertsonova translokacija. Inverzije označavaju da se dio kromosoma odlomio, okrenuo naopako i ponovno spojio. Kao rezultat toga, genetički materijal je obrnut. Prstenovi nastaju kad se dio kromosoma odlomi i formira krug ili prsten. To se može dogoditi s ili bez gubitka genetičkog materijala (5).

U medicinskoj genetici bolesti se klasificiraju prema prirodi temeljnog genskog defekta. Klasifikacija je "gensko - centrična" i "faktor - centrična". Bolest se stoga može označiti kao monogenska, oligogenska ili poligenetska/multifaktorska. Kromosomske bolesti/sindromi i abnormalnosti nastaju različitim mehanizmima formiranja i istovremeno obuhvaćaju nekoliko stotina ko - lokaliziranih gena (9). Svaka je bolest u određenoj mjeri i nasljeđena i stečena. Klinička slika svake bolesti u određenoga pojedinca rezultat je uskog prepletanja genskoga koda i svih stečenih utjecaja kojima je bio izložen odnosno epigenetičkim promjenama (6).

## 1.2. Mikrodelecijski i mikroduplikacijski sindromi

U posljednjih nekoliko godina uspostavljena je uzročna veza između delecije vrlo malih dijelova kromosoma odnosno mikrodelecija i klinički prepoznatljivih sindroma zahvaljujući napretku citogenetičkih tehnika (6). Mikrodelecijski sindromi (MS) heterogena su skupina genetičkih bolesti koje mogu utjecati na sve funkcije, organe i fenotip oboljelih (10). Mikrodelecije su većinom spontane i javljaju se u otprilike 5 % bolesnika s neobjašnjivom mentalnom retardacijom (11).

Fenotip mikrodelecijskih sindroma karakteriziran je varijabilnom kliničkom slikom i bizarnim skupom simptoma što ukazuje na mutacije nekoliko pojedinačnih gena čiji ispadi sami za sebe uzrokuju od prije poznate monogenske nasljedne bolesti i anomalije. Stoga je pretpostavka da su geni zahvaćeni mikrodelecijom smješteni blizu jedan drugoga na kromosomu te se može govoriti o sindromima susjednih gena (CGS, prema engl. *Contiguous gene syndrome*) (6). Pojam sindrom susjednih gena opisuje skupinu poremećaja u kojima mala delecija ili dupliciranje genskog materijala koji sadrži više gena uzrokuje prepoznatljiv fenotip (12). Izvorno se smatralo da CGS - ovi imaju kritična područja dva ili više gena, smještena u neposrednoj blizini jedan drugom. U međuvremenu, za neke od ovih sindroma poznato je da mnogi geni mogu biti uključeni u obično dupliciranu ili deletiranu regiju, ali samo je jedan od njih osjetljiv na količinu gena i uzrokuje specifične kliničke znakove (13).

Budući da je molekularna kariotipizacija (CMA, prema engl. *Chromosomal microarray*) postala genetički test prve razine za pacijente sa višestrukim kongenitalnim anomalijama,

intelektualnim teškoćama i poremećajima iz autističnog spektra, identificirano je više ovakvih sindroma (12).

Najčešći mikrodelecijski sindromi su DiGeorgeov sindrom (22q11.2), Prader - Willijev sindrom, Angelmanov sindrom (15q11 - 13), Williamsov sindrom (7q11.23), Wolf - Hirschhornov sindrom (4p16.3), Smith - Magenisov (17p11.2), Cri - du - Chat (5p15.2), Miller - Diekerov sindrom (17p13.3) te WAGR (Wilmsov tumor, aniridija, genitourinarne anomalije i mentalna retardacija (11p13)) (14).

Mikrodelecijski sindromi razlikuju se od kromosomskih delecija po tome što su kromosomske delecije vidljive na kariotipizaciji zbog svoje veće veličine (obično > 5 MB), dok mikrodelecije uključuju manje segmente (obično od 1 do 3 MB) i mogu se otkriti pomoću fluorescentne in situ hibridizacije (FISH, prema engl. *fluorescent in situ hybridization*) i CMA. Određeni segment gena može se deletirati i duplicirati te se onda naziva recipročna duplikacija (15). Mikrodelecije mogu nastati unutar kromosoma pa govorimo o intersticijskim mikrodelecijama ili na krajevima kromosoma te onda govorimo o telomernim mikrodelecijama (16). Još uvijek je nejasan značaj mnogih mikroduplikacija. Klinički učinci mikroskopskih recipročnih duplikacija obično su slični, ali manje ozbiljni od onih delecija koje uključuju isti segment (15).

Kromosomske mikrodelecije i mikroduplikacije čine dio varijacija u broju kopija (CNV, prema engl. *Copy number variations*). CNV se definiraju kao dobitak ili gubitak dijela DNA u usporedbi s referentnim ljudskim genomom. CNV mogu uključivati više, jedan ili nijedan gen, i iako neki CNV uzrokuju bolest, mnoge druge ostaju benigne varijante unutar populacije. Mogu biti nasljeđene ili nastati de novo (17). CNV važne su genomske strukturne varijacije, koje su široko rasprostranjene u ljudskom genomu i uzrokuju niz složenih bolesti poput Crohnove bolesti, ankilozantnog spondilitisa, Alzheimerove bolesti, autizma i drugih (18). Postoje dvije glavne klase CNV - a: rekurentni i neponovljivi. Rekurentni CNV općenito nastaju nealelnom homolognom rekombinacijom (NAHR, prema engl. *Non - allelic homologous recombination*) tijekom mejoze, s točkama prekida u velikim dupliciranim blokovima sekvence koje okružuju genski segment (17). Delecije i duplikacije posredovane NAHR - om idealne su za korelacije genotip - fenotip jer imaju ponavljajuće granične točke u nepovezanih osoba (19). Nasuprot tome, neponovljivi CNV - ovi imaju granične točke koje općenito leže unutar jedinstvenog slijeda i ne proizlaze iz predisponirajuće genomske arhitekture. Neponavljajući CNV - ovi mogu nastati pomoću nekoliko različitih mehanizama, uključujući nehomologno spajanje krajeva. Kao rezultat toga, iako dvije nepovezane osobe

moгу imati preklapajuće neponovljive CNV - ove, malo je vjerojatno da će dijeliti iste granične točke (17).

Kongenitalne razvojne anomalije i poremećaji u razvoju često su uzrokovani rekurentnim, recipročnim mikrolecijama i mikroduplikacijama (20). Segmentalne duplikacije (SD) su regije veće od 1000 bp koje imaju dvije ili više kopija u genomu s  $\geq 90$  % identičnosti sekvence i čine  $\sim 5$  % ljudskog genoma. Duljina i visoka sličnost sekvenci segmentalnih duplikacija čine ih izvrsnim supstratom za NAHR, koja se događa između vrlo identičnih paralognih kopija SD - a. S obzirom da je riječ o vrlo nestabilnoj genomskoj arhitekturi mogu nastati različiti oblici strukturnih varijacija uključujući inverzije, mikrolecije i mikroduplikacije (21). Mehanizam formiranja CNV - a posredovanog NAHR - om *in vivo* uključuje pogrešno uparivanje bočnih SD, što može rezultirati ili gubitkom ili dobrotkom segmenta (22). SD su stoga žarišta genomskih preuređivanja i složenih strukturnih varijacija, od kojih neke uzrokuju genomske poremećaje uzrokovane CNV - ovima gena osjetljivih na količinu ili poremećaje razvojno važnih gena (23).

Iako su napravljene neke CNV karte i baze podataka i za zdrave osobe (npr. DGV) i za pogođene pacijente (npr. DECIPHER) još uvijek je veliki izazov procijeniti klinički učinak CNV - a (24, 25). Američki koledž za medicinsku genetiku i genomiku predstavio je smjernice za tumačenje CNV - a i preporučio korištenje specifične standardne terminologije: "patogeni", "vjerojatno patogeni", "nesigurni značaj", "vjerojatno benigni" i "benigni" (26). Otprilike 15 - 20 % djece upućene na CMA analizu ima klinički relevantan CNV koji u mnogim slučajevima objašnjava njihov fenotip. Međutim, za gotovo sve patogene CNV postoji niz fenotipskih ishoda odnosno varijabilne ekspresivnosti (19).

### **1.3 Epigenetički mehanizmi povezani s mikrolecijskim i mikroduplikacijskim sindromima**

Fertilizacijom zigota nasljeđuje dvije kopije gena - jednu od majke i jednu od oca. Obično su obje kopije svakog gena aktivne ili "uključene" u stanicama. Od procijenjenoga broja gena od oko 20 000 smatra se da je otprilike 150 gena haplozigotno prikazano u genomu i da ih se većina nalazi na X kromosomu. U ovome slučaju uključena je samo jedna od dvije kopije, a druga je utišana. Koja je kopija aktivna, a koja utišana ovisi o roditeljskom porijeklu. Neki geni su normalno aktivni samo kada su naslijeđeni od oca, a neki su aktivni samo kada su naslijeđeni od majke. Ovaj fenomen je poznat kao genomsko utiskivanje (27, 28). Budući da su utisnuti geni, zapravo, funkcionalno haploidni, gube zaštitu koju diploidna stanica pruža od

štetnih mutacija (29). Osim prenatalne ekspresije, može se dogoditi i postnatalno utiskivanje gena, uglavnom u mozgu, što vjerojatno utječe na osobno ponašanje, kognitivne i emocionalne karakteristike (30). Genomsko utiskivanje je epigenetički proces u kojem se odvija metilacija citozina u CpG otocima DNA molekule. Sama metilacija označava utišavanje gena odnosno njegovu inaktivaciju dok demetilacija gena aktivira gen. Ostale epigenetičke promjene uključene u genomski utisak su i modifikacija histona, fosforilacija, ubikvitinacija, acetilacija i drugi. Epigenetika se odnosi na nasljedne reverzibilne promjene u ekspresiji gena bez promjena u sekvenci DNA. Epigenetičke modifikacije igraju glavnu ulogu u razlikama ekspresije gena specifičnim za tkivo i tip stanica (31). U humanoj genetici najprepoznatljiviji epigenetički fenomen je lajonizacija X kromosoma i ekspresija gena ovisna o roditeljskome porijeklu koju pronalazimo u Prader - Willijevu i Angelmanovu sindromu te Russell - Silverovu i Beckwith - Wiedemannovu sindromu (3).

Većina pojedinaca s 22q11.2 del ima mikrodeleciju veličine 3 MB na kromosomu 22 što dovodi do haploinsuficijencije otprilike 106 gena u koje spadaju protein kodirajući geni, pseudogeni, nekodirajuća ribonukleinska kiselina (RNA), mikro RNA, duge nekodirajuće RNA. Ipak, haploinsuficijencija ovih gena ne objašnjava heterogenu penetraciju i ozbiljnost kliničkih fenotipova koji se razlikuju od pacijenta do pacijenta. Razlike su zabilježene i među članovima obitelji s istom mutacijom u *TBX1* genu koji je većinski odgovoran za kliničku sliku i u genetički identičnim sojevima miševa koji se koriste kao modeli za proučavanje sindroma 22q11.2 del. Stoga genetičke i epigenetičke promjene, unutar i izvan kromosoma 22q11.2, mogu dramatično utjecati na kliničke fenotipove 22q11.2 del. Epigenetičke promjene utječu na ekspresiju gena pa tako velika količina retinoične kiseline korištene u trudnoći dovodi do sličnih kliničkih fenotipova kao 22q11.2 del, vjerojatno zbog svoje sposobnosti da smanji ekspresiju različitih članova obitelji TBX uključujući *TBX1* gen. Također epigenetička regulacija genske ekspresije preko miRNA vezana za gen *DGCR8* može dovesti do 22q11.2 del sličnog sindroma (32).

Pokazalo se da CNV događaji u regiji 7q11.23 utječu i na transkripciju gena i na metilaciju DNA u cijelom genomu. Analiza transkriptoma različitih tipova stanica omogućena je sposobnošću reprogramiranja somatskih stanica u inducirane pluripotentne matične stanice (iPSC, prema engl. *Induced pluripotent stem cells*) i usmjeravanja prema specifičnim staničnim linijama. Na primjer, kortikalni neuroni dobiveni iz iPSC - a od osoba s Williamsovim sindromom (WS) pokazuju smanjenu ekspresiju gena uključenih u aktivnost receptora neurotransmitera i komplekse kalijevih kanala (33). Usporedba ekspresije gena u WS iPSC - ima s onima kod pojedinaca sa sindromom duplikacije 7q11.23 otkrila je da mnogi različito

ekspimirani geni imaju simetrično suprotan obrazac ekspresije (34). Sličan simetričan genski ovisan obrazac o dozi uočen je u analizi metilacije DNA u krvi osoba s WS (7q11.23 delecija) i onih sa sindromom duplikacije 7q11.2370, što sugerira da CNV u ovom području utječu na epigenetičku regulaciju genoma (33).

#### 1.4. Klinički simptomi u sindromske djece

Pedijatri veliku pozornost pridodaju kliničkim obrascima razvojnih zaostajanja uključujući intelektualno zaostajanje, zaostajanje u razvoju, poremećajima iz autističnog spektra, shizofrenija, dismorfični elementi, poremećaj s nedostatkom pažnje i hiperaktivnošću (ADHD, prema engl. *Attention deficit hyperactivity disorder*) napadajima i nizu drugih neurorazvojnih problema te kongenitalnim anomalijama. Kromosomske mikrodelecije i mikroduplikacije često mogu biti temeljna etiologija ovih poremećaja stoga se CMA preporučuje u smjernicama za postavljanje dijagnoze (35).

Od genetičkih uzroka iza strukturnih kromosomskih aberacija mikrodelecijski sindromi najčešći su uzrok mentalnoga zaostajanja u djece s udjelom od 5.3 % (36). Intelektualna nesposobnost je razvojni poremećaj koji uglavnom utječe na kognitivno funkcioniranje. Prema smjernicama Američkog udruženja za intelektualne i razvojne teškoće karakteriziraju ga značajni cjeloživotni razvojni deficiti u područjima koja su odgovorna za učenje, rješavanje problema, razvoj adaptivnih vještina i neovisnost, općenito s početkom prije 18. godine života (37).

Dismorfologija se definira kao analiza humanih fenotipova i malformacija. Dismorfne značajke su one koje se uočavaju u manje od 5 % populacije i razvijaju se putem jednog od tri mehanizma: malformacija, deformacija i dizrupcija. Malformacija se opisuje kao strukturni defekt koji nastaje nepravilnim razvojnim procesom, dok je deformacija atipična struktura koja se razvija kao posljedica nenormalnih mehaničkih utjecaja na inače normalnu strukturu. Dizrupcija nastaje kao rezultat utjecaja vanjskoga čimbenika koji ometa normalni razvojni proces (3). Dismorfne značajke mogu se dalje podijeliti na male i velike anomalije. Velike anomalije su one koje drastično mijenjaju fizički izgled i funkciju pacijenta i stoga su vidljive po rođenju. One uključuje orofacijalne rascjep kao što su rascjep usne i rascjep nepca, defekte neuralne cijevi kao što je anencefalija (odsutnost moždanih hemisfera mozga) i spina bifida (abnormalnost kralježnice) kao i nedostatke i malformacije udova. Male anomalije nemaju značaja za funkcionalne ili fizičke aspekte pogođenih pojedinaca. One uključuju opise kraniofacijalnih značajki kao što su oči (oblik, udaljenost, položaj), usta (rascjep usne / nepca),

čeljust (veličina i izgled), izgled vrata, izgled i oblik nosa, filtrum, oblik usana (debele, mesnate, tanke, spuštene usni kutovi), kakva je denticija, područje trupa (skolioza), genitalije (strukture) i ekstremiteta (opseg pokreta i broj prstiju, brazde) (38). Izvješća su dokumentirala da otprilike 70 % malih anomalija postoji unutar glave, lica i ruku. Djeca za koje je otkriveno da posjeduju dismorfne značajke često će posjedovati karakterističan raspored manjih anomalija koje generiraju fenotip koji odstupa od onoga što se smatra standardnim (39).

I povećana i smanjena antropometrijska obilježja povezana su s više genetičkih i negenetičkih etiologija. Fetalna makrosomija može se definirati kao porođajna težina veća od 4000 grama ili više od dvije standardne devijacije iznad prosjeka referentne populacije, dok se ograničenje fetalnog rasta definira kao porođajna težina manja od dvije standardne devijacije ispod srednje vrijednosti za gestacijsku dob u referentnoj populaciji. Diferencijalne dijagnoze i za fetalnu makrosomiju i za restrikciju fetalnog rasta su široke i uključuju kromosomske abnormalnosti i teratogenu izloženost. Kromosomske abnormalnosti imaju različite fenotipove ovisno o veličini zahvaćenog kromosomskog segmenta i pojedinačnim genima u tom segmentu te ih uvijek treba imati na umu (40).

Kongenitalna srčana bolest (CHD, prema engl. *Congenital heart defects*) najčešća je velika kongenitalna anomalija koju vide neonatolozi i glavni je uzrok neonatalnog morbiditeta i smrtnosti. Postoji više etiologija za CHD. Smatra se da je izolirana CHD rezultat multifaktorskog nasljeđa s genetičkim i okolišnim čimbenicima koji pridonose malformaciji. Genetičke etiologije su značajni uzroci CHD i uključuju trisomije, Turnerov sindrom, kromosomske mikrolelecije i/ili duplikacije te poremećaje jednog gena (40). Iako niti jedan srčani defekt nije patognomoničan za određeni genetski sindrom, postoje određeni srčani defekti koji su češći u specifičnim sindromima. Na primjer, delecija 22q11 prisutna je u oko 50 - 90 % novorođenčadi s prekinutim lukom aorte, ali je također prisutna u novorođenčadi s tetralogijom Fallot i ventrikularnim septalnim defektom (41).

## 1.5. Najčešći mikrolelecijski sindromi

### DiGeorgeov sindrom

DiGeorgeov sindrom (DGS) (OMIM#188400) je poremećaj varijacije broja kopija sa širokim fenotipskim prikazom, koji je rezultat heterozigotne mikrolelecije na položaju 11.2 na q kraku ljudskog kromosoma 22 (42). Veličina mikrolelecije je u rasponu od 1.5 do 3 MB (43). Mikrolelecija 22q11.2 najčešći je mikrolelecijski sindrom sa procijenjenom stopom od



1 na 4000 do 6000 živorođene djece. (44). Ustanovljen je postroj od 36 protein kodirajućih lokusa u 1.5 MB minimalnoj kritičnoj izbrisanoj regiji te još 20 protein kodirajućih lokusa u daljnjih 1.5 MB koji su odgovorni za kliničku sliku (42). Haploinsuficijencija *TBX1* gena (OMIM\*602054) posebno je odgovorna za većinu fizičkih malformacija (43).

Klinički nalaz može uključivati CHD, posebno konotrunkalne malformacije, tetralogiju Fallot i abnormalnosti luka aorte, ali i abnormalnosti nepca (rascjepi i velofaringealna malformacija). Čest je hipoparatiroidizam, bubrežne i/ili skeletne anomalije (32). Sindrom je klasično povezan s različitim stupnjevima limfopenije T stanica i disfunkcije zbog aplazije ili hipoplazije timusa. Osim toga, može biti prisutna facijalna dismorfija, uključujući hipertelorizam, preklopljene uši, gomoljast vrh nosa, mala usta i mikrognatija. Teška ili duboka mentalna retardacija nije zabilježena, a jedna trećina bolesnika funkcionira unutar prosječnog raspona. Zabilježeni su poremećaji ponašanja i psihijatrijski poremećaji (45).

### **Williams - Beurenov sindrom**

Williams - Beurenov sindrom (WBS) (OMIM#194050) je multisistemski poremećaj uzrokovan hemizigotnom delecijom od 1,5 do 1,8 Mb na kromosomu 7q11.23, koji sadrži približno 28 gena (46). WBS prvi je put okarakteriziran kao sindrom s dismorfničkim crtama lica, supralvalvularnom aortalnom stenozom i kognitivnim oštećenjem ranih 1960-ih. WBS je jedan od uobičajenih sindroma mikrodelecije koji se javlja u otprilike 1 : 10 000 osoba (47). Osobe s WBS - om prisutne su s intelektualnim teškoćama, hipersocijalnim ponašanjem, prepoznatljivim dismorfijama lica, kardiovaskularnim bolestima (supralvalvularna aortna stenoza i periferna plućna stenoza), niskim rastom, anomalijama vezivnog tkiva i endokrinim abnormalnostima kao što je hiperkalcemija (48). Kardiovaskularne abnormalnosti prisutne su u 80 % bolesnika s Williamsovom sindromom i vodeći su uzrok morbiditeta i smrtnosti (47). Dismorfije lica uključuju široko čelo, bitemporalno suženje, periorbitalnu punoću, zvjezdasti izgled šarenice, kratak nos, dugi filtrum, debelu gornju i donju usnicu, široka usta i velike ušne školjke (48). Delecija koja uključuje 7q11.23 regiju i rezultira hemizigotnošću gena za elastin te obuhvaća najmanje 114 kb dovodi do Williamsovog sindroma dok delecija ograničena na gen za elastin (*ELN*, OMIM\*130160) rezultiraju supralvalvularnom aortalnom stenozom (49).

### **Prader - Willijev sindrom**

Prader - Willijev sindrom (PWS) (OMIM#176270) je rijedak složeni multisistemski genski poremećaj koji je prepoznat kao najčešći genetički uzrok pretilosti opasne po život u ljudi. PWS proizlazi iz pogrešaka genomskog otiskivanja s nedostatkom ekspresije očeve

naslijeđenih utisnutih gena u regiji kromosoma 15q11 - q13 ili delecijom očevih gena u navedenoj regiji ili majčinom uniparentalnom disomijom 15 u kojoj su oba kromosoma 15 naslijeđena od majke (50). Vrlo rijetko može nastati translokacijom sa točkom loma u kritičnoj PWS regiji. Promjene koje utječu na gene povezane s PWS - om mogu uključivati promjene u strukturi gena (genski čimbenici) ili promjene u funkciji ili ekspresiji gena (epigenetika) (51). Ovaj mikrodelecijski sindrom ima procijenjenu prevalenciju koja se kreće između 1 / 10 000 – 1 / 30 000 (52).

Prader - Willijev sindrom karakteriziraju smanjena fetalna aktivnost, pretilost, mentalna retardacija, mišićna hipotonija, hipogonadotropni hipogonadizam, intrauterini zastoje u rastu, male šake i stopala, adrenalna insuficijencija (53). Hiperfagija i pretilost s povezanim komplikacijama glavni su uzroci morbiditeta i smrtnosti kod PWS (50). Karakteristične fenotipske značajke kod većine, ali ne svih pacijenata s PWS – om uključuju nizak rast, sedlast korijen nosa, oči bademastoga oblika, tanka gornja usna, uski bifrontalni promjer, skolioza, gusta pljuvačka, suha usta, hipopigmentacija te dolichocefalija (54).

### **Angelmanov sindrom**

Angelmanov sindrom (AS) (OMIM#105830) je neurorazvojni poremećaj karakteriziran teškim kognitivnim invaliditetom, motoričkom disfunkcijom, oštećenjem govora, hiperaktivnošću i čestim napadajima (55). Prevalencija AS procjenjuje se od 1 / 10 000 do 1 / 20 000 diljem svijeta (56). Otprilike 70 % slučajeva AS rezultat je de novo mikrodelecija kromosoma porijeklom od majke koje uključuju regiju 15q11.2 - q13. Oko 2 % rezultat je očeve uniparentalne disomije 15q11.2 - q13; a u 2 do 3 % slučajeva rezultat je pogreške u genskome utisku. Preostalih 25 % uzrokovano je mutacijama u genu koji kodira gen ubikvitin - proteinske ligaze *E3A* (57).

Manjak *UBE3A* gena u ranoj neuronskoj morfogenezi dovodi do deficita u aksonskom neuronskome navođenju što rezultira poremećajem neuronske povezanosti i plastičnosti mozga te sinaptogeneze. Važno je da je točna razina *UBE3A* u mozgu ključna: njegov nedostatak dovodi do Angelmanovog sindroma, dok njegovo povećanje može uzrokovati nesindromski poremećaj autističnog spektra i Dup15q sindrom (OMIM# 608636). AS i Dup15q pokazuju fenotipsko preklapanje karakterizirano autističnim značajkama, intelektualnim nedostatkom, motoričkim deficitom, odsutnošću/kašnjenjem govora i epileptičkim napadajima (58). Obično deletirana regija u AS, 15q11 - q13, sadrži gene koji kodiraju različite podjedinice GABA receptora ( $\alpha 5$ ,  $\beta 3$  i  $\gamma 3$ ) i stoga mogu ukazivati na poremećaj GABA - ergične neurotransmisije u AS koja rezultira epilepsijom koja je prisutna u otprilike 80 - 90 % pacijenata (59). Kliničke

značajke mogu uključivati mikrocefaliju, dizmorfične crte lica, abnormalnosti nepca te abnormalan položaj ušiju, široko čelo, poremećaje ponašanja, zaostajanje u razvoju te kašnjenje govora i motorike (60).

### **Wolf - Hirschhornov sindrom**

Wolf - Hirschhornov sindrom (WHS) (OMIM#194190) je mikrodelecijski sindrom uzrokovan hemizigotnom delecijom kratkog kraka kromosoma 4 regije 4p16.3 (61). Procijenjena prevalencija je od 1 / 20 000 - 50 000 te se češće javlja u žena nego u muškaraca s omjerom 2 : 1 (62).

Wolf - Hirschhornov sindrom je sindrom kongenitalne malformacije karakteriziran pre- i postnatalnim zastojem rasta, smetnjama u razvoju promjenjivog stupnja, napadajima te karakterističnim dizmorfijama lica kao što su izgled glave poput 'grčke ratničke kacige', visoko čelo, istaknuta glabela, hipertelorizam, visoko zakrivljene obrve, izbočene oči, epikantalni nabori, kratak filtrum nosa, izrazita usta sa spuštenim usnim kutovima i mikrognatija (61). Postoje uvjerljivi klinički dokazi da je patogeneza WHS multigena. Fenotip WHS nastaje zbog haploinsuficijencije nekoliko usko povezanih gena. Ovo gledište sada je jasno potkrijepljeno prepoznavanjem brojnih pojedinaca koji nose patogenu varijantu *NSD2* uslijed gubitka funkcije i patogenu varijantu *CTBP1*, što uzrokuje veći dio temeljnog fenotipa sindroma (63).

### **Cri du chat sindrom**

Cri du Chat sindrom (OMIM#123450) rijetka je genetička bolest uzrokovana potpunom ili djelomičnom delecijom na kratkom kraku kromosoma 5 (5p - ). Klinička slika, težina i napredovanje bolesti varira ovisno o regiji kromosoma koja je deletirana. 88 % do 90 % slučajeva rezultat je terminalnih delecija kromosoma 5, a 3 % do 5 % slučajeva je zbog intersticijske delecije (64). Delecija regije 5p15.3 uzrokuje karakterističan plač nalik mačjem, a delecija regije 5p15.2 odgovorna je za ostale fenotipske karakteristike sindroma (65). Prevalencija sindroma pri rođenju kreće se od 1 / 15 000 do 1 / 45 000, pri čemu su žene nešto više pogođene nego muškarci (66). Cri – du - chat sindrom je u male djece karakteriziran facijalnim dizmorfijama i to mikrocefalijom, okruglim licem, hipertelorizmom, mikrognatijom, epikantalnim naborima, hipotonijom i teškom psihomotornom i mentalnom zaostalošću (67). Naziv sindroma znači mačji plač uslijed glavnog kliničkog nalaza visokotonskog, monokromatskog plača nalik na mijaukanje mačke (68). Uzrok karakteristične boje i intonacije plača su hipoplastične laringelane hrskavice.

## 1.6. Molekularno - citogenetičke tehnike u detekciji mikrodelecijskih i mikroduplicacijskih sindroma

Kroz povijest postavljanje dijagnoze genetičkih sindroma išlo je od fenotipa ka genotipu. Napretkom citogenetičkih analiza ušli smo u eru "obrnute genetike" gdje idemo od genotipa ka fenotipu. Ovaj pristup se pokazao uspješnim s obzirom na rastući popis mikroduplicacijskih i mikrodelecijskih sindroma (69).

Otkrivanje specifičnih genskih sekvenci na kromosomu, ili njihove prisutnosti ili odsutnosti, središnja je uloga citogenetičke tehnike u dijagnosticiranju genetskog poremećaja. Među alatima citogenetskih tehnika, ranih 1980 - ih razvijena je FISH metoda. Primjena FISH testa je u porastu od 1990 - ih, a temelji se na korištenju fluorescentnih sonda do 200 kb koje su komplementarne DNA sekvenci koja se cilja (70). FISH paneli zahtijevaju a priori znanje i teško je detektirati sve uobičajene mikrodelecije i mikroduplicacije. Na primjer, ako je liječnik posumnjao da pacijent ima Prader - Willijev sindrom, treba provesti FISH test kako bi se utvrdilo je li prisutna uzročna delecija 15q11 - q13 (71). Neki mikrodelecijski sindromi mogu se otkriti i metodom višestrukog umnažanja vezanih sonda (MLPA, prema engl. *Multiplex ligation - dependent probe amplification*), ali zbog niske osjetljivosti promjena koja je pronađena mora se potvrditi nekom drugom metodom ili s FISH - om ili CMA. MLPA metoda ne zasniva se na umnažanju testirane DNK kao što je to inače slučaj nego na amplificiranju probe koja je dodana uzorku, a sama aplikacija ovisi o prisutnosti komplementarne DNK sekvence u uzorku (72). Točno otkrivanje CNV - a u ljudskom genomu važan je korak u analizi bolesti. Više od desetljeća, CNV analiza CMA - jom široko se provodi u klinici za otkrivanje genomske neravnoteže u mnogo višoj razlučivosti od konvencionalnih citogenetskih metoda (npr. standardna kariotipizacija) (73). Postoje dvije CMA tehnike koje se koriste za identifikaciju submikroskopskih neravnoteža: komparativna genomska hibridizacija (CGH, prema engl. *Comparative genomic hybridization*) i polimorfizmi jednog nukleotida (SNP, prema engl. *single nucleotide polymorphism*) (74).

Niti CGH niti molekularna kariotipizacija polimorfizma jednog nukleotida ne omogućuju najtočnije određivanje obrazaca ekspresije gena putem CNV - a. Međutim, tehnike sekvenciranja sljedeće generacije uvele su nove mogućnosti za točnu identifikaciju CNV - a s visokom učinkovitošću, niskom cijenom i velikom propusnošću (18).

## 2. CILJEVI RADA

Ciljevi istraživanja su:

1. Ispitati dinamiku pojavnosti mikrodelecijских/mikroduplicacijskih sindroma u dječjoj dobi u razdoblju od jedanaest godina (siječanj 2011. - prosinac 2021. godine)
2. Ispitati obilježja rodoslovnog stabla i prenatalne rizike za razvoj mikrodelecijских/mikroduplicacijskih sindroma u dječjoj dobi (obiteljska anamneza, dob roditelja, uzimanje farmakoterapije za liječenje pridruženih bolesti, antropometrijska obilježja kod poroda, vitalnost - apgar score, rani perinatalni ishod)
3. Ispitati klinička (rast, razvoj, kognitivna obilježja) i fenotipska obilježja djece sa mikrodelecijским/mikroduplicacijskim sindromima
4. Ispitati pronađene genetičke promjene u djece sa mikrodelecijским/mikroduplicacijskim sindromima.

### 3. ISPITANICI I METODE

#### 3.1. Ustroj studije

Presječna studija s povijesnim podacima.

#### 3.2. Ispitanici

Istraživanje je provedeno kod djece koja se liječe i kontroliraju u Ambulanti medicinske genetike i bolesti metabolizma Klinike za pedijatriju KBC - a Osijek u jedanaestogodišnjem razdoblju (siječanj 2011. do prosinac 2021. godine). U istraživanje su uključena sva djeca kojima je potvrđen ili mikrodelecijski ili mikroduplicacijski sindrom ili njihova kombinacija. Prikupljeni broj ispitanika je 31.

#### 3.3. Metode

Podatci su prikupljeni iz medicinske dokumentacije i bolničkog informacijskog sustava BIS za svakog pojedinog ispitanika.

Prikupljali su se:

Osnovni demografski podaci o majci i trudnoći (obiteljsko stablo, roditeljska dob, paritet, mjesto prebivališta, tijek trudnoće, komorbiditeti, komplikacije, način poroda) te o djetetu (gestacijska dob, spol, težina, APGAR score).

Predisponirajući prenatalni čimbenici rizika vezani uz majku:

1. Kronične bolesti majke (epilepsija, hipertenzija, šećerna bolest,...)
2. Gestacijske bolesti majke (gestacijska hipotireoza, gestacijska šećerna bolest, gestacijska hipertenzija).

Perinatalni čimbenici rizika:

1. Intrauterini zastoj rasta
2. Asfiksija
3. Intrakranijalno krvarenje
4. Prijevremeno prsnuće plodovih ovoja
5. Način dovršenja poroda
6. Abrupcija posteljice
7. Oligohidramnion/polihidramnion
8. Uzimanje lijekova u trudnoći

Najučestalije fenotipske dismorfije:

1. Makrocefalija/mikrocefalija
2. Oblik nosa
3. Malformacije uške
4. Oblik usana
5. Oblik brade
6. Oblik očiju
7. Rascjep usne i nepca
8. Anomalije šake i stopala

Kliničke karakteristike djece s mikrodelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima

1. Kongenitalna srčana greška
2. Epilepsija
3. Anomalije mokraćnog sustava
4. Anomalije mozga
5. Mentalna zaostalost
6. Psihomotorni razvoj
7. Jezično - govorni razvoj

Podaci o rezultatima genetičkih analiza

1. FISH
2. CMA
3. MLPA

koje su učinjene u Laboratoriju za genetiku Medicinskog fakulteta Osijek, te drugih suradnih laboratorija u Republici Hrvatskoj. Gledana je veličina pogođene regije te patogenost varijante koja je klasificirana kao vjerojatno benigna, vjerojatno patogena, patogena ili varijanta nepoznatog kliničkog utjecaja na kliničku sliku.

### 3.4. Statističke metode

Svi prikupljeni kategorički podaci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama, dok su numerički podaci opisani aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom, odnosno medijanom i interkvartilnim rasponom te dodatno ukupnim rasponom u slučaju kada distribucija varijable ne slijedi Gausovu razdiobu. Za testiranje normalnosti distribucije korišten je Shapiro - Wilksov test.

Za usporedbu kategoričkih podataka između nezavisnih skupina korišten je Hi - kvadrat test te po potrebi Fisherov egzaktni test. Usporedba zavisnih varijabli, ponovljenog mjerenja APGAR scora kod novorođenčadi testirana je neparametrijskim Wilcoxon testom, dok je usporedba nezavisne dvije skupine varijable dob testirana parametrijskim Studentovim T testom.

Statistička analiza je napravljena programskim sustavom MedCalc (inčica 20.11.0, MedCalc Software bvba), uz odabranu razinu značajnosti od  $\alpha = 0,05$  te su sve P vrijednosti dvostrane.



#### 4. REZULTATI

##### 4.1. Demografski podaci i dinamika pojavnosti sindroma u promatranome razdoblju

U istraživanju je sudjelovalo ukupno 31 djeteta s mikroduplicacijskim i mikrodelecijskim sindromima u vremenskom periodu od 2011. godine do 2021. godine u KBC Osijek. Aritmetička sredina starosti djece u trenutku istraživanja iznosila je 6,9 (3,2) godina, te ih je bilo podjednako oba spola (Tablica 1).

**Tablica 1.** Distribucija demografskih parametara

Obilježje	Kategorije	Broj (%)	P*
Spol djeteta	Muško	15 (48,4)	0,90
	Žensko	16 (51,6)	
Prebivalište	Grad	23 (74,2)	<b>0,04</b>
	Selo	8 (25,8)	
Ukupno		31 (100,0)	

\*Hi - kvadrat test ( $\chi^2$ )

Značajno ( $\chi^2$ , P = 0,04) je bilo više djece sa prebivalištem obitelji u gradu (Tablica 1).

U Tablici 2. prikazana je dinamika pojavnosti mikrodelecijjskih/mikroduplicacijskih sindroma u dječjoj dobi po godinama u promatranome razdoblju od jedanaest godina. U prosjeku nešto manje od tri djeteta godišnje ( $31 / 11 = 2,82$ ) se rodi s ovim sindromima, no u promatranome razdoblju nema nekih značajnijih odstupanja u pojedinim godinama, odnosno ne nazire se značajan trend promjena (Tablica 2).

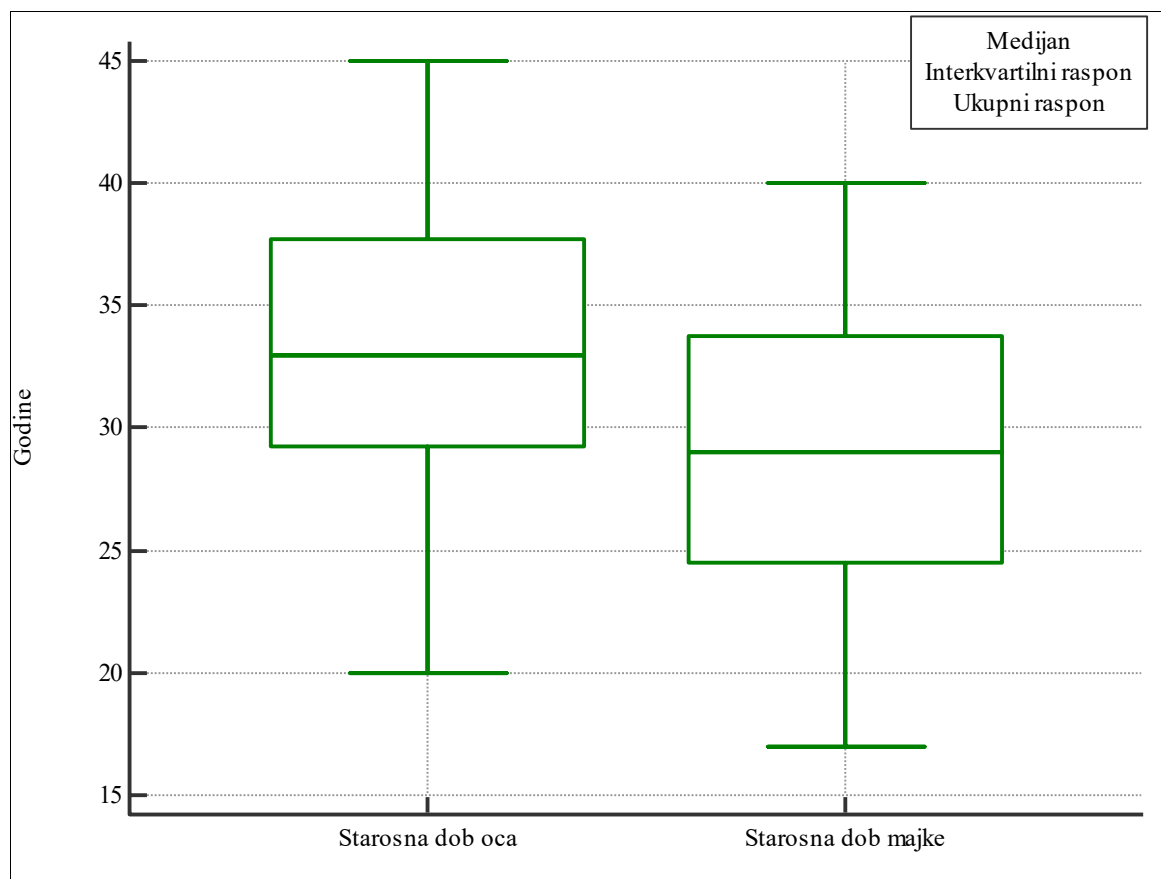
**Tablica 2.** Pojavnost mikrodelecijjskih/mikroduplicacijskih sindroma u razdoblju od siječnja 2011. do prosinca 2021. godine

Godina rođenja	Broj djece	%	P*
2011	6	19,4	0,73
2012	3	9,7	
2013	3	9,7	
2014	1	3,2	
2015	6	19,4	
2016	2	6,5	
2017	3	9,7	
2018	0	0	
2019	4	12,9	
2020	1	3,2	
2021	2	6,5	
Ukupno	31	100,0	

\*Fisherov egzaktni test

#### 4.2. Obilježja rodoslovnog stabla i prenatalnih rizika

Starosna dob oca pri začeću bila je značajno viša (Studentov T test,  $P = 0,01$ ) od starosne dobi majke (Slika 1).



Slika 1. Usporedba distribucija starosne dobi pojedinog roditelja

Skoro svaka treća majka (29,0 %) imala je kronične bolesti od kojih najviše odstupaju epilepsija, hipertenzija i šećerna bolest. Ostala promatrana obilježja su zastupljena u značajno ( $\chi^2$ ,  $P < 0,01$ ) manjem postotku kod pojedinog roditelja. Pozitivna obiteljska anamneza nije bila pozitivna kod značajnog broja pacijenata. Oko četvrtina majki je uzimala lijekove u trudnoći i to prvenstveno za liječenje hipotireoze, anemije, gestacijske hipertenzije i gestacijskog dijabetesa. Manji postotak majki imalo je neke od ostalih čimbenika rizika i to najčešće oligohidramnion/polihidramnion ili abrupciju placente. Otprilike svaki peti otac je imao dijagnosticiranu neku bolest s isticanjem hipertenzije (Tablica 3).

**Tablica 3.** Anamneza obitelji, bolesti roditelja i patologija trudnoće kao rizični čimbenici djece s mikrolepcijskim/mikroduplicacijskim sindromima

<b>Obilježje</b>	<b>Kategorije</b>	<b>Broj (%)</b>	<b>P*</b>
Pozitivna obiteljska anamneza	Da	5 (16,1)	<b>0,004</b>
	Ne	26 (83,9)	
Kronične bolesti majke	Da	9 (29,0)	0,09
	Ne	22 (71,0)	
Gestacijske bolesti majke	Da	4 (12,9)	<b>0,002</b>
	Ne	27 (87,1)	
Akutne bolesti majke	Da	3 (9,7)	<b>&lt;0,001</b>
	Ne	28 (90,3)	
Lijekovi u trudnoći	Da	7 (22,6)	<b>0,02</b>
	Ne	24 (77,4)	
Bolesti oca	Da	6 (19,4)	<b>0,01</b>
	Ne	25 (80,6)	
Ostali čimbenici rizika	Da	7 (22,6)	<b>0,02</b>
	Ne	24 (77,4)	
Ukupno		31 (100,0)	

\* $\chi^2$

Četvrtina djece je imala intrakranijalno krvarenje ili asfiksiju dok je IUGR zastupljen u 9,7 %. Liječenje neposredno po porodu zahtjevalo je 35,5 % djece, odnosno barem svako treće dijete i to najčešće zbog konatalne pneumonije, konatalne sepse, RDS - a i neonatalne žutice (Tablica 4).

**Tablica 4.** Perinatalni čimbenici rizika djece s mikrodelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima

Obilježje	Kategorije	Broj (%)	P*
IUGR	Da	3 (9,7)	<0,001
	Ne	28 (90,3)	
Intrakranijsko krvarenje	Da	8 (25,8)	0,04
	Ne	23 (74,2)	
Asfiksija	Da	8 (25,8)	0,04
	Ne	23 (74,2)	
Stanja po porodu	Da	11 (35,5)	0,24
	Ne	20 (64,5)	
Ukupno		31 (100,0)	

\* $\chi^2$

Većina djece s mikrodelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima rođena je iz prve trudnoće ukupno 12 (38,7 %) ili iz druge 7 (22,6 %) djece, a svi nakon spontanog začeća. Djeca su najčešće rođena vaginalnim porodom 22 (71,0 %) ( $\chi^2$ , P = 0,01) kao terminski porodi 23 (74,2 %) ( $\chi^2$ , P = 0,01). Kod većine trudnica ukupno 25 (80,6 %) nisu zabilježeni raniji spontani pobačaji ( $\chi^2$ , P < 0,001 (Tablica 5).

**Tablica 5.** Obilježja trudnoće i porođaja djece s mikrodelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima

Obilježje	Kategorije	Broj (%)	P
Broj trudnoća	jedna	12 (38,7)	0,13*
	dvije	7 (22,6)	
	tri	4 (12,9)	
	četiri	6 (19,4)	
	pet	1 (3,2)	
	šest	1 (3,2)	

Obilježje	Kategorije	Broj (%)	P
Broj spontanih pobačaja	nije bilo	25 (80,6)	<0,001†
	jedan	3 (9,7)	
	dva	2 (6,5)	
	tri spontana	1 (3,2)	
Porod	Prijevremeni	7 (22,6)	0,02†
	Terminski	23 (74,2)	
	Preneseno	1 (3,2)	
Način poroda	Vaginalno	22 (71,0)	0,01†
	Elektivni carski	5 (16,1)	
	Hitni carski rez	4 (12,9)	
Ukupno		31 (100,0)	

\*Fisherov egzaktni test

† $\chi^2$

Većina djece rođena je terminski prosječne gestacijske dobi 39 tjedana, uredne porođajne mase prosječno 3090 g (interkvartilni raspon 2392,5 do 3322,5 g) i urednog APGAR indeksa (Tablica 6).

**Tablica 6.** Rani perinatalni ishod djece s mikrodelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima

Obilježje	Medijan	Interkvartilni raspon	Ukupni raspon
Gestacijska dob	39,0	37,0 do 39,8	27,0 do 42,0
Porođajna masa u gramima	3090,0	2392,5 do 3322,5	750,0 do 4090,0
Porođajna duljina u centimetrima	49,0	45,0 do 50,0	31,0 do 53,0
Apgar 1 /bodovi	9,0	7,0 do 10,0	2,0 do 10,0
Apgar 2 /bodovi	10,0	7,3 do 10,0	5,0 do 10,0

### 4.3. Obilježja djece s mikrodelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima

Rezultati analize promatranih fenotipskih obilježja su pokazali da gotovo 50 % djece s mikrodelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima ima rano prisutne elemente facijalne dismorfije (oblik nosa nije uredan, postoji malformacija usne, mikrognatija, gotsko nepce) ili su prisutne anomalije šake i stopala (Tablica 7 i 8). Nešto je rjeđe prisutan hipertelorizam, brazda četiri prsta ili neke od ostalih fenotipskih značajki (po 32,3 %), te tanja gornja usna, dugi filtrum ili retrognatija (po 29,0 %). Ostale promatrane fenotipske promjene su značajno rjeđe ( $\chi^2$ ,  $P < 0,01$ ) prisutne kod djece ispitanika s mikrodelecijskim i mikroduplicacijskim sindromima (Tablica 7 i 8).

**Tablica 7.** Fenotipska obilježja djece s mikrodelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima

Obilježje	Kategorije	Broj (%)	P*
Makrocefalija	Da	3 (9,7)	<0,001
	Ne	28 (90,3)	
Mikrocefalija	Da	2 (6,5)	<0,001
	Ne	29 (93,5)	
Strabizam	Da	5 (16,1)	0,004
	Ne	26 (83,9)	
Brazda četiri prsta	Da	10 (32,3)	0,15
	Ne	21 (67,7)	
Anomalije šake i stopala	Da	13 (41,9)	0,52
	Ne	18 (58,1)	
Stereotipije	Da	2 (6,5)	<0,001
	Ne	29 (93,5)	
Nisko sijelo kose	Da	5 (16,1)	0,004
	Ne	26 (83,9)	
Ostale fenotipske značajke	Da	10 (32,3)	0,15
	Ne	21 (67,7)	
Ukupno		31 (100,0)	

\* $\chi^2$

**Tablica 8.** Facijalni elementi dismorfije u djece s mikrodelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima

<b>Obilježje</b>	<b>Kategorije</b>	<b>Broj (%)</b>	<b>P*</b>
Malformacija uške	Da	14 (45,2)	0,70
	Ne	17 (54,8)	
Otapostaza	Da	5 (16,1)	<b>0,004</b>
	Ne	26 (83,9)	
Frontalni tuber	Izbočeni	5 (16,1)	<b>0,004</b>
	Normalni	26 (83,9)	
Blefarofimoza	Da	3 (9,7)	<b>&lt;0,001</b>
	Ne	28 (90,3)	
Hiperterolizam	Da	10 (32,3)	0,15
	Ne	21 (67,7)	
Epikantus	Da	6 (19,4)	<b>0,01</b>
	Ne	25 (80,6)	
Oblik nosa	Uredan	17 (54,8)	0,06
	Sedlast korijen nosa	11 (35,5)	
	Gomoljast vrh nosa	3 (9,7)	
Anteverzija nosnica	Da	6 (19,4)	<b>0,01</b>
	Ne	25 (80,6)	
Filtrum	Dug	9 (29,0)	0,09
	Normalan	22 (71,0)	
Tanka gornja usna	Da	9 (29,0)	0,09
	Ne	22 (71,0)	
Debele usne	Da	3 (9,7)	<b>&lt;0,001</b>
	Ne	28 (90,3)	
Gotsko nepce	Da	14 (45,2)	0,70
	Ne	17 (54,8)	
Rascjep usne i nepca	Da	5 (16,1)	<b>0,004</b>
	Ne	26 (83,9)	
Nepravilna denticija	Da	5 (16,1)	<b>0,004</b>
	Ne	26 (83,9)	



Obilježje	Kategorije	Broj (%)	P*
Mikrognatija	Da	14 (45,2)	0,70
	Ne	17 (54,8)	
Retrognatija	Da	9 (29,0)	0,09
	Ne	22 (71,0)	
Ukupno		31 (100,0)	

\* $\chi^{2d}$

Kod svega četvrtine djece jezično govorni razvoj i psihomotorni razvoj može se opisati da je u okviru očekivanom za dob, dok je kod 80,6 % djece prisutna laka ili teška mentalna zaostalost. Kongenitalna srčana greška prisutna je u visokih 41,9 % djece, dok su epilepsija 12,9 %, anomalije mozga 16,1 % ili anomalije mokraćnog sustava 9,7 % značajno rjeđe prisutne ( $\chi^2$ ,  $P < 0,02$ ) (Tablica 9).

**Tablica 9.** Komorbiditeti i pridružene razvojne anomalije djece s mikrodelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima

Obilježje	Kategorije	Broj (%)	P*
Kongenitalna srčana greška	Da	13 (41,9)	0,52
	Ne	18 (58,1)	
Epilepsija	Da	4 (12,9)	<b>0,02</b>
	Ne	27 (87,1)	
Anomalije mozga	Da	5 (16,1)	<b>0,004</b>
	Ne	26 (83,9)	
Anomalije mokraćnog sustava	Da	3 (9,7)	<b>&lt;0,001</b>
	Ne	28 (90,3)	
Mentalna zaostalost	Uredna	6 (19,4)	0,46
	Laka	12 (38,7)	
	Teška	13 (41,9)	
Psihomotorni razvoj	Uredan	8 (25,8)	0,22
	Usporen	17 (54,8)	
	Teško	6 (19,4)	
Jezično govorni razvoj	Uredan	8 (25,8)	0,74
	Usporen	13 (41,9)	
	Izostao	10 (32,3)	
Ukupno		31 (100,0)	

\* $\chi^2$

#### 4.4. Genetičke promjene kod djece s mikrolelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima

Mikrolelecijski/mikroduplicacijski sindromi dijagnosticirani su najčešće metodom CMA u više od polovice svih ispitanika 20 (64,5 %), a značajno češće potvrđene su mikrolelecije 19 (61,3 %) ispitanika, a promjene su najčešće nastale kao rezultat *de novo* aberacija 25 (80,6 %) (Tablica 10).

**Tablica 10.** Dijagnosticiranje

Obilježje	Kategorije	Broj (%)	P*
Metoda dijagnoze	CMA	20 (64,5)	
	FISH	9 (29,0)	
	MLPA	2 (6,5)	
Podrijetlo kromosomske aberacije	DE NOVO	25 (80,6)	<0,001
	MAT	5 (16,1)	
	PAT	1 (3,2)	
Dijagnoza	Mikroduplicacija	10 (32,3)	0,02
	Mikrolelecija	19 (61,3)	
	Kombinacija	2 (6,5)	
Ukupno		31 (100,0)	

\* $\chi^2$

Prema distribuciji tipova mikrolelecijskih sindroma značajno ( $\chi^2$ ,  $P < 0,001$ ) najčešće su bili prisutni DiGeorgeov sindrom i Williams - Beurenov sindrom (Tablica 11).

**Tablica 11.** Distribucija tipova mikrolelecijskih sindroma

Obilježje	Tipovi mikrolelecijskih sindroma	Broj (%)	P*
Mikrolelecija	DiGeorgeov sindrom	3	0,02
	Williams-Beurenov sindrom	3	
	Prader - Willijev sindrom	2	
	Cri du Chat sindrom	1	
	Wolf - Hirschornov sindrom	2	
	ostale	10	
Ukupno		21 (100,0)	

\* $\chi^2$

Molekularnom kariotipizacijom pronađene su varijante koje su ili vjerojatno benigne, vjerojatno patogene, patogene ili varijante nepoznatog kliničkog značenja (VOUS, prema engl. *Variants of uncertain clinical significance*). U svih ispitanika prisutan je niz fenotipskih distorzija i klinički značajnih bolesti, a u dijela ispitanika se klinička slika može povezati s promjenama u zahvaćenim genima (Tablica 12 i 13).

**Tablica 12.** Genetičke promjene utvrđene metodom CMA u pacijenta pogođenih mikroduplikacijskim sindromima

<b>Pogođena regija</b>	<b>Veličina promijene</b>	<b>Patogenost varijante</b>
5q35.3 x3	3224.8 Kb	VOUS
3p26.2p26.1 x3	2136.4 Kb	VOUS
17p13.1 x3	506.5 Kb	Patogena
1p36.32 x3	466 Kb	VOUS ili vjerojatno benigna
16p13.3 x3	262 Kb	VOUS ili vjerojatno benigna
5p14.3p11 x3	26.9 Mb	Patogena
12p13.33 x3	1.44 Mb	VOUS
17q12 x3	1.39 Mb	Patogena
17p13.1 x3	506.5 Kb	Patogena
16p13.2 x3	348.6 Kb	VOUS

**Tablica 13.** Genetičke promjene utvrđene metodom CMA u pacijenata pogođenih mikrodelecijskim sindromima

<b>Pogođena regija</b>	<b>Veličina promijene</b>	<b>Patogenost varijante</b>
21q22.3 x1	27.7 Kb	Vjerojatno benigna
3p14.1p13 x1	1.8 Mb	Vjerojatno patogena
17p12 x1	1.33 Mb	VOUS
1p35.3 x1	218 Kb	VOUS
16p11.2 x1	516.6 Kb	Patogena
1p31.1 x1	371 Kb	VOUS ili vjerojatno benigna
17q12 x1	1404.3 Kb	Patogena
16p11.2 x1	516.6 Kb	Patogena
7q11.22 x1	172.6 Kb	Patogena

## 5. RASPRAVA

Istraživanje je provedeno na 31 ispitaniku kojima je jednom od metoda MLPA, FISH ili CMA dijagnosticiran mikrodelecijski ili mikroduplicacijski sindrom. Radna dijagnoza postavljena je na temelju kognitivnog i razvojnog zaostajanja, fenotipskih distorzija i višestrukih kongenitalnih razvojnih anomalija. U provedenoj studiji mikrodelecijski sindromi učestaliji su (61,3 %) od mikroduplicacijskih sindroma (32,3 %) i njihovih kombinacija (6,5 %) što se podudara sa studijama provedenima na općoj populaciji (75).

Distribucija demografskih parametara u ovom istraživanju pokazala je podjednaku spolnu raspodjelu, gdje su djeca muškog spola zahvaćena u 48,4 % slučajeva, a djeca ženskog spola zahvaćena u 51,6 % ispitanika, što se podudara s podacima iz literature (76). Dobiveni podatci o većoj učestalosti mikrodelecijskih te mikroduplicacijskih sindroma u gradskoj sredini (74,2 %) u odnosu na pojavnost u ruralnim sredinama (25,8 %), ne mogu se usporediti s podacima iz literature jer isti kroz radove uglavnom nisu evaluirani te je ovaj parametar prvi puta uzet u obzir. Moguće je ovo razmatrati eventualno iz pozicije da je dostupnost diferentnije zdravstvene zaštite u gradskim sredinama veća nego u ruralnim no omjer je ipak značajno različit te je u budućim studijama ovaj parametar potrebno uzeti u obzir. U jedanaestogodišnjoj studiji uočeno je da se godišnje rađa približno troje djece s nekim od sindroma mikrodelecije ili mikroduplicacije te se ne nazire trend značajnijeg porasta pojavnosti. Također sve više dijagnosticiraju se djece pogođena ovim sindromima uslijed napretka tehnologije, manjom cijenom testova i njihovom većom dostupnosti, ali i sve boljim poznavanjem ovih sindroma i definiranja istih kroz genetičke baze podataka.

S obzirom na poznati mehanizam nastanka mikrodelecijskih i mikroduplicacijskih sindroma, bilo to posredovano NAHR - om ili nehomolognim spajanjem kromosoma te pregledom dostupne literature, dobiveni podatci o prisutnosti kroničnih bolesti majki (29 %), gestacijskih bolesti majki (12,9 %) i bolesti oca (19,4 %), ne mogu se povezati s nastankom ovih sindroma. Dobiveni podatci također su limitirani veličinom uzorka i nedostatkom kontrolne skupine te su potrebna daljnja ispitivanja za utvrđivanje povezanosti. Medijan starosne dobi majke pri začeću djeteta iznosi 29 godina, a interkvartilni raspon je od 24,5 do 34 godine dok je medijan starosne dobi oca 33 godine, a interkvartilni raspon od 29 do 37 godina. Starosna dob oca pri začeću je bila značajno viša od starosne dobi majki. Pregledom literature incidencija mikrodelecijskih i mikroduplicacijskih sindroma nije povezana s dobi majke (77).

Istraživanje koje su proveli Larroya i sur. na fetusima podvrgnutima CMA radi ultrazvučnih anomalija, pokazalo je da nema razlika ni u dobi oca ni majke između fetusa zahvaćenih patogenim CNV u usporedbi s onima s normalnim rezultatom CMA. Učinak dobi majke na podrijetlo fetalne aneuploidije i učinak dobi oca kod de novo SN - a, posebno onih povezanih s anomalijama kostura i neurorazvojnih poremećaja, dobro su utvrđeni, ali čini se da učinak dobi roditelja nije relevantan u podrijetlu CNA - a. (78). Iako CNV - ovi čine oko 1 % živorođenih fetusa, slično stopi kromosomskih anomalija, samo se na mali udio živorođene djece s patogenim CNV - om može prenatalno posumnjati na temelju prethodne anamneze ili ultrazvučnih anomalija fetusa. Ovaj argument ide u prilog univerzalne ponude CMA svim trudnicama bez obzira na dob. Prema studiji Borrella i suradnika, jedna od karakteristika ultrazvučnih obilježja trudnoće suspektnih na mikrodelecijske sindrome je i prisutnost oligohidramniona te polihidramniona, što je i u našoj studiji također prisutno u približno 20 % ispitanika (79).

Analizirajući karakteristike trudnoće, nije bilo prethodnih spontanih pobačaja u 80,6 % slučajeva, dok je kod gotovo 1/5 ispitanika (19,4 %) anamnestički bilo prisutno jedan, dva ili tri prethodna spontana pobačaja. Djeca majki koja su imala prethodne sponatne pobačaje pogođena su u 2 slučaja s PWS, od kojih je jedan rezultat hipermetilacije a drugi translokacije. U ostalim slučajevima, djeca majki s prethodnim spontanim pobačajima boluju od WHS, DiGeorgeova sindroma, mikroduplicacije 5p14.3p11 te mikrodelecije 1p35.3. Dosadašnja istraživanja pokazuju da navedeni sindromi mogu biti uzrokom sponatnih pobačaja uzrokujući neonatalna oštećenja poput kašnjenja u razvoju, anomalije kostura, ali i srčane, neurološke i endokrine abnormalnosti (80). Najčešći je submikroskopski CNV povezan s pobačajem mikrodelecija 22q11.21 koja može uzrokovati ranu embrionalnu smrt uslijed velike srčane malformacije koje proizlaze iz delecije 22q11.21 (81).

U studiji provedenoj od strane Karnebeeka i suradnika, epilepsija je prisutna u 20 % pacijenata sa submikroskopskim kromosomskim aberacijama, što je nešto više u odnosu na dobivene rezultate u našem istraživanju gdje je epilepsija bila prisutna u 12,9 % pacijenata. Anomalije središnjeg živčanog sustava nisu bile prisutne u 80 % pacijenata koji su sudjelovali u našem istraživanju, što također odgovara podacima iz literature. U prethodno navedenoj studiji, stupanjevanjem mentalne retardacije, dobiven je podatak o najvećoj učestalosti umjerene mentalne zaostalosti (70 %) dok podatci dobiveni u našem istraživanju pokazuju podjednaku zastupljenost umjerene (38,7 %) i teške (41,9 %) mentalne zaostalosti, što se može objasniti različitim mikrodelecijskim i mikroduplicacijskim sindromima te njihovim nedovoljno objašnjenim utjecajem na fenotip pacijenata (82). Od ranije je poznato da varijacije

broja kopija gena imaju utjecaj na patogenezu nastanka kongenitalnih srčanih anomalija. Tako su u našem istraživanju, prirodene srčane greške najčešće anomalije koje su pronađene u 41,9 % ispitanika (83).

Napretkom molekularnih metoda i sve češćom upotrebom CMA-a, dolazi do sve više dijagnoza mikrodelecijskih i mikroduplicacijskih sindroma. Ovi sindromi povezani su sa raznolikom kliničkom slikom čak i u pojedinaca s istim pogođenim regijama. Stupanj izraženosti kliničke slike ovisi i o veličini deletirane ili duplicirane regije. Od ukupno 21 pacijenta s mikrodelecijskim sindromom, tri pacijenta imaju DiGeorgeov sindrom, od kojih jedan ima uredan kognitivno - motorni razvoj, a ostala dva pacijenta, laku i tešku mentalnu zaostalost te usporen psihomotorni razvoj. Svi su rođeni kao terminska novorođenčad spontanom porodom. U jednog je pacijenta prisutna tetralogija Fallot, u drugoga ventrikularni septalni defect (VSD) dok treći nema prirodenu srčanu grešku što odgovara istraživanju Campbell - a i suradnika u čijem istraživanju 64 % ispitanika s 22q11.2 mikrodelecijskim sindromom ima CHD (76) dok je prema nekim drugim studijama raspon CHD u pacijenta između 31 - 80 % (84). U studiji Luis i suradnika, dismorfizmi lica uočeni su u 78 % pacijenata koji su prisutni i u naša tri pacijenta (85).

U provedenom istraživanju dijagnosticirana su dva pacijenta s Prader - Willijevim sindromom. U jednoga pacijenta analizom kromosoma periferne krvi metodom GTG pruganja utvrđen je muški kariotip s 45 kromosoma, u kojem je prisutan manjak jednog od homologa kromosoma 15 te deriviranim kromosomom 19 (45,XY,-15,der(19)t(15;19)(q12;p13.3)dn). Radi se o translokaciji segmenta kromosoma 15 na p terminalni krak kromosoma 19. Translocirana regija zahvaća Prader - Willijevu sindrom regiju 15q11.2 što kao rezultat ima izražavanje odgovarajuće kliničke slike. Pregledom literature, riječ je o drugom slučaju u svijetu kao posljedica translokacije. Muško dojenče rođeno je hitnim carskim rezom u 35. tjednu gestacije, porođajne mase 2029 grama. Zajedničke karakteristike PWS su uočene, poput hipotonije, strabizma te malih šaka i stopala, što je također uočeno kod prvoga pacijenta opisanoga u radu Danga i suradnika (51). U drugoga pacijenta s PWS napravljena je MS - MLPA analiza koja je pokazala aberantni metilacijski profil u PW/AS kromosomskoj regiji. Uočen je hipermetilacijski obrazac u regiji za gen *SNRPN* i *MAGEL 2 - 1*. Razina metilacije bila je 100 % u odnosu na zdrave pojedince gdje razina metilacije iznosi 50 %. Žensko novorođenče rođeno je vaginalnim putem u terminu s karakterističnom hipotonijom, a uz navedeno ima tešku mentalnu zaostalost, anomaliju mozga u varijanti Dandy Walkera i nerazvijen govor. Klinička slika odgovara studiji koju su proveli Hu i sur. u pacijenta kojima je dokazan hipermetilacijski status, ali i onih sa delecijom regije podrijetlom od oca (86).

Williams - Beurenov sindrom (WBS) dijagnosticiran je u tri ispitanika. U sistemskom osvrtu koji su proveli de Sousa i suradnici, bolesnici s WBS - om imaju specifičan obrazac rasta s intrauterinim ograničenjem rasta, malom tjelesnom težinom i duljinom pri rođenju. Dobiveni podaci u de Sousinoj studiji podudaraju se s podacima dobivenim u našem istraživanju. Sva tri ispitanika imala su porođajnu masu ispod 2000 grama i porođajnu duljinu ispod 45cm, a u jednog ispitanika dokazan je intrauterini zastoj rasta (IUGR, prema engl. *intrauterine growth retardation*) (87). Mikrodelecija na 7q11.23 uključuje gen koji kodira elastin, važan protein u sastavu elastičnih vlakana vezivnog tkiva, što može objasniti neke fenotipske karakteristike i multisistemske promjene prisutne u WBS - u, kao što je tipično lice, kardiopatija, hernije i labavost zglobova kako su pokazali Kruszka i sur. Mikrognatija i retrognatija također su prisutni u prethodno spomenutom istraživanju i to u 82 % slučajeva kod Latino Amerikanaca, dok su kod Afrikanca i Azijata prisutni u 75 % ispitanika. U našem istraživanju svi pacijenti imaju prisutnu mikrognatiju i retrognatiju. Sva tri pacijenta imaju intelektualno oštećenje što odgovara i studiji Kruszka i sur. u kojoj također svi pacijenti imaju neki stupanj intelektualnog oštećenja. Isto tako, sva tri pacijenta imaju kongenitalnu srčanu bolest, a u prethodno spomenutoj studiji postotak iznosi oko 70 % (48).

Varijante nepoznatog kliničkog značaja i vjerojatno benigne varijante pronađene u ovom istraživanju, predstavljaju mikroduplikacije 5q35.3, 3p26.2p26.1, 1p36.32, 16p13.3, 12p13.33, 16p13.2 te mikrodelecije 21q22.3, 17p12, 1p35.3 i 1p31.1. Pregledom baza podataka ISCA i DECIPHER, uočavamo da je nedovoljno istražen klinički utjecaj deletirane ili duplicirane regije na kliničku sliku pacijenta te je potrebno daljnje praćenje i istraživanje.

Varijante koje su patogene ili vjerojatno patogene, a koje su pronađene u ovom istraživanju su mikroduplikacije 17p13.1, 5p14.3p11, 17q12 te mikrodelecije 3p14.1p13, 16p11.2, 17q12, i 7q11.22. U ovom istraživanju otkrivene su dvije mikroduplikacije 17p13.1 kod sestara koje se fenotipski očituju mikrocefalijom, anteverzijom nosnica te dugim filtrumom, niskim rastom, ali urednog kondicijskog stanja. Pretraživanjem DECIPHER baze podataka, pronalazi se 81 varijanta mikroduplikacije sa sličnim simptomima dugoga filtruma, usporenoga rasta, zakašnjelog govora i intelektualne zaostalosti (25). Fenotip jako varira što također ovisi i o veličini duplicirane regije. U našega pacijenta pogođena su 23 gena od kojih se geni *TP53*, *WRAP53*, *CHD3*, *KDM6B* i drugi smatraju patogenima. Prema istraživanju Leka - Emiri i suradnika, zabilježeni su problemi u ponašanju, manjak hormona rasta i posljedičnog niskog rasta te debljina i dijabetes (88). Mikroduplikacija 5p14.3p11 u našem se istraživanju fenotipski očituje loše modeliranim uškama, nepravilnom insercijom prstiju stopala te gotskim nepcem. Žensko novorođenče rođeno je hitnim carskim rezom u 35. tjednu gestacije u lošem



kondicijskom stanju. Reanimirano je po porodu i boluje od dilatativne kardiomiopatije te usporenog kognitivnog i motornog razvoja. Pretraživanjem DECIPHER baze podataka, pronalazi se 39 pacijenata s istom mikroduplicacijom koji se ponajviše fenotipski očituju prirođenim srčanim greškama, abnormalnostima stopala, generaliziranim napadajima i intelektualnim zaostajanjem (25). U jedne pacijentice analizom DNA metodom CMA, utvrđene su tri kopije genoma u regiji 12p13.33 i tri kopije genoma u regiji 17q12. Pretraživanjem baze podataka DECIPHER, mikroduplicacija 12p13.33 opisuje se kao promjena nepoznatoga značaja. Studija Mekawy i sur. ukazuje na uključenost gena u distalnom dijelu 12p (12p13.33) u određivanju mnogih karakteristika lica sindroma trisomije 12p i hipotonije koja je glavna karakteristična značajka koja je prisutna i u naše pacijentice (89). Mikroduplicacija 17q2 u naše pacijentice zahvaća 17 gena od kojih se patogeni smatraju *PIGW*, *ACACA* i *HNF1B*, prema DECIPHER bazi podataka. Mikroduplicacija pokazuje smanjenu penetrantnost i varijabilnu ekspresiju te se može naći i u zdravih pojedinaca. Studija Zhou i sur. koji su proveli retrospektivnu analizu četiri pacijenta s ovom mikroduplicacijom, pokazuje da su pogođena djeca niske porođajne težine i duljine, da imaju anomalije mozga i mokraćnoga sustava te CHD. U naše pacijentice prisutna je anomalija mozga u vidu Arnold Chiari malformacije te epilepsija uz normalne prenatalne karakteristike (90).

Mikrodelecija 3p14.1p13 pronađena u našega pacijenta, očituje se makrocefalijom, sedlastim korijenom nosa te strabizmom uz tešku mentalnu zaostalost i teško zaostajanje u psihomotornom razvoju. Također nije došlo do razvoja govora i prisutna je obostrana gluhoća. Patogeni geni zahvaćeni u ovoj regiji su *MITF* i *FOXP1*. Gen *MITF* (OMIM 156845) odgovoran je za transkripciju gena melanogenaze, a gen *FOXP1* (OMIM 18799727) regulira transkripciju gena specifičnog za tkivo i stanice tijekom razvoja. Njegova mutacija povezuje se s intelektualnim zaostajanjem uz poteškoće razvoja govora. U prikazu slučaja Pariana i sur. prikazano je dijete s mikroduplicacijom ove regije i zahvaćenim genom *FOXP1*. Fenotip pacijenta kojeg su obradili u prikazu slučaja, sličan je fenotipu pacijenta iz našeg istraživanja s teškim poremećajem govora i jezika (91). Mikrodelecija 16p11.2 u našega pacijenta klinički se očituje epilepsijom, lakom mentalnom zaostalošću i usporenim psihomotornim razvojem. Također prisutna je pretilost, distonija i autizam. Prema istraživanju Reina i sur. autizam je prisutan u 20 % - 33,9 %, intelektualna zaostalost u 30,5 % - 40,3 %, a epilepsija u 19,4 % - 29 % pacijenata pogođenih ovim sindromom (92). Pregledom DECIPHER baze podataka pronađe se 619 osoba s ovom mikrodelecijom. Mikrodelecija 7q11.2 dijagnosticirana u našeg pacijenta manifestira se mikrocefalijom, nepravilnom denticijom, mikrognatijom, hipertelorizmom i ekvinovarusom. Prisutan je atrijski septalni defect (ASD) i teško usporen

psihomotorni razvoj uz izostanak razvoja govora. DECIPHER baza podataka pokazuje malu učestalost ovog sindroma sa svega 84 pacijenta uz najšišće prisutne znakove intelektualnog zaostajanja, abnormalnosti morfologije kardiovaskularnog sustava, facijalnim dismorfijama i izostankom razvoja govora. Delecija se nalazi unutar patogenog gena *AUTS2* (OMIM 607270) čiji protein sudjeluje u produljenju aksona i dendrita kao i u migraciji neurona tijekom embrionalnog razvoja mozga. Rezultati dobiveni u istraživanju Niu i sur. pokazali su da *AUTS2* utječe na razvoj živčanog sustava, uključujući osmi kranijalni živac, koji je usko povezan sa slušnom provodljivošću. Sukladno tome, *AUTS2* je uključen u mnoge vrste neuroloških bolesti, uključujući poremećaje iz spektra autizma, intelektualnu zaostalost i zaostajanje u razvoju (93).

Provedeno povijesno istraživanje ima svoja ograničenja. Kroz jedanaestogodišnji period imali smo mali broj ispitanika prvenstveno radi početno ograničene dostupnosti dijagnostičkih genetičkih testiranja. Za pojedine mikroduplicacijske i mikrodelecijske sindrome u genetičkim bazama podataka postoji mali broj podataka uslijed malog broja pojedinačnih slučajeva u svijetu. Baze podataka redovito se ažuriraju opisanim novim fenotipovima koji ovisno o veličini promjene mogu davati varijabilne kliničke znakove. Sami sindromi kada se javljaju pojedinačno jesu rijetki, ali njihov kumulativni broj je od značaja i potrebno je provoditi daljnja istraživanja i analize genetičkih promjena. Kod djela mikrodelecijjskih i mikroduplicacijskih sindroma, otkriveni su geni koji se smatraju patogenima i odgovornima za kliničku sliku pacijenta, ali kod djela pacijenata pogođeni geni i regije ne mogu se povezati s kliničkom slikom pacijenta, no kroz buduće vrijeme i definiranjem uloge pojedinih gena zasigurno ćemo definirati značajan broj novih poremećaja kod osoba sa malformacijama i intelektualnim poteškoćama. Potrebna su daljnja opširna istraživanja i praćenje novih slučajeva te otkrivanje patogenih varijanti kako bi se svakome nedijagnosticiranome pacijentu na vrijeme postavila dijagnoza i uputilo na potrebno genetičko savjetovanje.

## 6. ZAKLJUČAK

Na temelju provednog istraživanja, prikupljenih i obrađenih podataka mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Podjednaka je distribucija mikrodelecijskih/mikroduplicacijskih sindroma (MMS) prema spolu te se ne nazire neki trend pojavnosti kroz promatrani period od jedanaest godina.
2. Kronične i gestacijske bolesti majke kao i bolesti oca nisu se pokazali kao rizični faktor u nastanku MMS kao ni dob majke i oca. Rani perinatalni ishod i antropometrijska obilježja po porodu su u granicama normale i djeca su kondicijski dobrog stanja.
3. Komorbiditeti znatno češće povezani s MMS su: kongenitalna srčana greška, usporen psihomotorni razvoj i razvoj govora uz prisutnost nekog oblika intelektualnog zaostajanja. Dismorfija fenotipa prisutna je u svih pacijenata pogodnih MMS sa značajnim udjelom mikrognatije, gotskim nepcem, nepravilnim oblikom nosa, hipertelorizmom, malformacijama uške i anomalijama šake i stopala što ukazuje da je bitan dijagnostički kriterij.
4. Najučestaliji otkriveni sindromi su DiGeorgov sindrom i Williams - Beurenov sindrom, dok su ostali rijetki sindromi otkriveni kao jedan ili rijetko dva slučaja. U dvije trećine ispitanika s MMS, varijanta zahvaćene regije smatra se patogenom ili vjerojatno patogenom i može se povezati s kliničkom slikom dok u trećine varijanta zahvaćene regije smatra se vjerojatno benignom ili varijantom nepoznatog kliničkog utjecaja i ne može se povezati s kliničkom slikom pacijenta. Stoga su potrebna daljnja istraživanja i praćenje pacijenata i ažuriranje baza podataka.

## 7. SAŽETAK

**Ciljevi istraživanja:** Ispitati dinamiku pojavnosti mikrodelecijskih/mikroduplicacijskih sindroma, obilježja rodoslovnog stabla, perinatalne čimbenike rizika, klinička, fenotipska i genetička obilježja.

**Ustroj studije:** Presječna studija s povijesnim podacima.

**Ispitanici i metode:** Ispitanici su djeca kojima je dijagnosticiran mikrodelecijski ili mikroduplicacijski sindrom (MMS) u KBC - u Osijek od 2011. do 2021. godine. Podaci su prikupljeni iz medicinske dokumentacije i bolničkog informacijskog sustava za 31 pacijenta. Prikupljali su se: podaci o majci, trudnoći i kliničkim obilježjima djece.

**Rezultati:** Aritmetička sredina starosti djece u trenutku istraživanja iznosila je 6,9 godina, te ih je bilo podjednako oba spola. Starosna dob oca pri začeću bila je značajno viša od starosne dobi majke, ali se ne smatra rizničnim čimbenikom za nastanak MMS kao ni kronične bolesti majke i oca. Četvrtina djece je imala intrakranijalno krvarenje ili asfiksiju, a liječenje neposredno po porodu zahtjevalo je svako treće dijete. Većina djece rođena je terminski prosječne gestacijske dobi 39 tjedana, uredne porođajne mase prosječno 3090 g i urednog APGAR indeksa. U 19,4 % trudnica ustanovljen je prethodni spontani pobačaj. Rezultati analize promatranih fenotipskih obilježja su pokazali da gotovo 50 % djece s MMS ima rano prisutne elemente facijalne dismorfije. Klinički prisutne su CHD kao najčešća anomalija te usporen psihomotorni razvoj i razvoj govora uz neki oblik intelektualnoga zaostajanja.

**Zaključak:** Mikrodelecijski i mikroduplicacijski sindromi se u djece pojavljuju neovisno o maternalnim i perinatalnim čimbenicima rizika nego ovise o grešci nastaloj tijekom diobe stanica. U dvije trećine pacijanata poznata je genetička podloga fenotipa, a u jedne trećine nije jasan utjecaj pogođenih gena na kliničku sliku.

**KLJUČNE RIJEČI:** mikroduplicacija, mikrodelecija, facijalna dismorfija

## 8. SUMMARY

### CLINICAL FEATURES OF CHILDREN WITH MICRODUPLICATION AND MICRODELETION SYNDROMES

**Objectives:** the aim of this study was to determine the dynamics of occurrence of microdeletion/microduplication syndrome, characteristics of the genealogical tree, perinatal risk factors, clinical, phenotypical and genetic characteristics.

**Study design:** the study was conducted as a cross - sectional study.

**Subjects and methods:** subjects are children who were diagnosed with microdeletion or microduplication syndrome (MMS) in KBC Osijek from 2011. to 2021.

Data was collected from medical records and the hospital information system for 31 patients. The following was acquired: data on the mother, pregnancy and clinical characteristics of children.

**Results:** the arithmetic mean age of the children at the time of the research was 6,9 years, and there were equal numbers of both sexes. The age of the father at the time of conception was significantly higher than the age of the mother, but it is not considered a risk factor for the occurrence of MMS as well as chronic diseases of the mother and the father. A quarter of children had intracranial bleeding or asphyxia, and every third child required treatment immediately after birth. The majority of children were born at term with an average gestational age of 39 weeks, a normal birth weight of 3090 g on average and a normal APGAR index. A previous spontaneous abortion was found in 19.4 % of pregnant women. The results of the analysis of the observed phenotypic features showed that almost 50 % of children with MMS have early - present elements of facial dysmorphia. Clinically, CHD is present as the most common anomaly, as well as slow psychomotor and speech development along with some form of intellectual retardation.

**Conclusion:** Microdeletion and microduplication syndromes appear in children independently of maternal and perinatal risk factors, but depend on an error occurring during cell division. In two - thirds of patients, the genetic basis of the phenotype is known, and in one - third, the influence of affected genes on the clinical picture is not clear.

**KEY WORDS:** microduplication, microdeletion, facial dysmorphia

## 9. LITERATURA

1. Cooper GM. The cell: a molecular approach. 8 izd. New York: Oxford University Press; 2019.
2. Finegold DN. Overview of Genetics. MSD Manual Professional Edition. Dostupno na adresi: <https://www.msmanuals.com/professional/special-subjects/general-principles-of-medical-genetics/overview-of-genetics>. Datum pristupa: 20.04.2022.
3. Turnpenny PD, Ellard S. Emery's Elements of Medical Genetics. 15 izd. Elsevier; 2017.
4. Liehr T. From Human Cytogenetics to Human Chromosomics. *Int J Mol Sci*. 2019;20(4):826.
5. Chromosome abnormalities fact sheet. Genome.gov. NHGRI; 2019. Dostupno na adresi: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Chromosome-Abnormalities-Fact-Sheet>. Datum pristupa: 25.04.2022.
6. Mardešić I sur. *Pedijatrija*. 8 pre I dop izd. Zagreb: Školska knjiga; 2016.
7. Storchova Z. Chromosomal Numerical Aberrations. *eLS*. 2016 Nov;1-10.
8. Can changes in the structure of chromosomes affect health and development? *Medlineplus.gov*. Dostupno na adresi: <https://medlineplus.gov/genetics/understanding/mutationsanddisorders/structuralchanges/> Datum pristupa: 26.04.2022.
9. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. Pathway-based classification of genetic diseases. *Mol Cytogenet*. 2019;12:4.
10. Corrêa T, Feltes BC, Schinzel A, Riegel M. Network-based analysis using chromosomal microdeletion syndromes as a model. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2021 Sep;187(3):337-348.10. Corrêa T, Feltes BC, Schinzel A, Riegel M. Network-based analysis using chromosomal microdeletion syndromes as a model. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2021 Sep;187(3):337-348.
11. Kurtovic-Kozaric A, Mehinovic L, Stomornjak-Vukadin M, Kurtovic-Basic I, Catibusic F, Kozaric M I sur. Diagnostics of common microdeletion syndromes using fluorescence in situ hybridization: Single center experience in a developing country. *Bosn J Basic Med Sci*. 2016 May; 16(2): 121–125
12. Pereira E, Marion R. Contiguous Gene Syndromes. *Pediatr Rev*. 2018 Jan;39(1):46-49.

13. Weise A, Mrasek K, Klein E, Mulatinho M, Llerena JC Jr, Hardekopf D, Pekova S, Bhatt S, Kosyakova N, Liehr T. Microdeletion and microduplication syndromes. *J Histochem Cytochem*. 2012 May;60(5):346-58
14. Halder A, Jain M, Chaudhary I, Gupta N, Kabra M. Fluorescence in situ hybridization (FISH) using non-commercial probes in the diagnosis of clinically suspected microdeletion syndromes. *Indian J Med Res*. 2013;138(1):135-42.
15. Powell-Hamilton NN. Microdeletion and Microduplication Syndromes. MSD Manual Professional Edition. Dostupno na adresi: <https://www.msmanuals.com/professional/pediatrics/chromosome-and-gene-anomalies/microdeletion-and-microduplication-syndromes> Datum pristupa: 27.04.2022.
16. Vissers LE, de Vries BB, Veltman JA. Genomic microarrays in mental retardation: from copy number variation to gene, from research to diagnosis. *J Med Genet*. 2010 May;47(5):289-97.
17. Watson CT, Marques-Bonet T, Sharp AJ, Mefford HC. The genetics of microdeletion and microduplication syndromes: an update. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2014
18. Huang T, Li J, Jia B, Sang H. CNV-MEANN: A Neural Network and Mind Evolutionary Algorithm-Based Detection of Copy Number Variations From Next-Generation Sequencing Data. *Front Genet*. 2021 Aug 16;12:700874.
19. Riley KN, Catalano LM, Bernat JA, Adams SD, Martin DM, Lalani SR, Patel A, Burnside RD, Innis JW, Rudd MK. Recurrent deletions and duplications of chromosome 2q11.2 and 2q13 are associated with variable outcomes. *Am J Med Genet A*. 2015 Nov;167A(11):2664-73.
20. Lengyel A, Pinti É, Pikó H, Jávorszky E, David D, Tihanyi M I sur. Clinical and genetic findings in Hungarian pediatric patients carrying chromosome 16p copy number variants and a review of the literature. *Eur J Med Genet*. 2020 Oct;63(10):104027.
21. Mostovoy Y, Yilmaz F, Chow SK, Chu C, Lin C, Geiger EA I sur. Genomic regions associated with microdeletion/microduplication syndromes exhibit extreme diversity of structural variation. *Genetics*. 2021 Feb 9;217(2):iyaa038.
22. Tai DJ, Ragavendran A, Manavalan P, Stortchevoi A, Seabra CM, Erdin S, Collins RL I sur. Engineering microdeletions and microduplications by targeting segmental duplications with CRISPR. *Nat Neurosci*. 2016 Mar;19(3):517-22.

23. AE, Dang V, Dougherty ML, Graves-Lindsay TA, Wilson RK, Chaisson MJP, Eichler EE. Long-read sequence and assembly of segmental duplications. *Nat Methods*. 2019 Jan;16(1):88-94.
24. Database of Genomic Variants. Tcag.ca. Dostupno na adresi: <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>. Datum pristupa: 27.04.2022.
25. DECIPHER v11.14: Mapping the clinical genome. Deciphergenomics.org. Dostupno na adresi: <https://www.deciphergenomics.org>. Datum pristupa: 27.04.2022.
26. Godoy VCSM, Bellucco FT, Colovati M, Oliveira-Junior HR, Moysés-Oliveira M, Melaragno MI. Copy number variation (CNV) identification, interpretation, and database from Brazilian patients. *Genet Mol Biol*. 2020 Nov 13;43(4):e20190218.
27. What are genomic imprinting and uniparental disomy? [Internet]. Medlineplus.gov. . Dostupno na adresi: <https://medlineplus.gov/genetics/understanding/inheritance/updimprinting/> Datum pristupa: 01.05.2022.
28. Li Y, Sasaki H. Genomic imprinting in mammals: its life cycle, molecular mechanisms and reprogramming. *Cell Res*. 2011 Mar;21(3):466-73.
29. Edwards CA, Takahashi N, Corish JA, Ferguson-Smith AC. The origins of genomic imprinting in mammals. *Reprod Fertil Dev*. 2019 Jul;31(7):1203-1218.
30. Pervjakova N, Kasela S, Morris AP, Kals M, Metspalu A, Lindgren CM, Salumets A, Mägi R. Imprinted genes and imprinting control regions show predominant intermediate methylation in adult somatic tissues. *Epigenomics*. 2016 Jun;8(6):789-99.
31. Harris JC. Editorial: Behavioral phenotypes in developmental neuropsychiatric disorders: disrupted epigenetics, microdeletions, sex chromosome aneuploidies, and gestational alcohol toxicity. *Curr Opin Psychiatry*. 2019 Mar;32(2):51-54.
32. Du Q, de la Morena MT, van Oers NSC. The Genetics and Epigenetics of 22q11.2 Deletion Syndrome. *Front Genet*. 2020;10:1365.
33. Kozel BA, Barak B, Kim CA, Mervis CB, Osborne LR, Porter M, Pober BR. Williams syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2021 Jun 17;7(1):42.
34. Adamo A, Atashpaz S, Germain PL, Zanella M, D'Agostino G, Albertin V I sur. 7q11.23 dosage-dependent dysregulation in human pluripotent stem cells affects transcriptional programs in disease-relevant lineages. *Nat Genet*. 2015 Feb;47(2):132-41.



35. Goldenberg P. An Update on Common Chromosome Microdeletion and Microduplication Syndromes. *Pediatr Ann.* 2018 May 1;47(5):e198-e203.
36. van Karnebeek CD, Jansweijer MC, Leenders AG, Offringa M, Hennekam RC. Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness. *Eur J Hum Genet.* 2005 Jan;13(1):6-25.
37. Khan I, Leventhal BL. Developmental Delay. 2021 Aug 4. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan
38. Facial dysmorphology » division of genetics and metabolism » college of medicine » university of Florida. Ufl.edu. . Dostupno na adresi: <https://genetics.pediatrics.med.ufl.edu/teaching-resources/facial-dysmorphology/> Datum pristupa: 03.05.2022.
39. Vickers RR, Gibson JS. A Review of the Genomic Analysis of Children Presenting with Developmental Delay/Intellectual Disability and Associated Dysmorphic Features. *Cureus.* 2019 Jan 12;11(1):e3873.
40. Jones KL, Adam MP. Evaluation and diagnosis of the dysmorphic infant. *Clin Perinatol.* 2015;42(2):243
41. Cancrini C, Puliafito P, Digilio MC, Soresina A, Martino S, Rondelli R, Consolini R I sur. Clinical features and follow-up in patients with 22q11.2 deletion syndrome. *J Pediatr.* 2014 Jun;164(6):1475-80
42. Motahari Z, Moody SA, Maynard TM, LaMantia AS. In the line-up: deleted genes associated with DiGeorge/22q11.2 deletion syndrome: are they all suspects? *J Neurodev Disord.* 2019 Jun 7;11(1):7.
43. Entry - #188400 - DIGEORGE SYNDROME; DGS - OMIM. Omim.org. Dostupno na adresi: <https://www.omim.org/entry/188400>. Datum pristupa: 04.05.2022.
44. Lackey AE, Muzio MR. DiGeorge Syndrome. 2021 Aug 11. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–.
45. Kuo CY, Signer R, Saitta SC. Immune and Genetic Features of the Chromosome 22q11.2 Deletion (DiGeorge Syndrome). *Curr Allergy Asthma Rep.* 2018 Oct 30;18(12):75
46. Entry - #194050 - WILLIAMS-BEUREN SYNDROME; WBS - OMIM. Omim.org. Dostupno na adresi: <https://www.omim.org/entry/194050?search=wiliams%20beuren&highlight=beuren%20wiliam>. Datum pristupa: 04.05.2022.

47. Twite MD, Stenquist S, Ing RJ. Williams syndrome. *Paediatr Anaesth*. 2019 May;29(5):483-490
48. Kruszka P, Porras AR, de Souza DH, Moresco A, Huckstadt V, Gill AD I sur. Williams-Beuren syndrome in diverse populations. *Am J Med Genet A*. 2018 May;176(5):1128-1136.
49. Entry - #609757 - WILLIAMS-BEUREN REGION DUPLICATION SYNDROME - OMIM. Omim.org. Dostupno na adresi : <https://www.omim.org/entry/609757?search=WILLIAMS-BEUREN&highlight=%22william%20beuren%22%20%22william%7Cbeuren%22%20%28williamsbeuren%7C%20%29%20williamsbeuren>. Datum pristupa: 04.05.2022
50. Butler MG, Miller JL, Forster JL. Prader-Willi Syndrome - Clinical Genetics, Diagnosis and Treatment Approaches: An Update. *Curr Pediatr Rev*. 2019;15(4):207-244. Dang V, Surampalli A, Manzardo AM, Youn S, Butler MG, Gold J-A, et al. Prader-Willi Syndrome due to an Unbalanced de novo Translocation t(15;19)(q12;p13.3). *Cytogenet Genome Res* [Internet]. 2016 [cited 2022 Sep 2];150(1):29–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1159/000452611>
51. Dang V, Surampalli A, Manzardo AM, Youn S, Butler MG, Gold J-A, et al. Prader-Willi Syndrome due to an Unbalanced de novo Translocation t(15;19) (q12;p13.3). *Cytogenet Genome Res* [Internet]. 2016 [cited 2022 Sep 2];150(1):29–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1159/000452611>
52. Muscogiuri G, Formoso G, Pugliese G, Ruggeri RM, Scarano E, Colao A; RESTARE. Prader- Willi syndrome: An uptodate on endocrine and metabolic complications. *Rev Endocr Metab Disord*. 2019 Jun;20(2):239-250
53. Entry - #176270 - PRADER-WILLI SYNDROME; PWS - OMIM. Omim.org. Dostupno na adresi: <https://www.omim.org/entry/176270>. Datum pristupa: 05.05.2022.
54. Muscogiuri G, Barrea L, Faggiano F, Maiorino MI, Parrillo M, Pugliese G I sur. Obesity in Prader-Willi syndrome: physiopathological mechanisms, nutritional and pharmacological approaches. *J Endocrinol Invest*. 2021 Oct;44(10):2057-2070.
55. Margolis SS, Sell GL, Zbinden MA, Bird LM. Angelman Syndrome. *Neurotherapeutics*. 2015 Jul;12(3):641-50
56. Yang L, Shu X, Mao S, Wang Y, Du X, Zou C. Genotype-phenotype correlations in angelman syndrome. *Genes (Basel)*. 2021;12(7):987.

57. Entry - #105830 - ANGELMAN SYNDROME; AS – OMIM. Omim.org. Dostupno na adresi: <https://www.omim.org/entry/105830?search=105830&highlight=105830>. Datum pristupa: 06.05.2022.
58. Tonazzini I, Van Woerden GM, Masciullo C, Mientjes EJ, Elgersma Y, Cecchini M. The role of ubiquitin ligase E3A in polarized contact guidance and rescue strategies in UBE3A-deficient hippocampal neurons. *Mol Autism*. 2019 Nov 29;10:41. Yang L, Shu X, Mao S, Wang Y, Du X, Zou C. Genotype-phenotype correlations in angelman syndrome. *Genes (Basel)* [Internet]. 2021 [cited 2022 Sep 2];12(7):987. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34203304/>
59. Samanta D. Epilepsy in Angelman syndrome: A scoping review. *Brain Dev*. 2021 Jan;43(1):32-44.
60. Butler MG. Clinical and genetic aspects of the 15q11.2 BP1-BP2 microdeletion disorder. *J Intellect Disabil Res*. 2017 Jun;61(6):568-579.
61. Entry - #194190 - WOLF-HIRSCHHORN SYNDROME; WHS - OMIM. Omim.org. Dostupno na adresi: <https://www.omim.org/entry/194190?search=%23194190&highlight=194190>. Datum pristupa: 06.05.2022.
62. Chaudhry C, Kaur A, Panigrahi I, Kaur A. Wolf-Hirschhorn syndrome: A case series from India. *Am J Med Genet A*. 2020 [cited 2022 Sep 2];182(12):3048–51.
63. Battaglia A, Carey JC. The delineation of the Wolf-Hirschhorn syndrome over six decades: Illustration of the ongoing advances in phenotype analysis and cytogenomic technology. *Am J Med Genet A*. 2021 Sep;185(9):2748-2755.
64. Kodra Y, Cavazza M, de Santis M, Guala A, Liverani ME, Armeni P, Masini M, Taruscio D. Social Economic Costs, Health-Related Quality of Life and Disability in Patients with Cri Du Chat Syndrome. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Aug 17;17(16):5951.
65. Zhang X, Snijders A, Seagraves R, Zhang X, Niebuhr A, Albertson D, Yang H, Gray J, Niebuhr E, Bolund L, Pinkel D. High-resolution mapping of genotype-phenotype relationships in cri du chat syndrome using array comparative genomic hybridization. *Am J Hum Genet*. 2005 Feb;76(2):312-26.
66. Reserved IU-A. Orphanet: Cri du chat syndrome. Orpha.net. Dostupno na adresi: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=EN&data\\_id=201&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseGroup=123450&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseType=MIM&Disease\(s\)/group%20of](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=201&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=123450&Disease_Disease_Search_diseaseType=MIM&Disease(s)/group%20of)

- %20diseases=Cri-du-chat-syndrome&title=Cri-du-chat-syndrome&search=Disease\_Search\_Simple. Datum pristupa: 06.05.2022.
67. Alkaya DU, Karaman B, Tüysüz B. Three offspring with cri-du-chat syndrome from phenotypically normal parents. *Mol Syndromol*. 2020;11(2):97–103.
  68. Ajitkumar A, Jamil RT, Mathai JK. Cri Du Chat Syndrome. 2022 Jan 25. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 29494067.
  69. Nevado J, Mergener R, Palomares-Bralo M, Souza KR, Vallespín E, Mena R, et al. New microdeletion and microduplication syndromes: a comprehensive review. *Genet Mol Biol*. 2014 ;37:210–9.
  70. Ratan ZA, Zaman SB, Mehta V, Haidere MF, Runa NJ, Akter N. Application of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Technique for the Detection of Genetic Aberration in Medical Science. *Cureus*. 2017 Jun 9;9(6):e1325
  71. Sahajpal NS, Barseghyan H, Kolhe R, Hastie A, Chaubey A. Optical Genome Mapping as a Next-Generation Cytogenomic Tool for Detection of Structural and Copy Number Variations for Prenatal Genomic Analyses. *Genes (Basel)*. 2021 Mar 11;12(3):398.
  72. Rana KS, Holla RG Retd. To determine the frequency of subtelomeric abnormalities in children with idiopathic mental retardation. *Med J Armed Forces India*. 2011 Oct;67(4):326-8
  73. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A I sur. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med*. 2020 Feb;22(2):245-257.
  74. Levy B, Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis. *Fertil Steril*. 2018 Feb;109(2):201-212.
  75. Wit JM, Oostdijk W, Losekoot M, van Duyvenvoorde HA, Ruivenkamp CAL, Kant SG. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Novel genetic causes of short stature. *Eur J Endocrinol*. 2016;174(4):R145-73
  76. Campbell IM, Sheppard SE, Crowley TB, McGinn DE, Bailey A, McGinn MJ, et al. What is new with 22q? An update from the 22q and You Center at the Children’s Hospital of Philadelphia. *Am J Med Genet A*. 2018;176(10):2058–69

77. Gug C, Mozos I, Ratiu A, Tudor A, Gorduza EV, Caba L, et al. Genetic counseling and management: The first study to report NIPT findings in a Romanian population. *Medicina (Kaunas)*. 2022;58(1):79
78. Larroya M, Tortajada M, Mensión E, Pauta M, Rodriguez-Revenga L, Borrell A. Have maternal or paternal ages any impact on the prenatal incidence of genomic copy number variants associated with fetal structural anomalies? *PLoS One*. 2021;16(7)
79. Borrell A, Grande M, Meler E, Sabrià J, Mazarico E, Muñoz A, et al. Genomic microarray in fetuses with early growth restriction: A multicenter study. *Fetal Diagn Ther*. 2017;42(3):174–80
80. Li F-X, Xie M-J, Qu S-F, He D, Wu L, Liang Z-K, et al. Detection of chromosomal abnormalities in spontaneous miscarriage by low-coverage next-generation sequencing. *Mol Med Rep*. 2020;22(2):1269–76
81. Wang Y, Li Y, Chen Y, Zhou R, Sang Z, Meng L, et al. Systematic analysis of copy-number variations associated with early pregnancy loss. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2020;55(1):96–104
82. van Karnebeek CDM, Koevoets C, Sluijter S, Bijlsma EK, Smeets DFMC, Redeker EJ, et al. Prospective screening for subtelomeric rearrangements in children with mental retardation of unknown aetiology: the Amsterdam experience. *J Med Genet*. 2002;39(8):546–53
83. Monteiro RAC, de Freitas ML, Vianna GS, de Oliveira VT, Pietra RX, Ferreira LCA, et al. Major contribution of genomic copy number variation in syndromic congenital heart disease: The use of MLPA as the first genetic test. *Mol Syndromol*. 2017;8(5):227–35
84. Poirsier C, Besseau-Ayasse J, Schluth-Bolard C, Toutain J, Missirian C, Le Caignec C, Bazin A i sur. A French multicenter study of over 700 patients with 22q11 deletions diagnosed using FISH or aCGH. *Eur J Hum Genet*. 2016 Jun;24(6):844-51.
85. Méndez-Rosado LA, García D, Molina-Gamboa O, García A, de León N, Lantigua-Cruz A, et al. Algorithm for the diagnosis of patients with neurodevelopmental disorders and suspicion of a genetic syndrome. *Arch Argent Pediatr*. 2020;118(1):52–5.
86. Hu Y, Xue X, Fu J. Case report: Clinical analysis of seven neonates with Prader-Willi syndrome and review of the literature. *Front Pediatr*. 2021;9:633532

87. de Sousa Lima Strafacci A, Fernandes Camargo J, Bertapelli F, Guerra Júnior G. Growth assessment in children with Williams-Beuren syndrome: a systematic review. *J Appl Genet.* 2020;61(2):205–12.
88. Leka-Emiri S, Petrou V, Manolakos E, Thomaidis L, Fotinou A, Vlachopapadopoulou E, et al. 17p13.1 microduplication syndrome in a child, familial short stature, and growth hormone deficiency: A case report and review of the literature. *Mol Syndromol.* 2019;9(6):300–5
89. Mekkawy MK, Mazen IM, Kamel AK, Vater I, Zaki MS. Genotype/phenotype correlation in a female patient with 21q22.3 and 12p13.33 duplications. *Am J Med Genet A.* 2016 ;170A(4):1050–8.
90. Zhou C-X, Zhu X-Y, Zhu Y-J, Gu L-L, He L-L, Liu W, et al. Prenatal features of 17q12 microdeletion and microduplication syndromes: A retrospective case series. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2021;60(2):232–7.
91. Pariani MJ, Spencer A, Graham JM Jr, Rimoin DL. A 785kb deletion of 3p14.1p13, including the FOXP1 gene, associated with speech delay, contractures, hypertonia and blepharophimosis. *Eur J Med Genet.* 2009;52(2–3):123–7.
92. Rein B, Yan Z. 16p11.2 copy number variations and neurodevelopmental disorders. *Trends Neurosci.* 2020;43(11):886–901.
93. Niu Y, Xie C, Du Z, Zeng J, Chen H, Jin L, et al. Genome-wide association study identifies 7q11.22 and 7q36.3 associated with noise-induced hearing loss among Chinese population. *J Cell Mol Med.* 2021;25(1):411–20.

## 10. ŽIVOTOPIS

### **Ime i prezime:**

Dominik Seletković

### **Datum i mjesto rođenja:**

10.siječnja 1997., Osijek

### **Obrazovanje:**

2016. – 2022. Sveučilišni integrirani preddiplomski i diplomski studij medicine na Medicinskom fakultetu u Osijeku

2015. - 2020. Preddiplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijske dijagnostike na Medicinskom fakultetu u Osijeku

2011. - 2015. Opća gimnazija Osijek

2003. - 2011. Osnovna škola Ljudevita Gaja u Osijeku

### **Nagrade:**

Dekanova nagrada za izvannastavnu aktivnost u akademskoj 2020./2021. godini.

### **Aktivnosti:**

Demonstrator na katedri za farmakologiju 2019./20. i 2020/21.

Sudjelovanje na kongresu OSCON 2022. godine