



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ
ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΠΑΙΔΩΝ «ΑΓΙΑ ΣΟΦΙΑ»**

Διδακτορική Διατριβή:

ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

**ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΚΑΡΥΟΤΥΠΟΥ/ Array-CGH:
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΓΟΝΟΤΥΠΟΥ ΜΕ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟ**

ΑΡΕΤΗ ΣΥΡΜΟΥ

ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2017

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 20/1/2011

ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:

Σοφία Κίτσιου-Τζέλη, Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
(Επιβλέπουσα Καθηγήτρια)

Εμμανουήλ Καναβάκης

Ομότιμος Καθηγητής Ιατρικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

Μαρία Τζέτη

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γενετικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΘΕΜΑΤΟΣ: 20/1/2011

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: 19/ 7/2017

ΜΕΛΗ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:

Σοφία Κίτσιου-Τζέλη, Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
(Επιβλέπουσα Καθηγήτρια)

Εμμανουήλ Καναβάκης

Ομότιμος Καθηγητής Ιατρικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

Μαρία Τζέτη

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γενετικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

Ελένη Φρυσίρα

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Κλινικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

Μαρίζα Τσολιά

Καθηγήτρια Παιδιατρικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

Ευαγγελία Χαρμανδάρη

Καθηγήτρια Παιδιατρικής και Εφηβικής Ενδοκρινολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

Αντώνης Καττάμης

Καθηγητής Παιδιατρικής Αιματολογίας- Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ:

Πέτρος Π. Σφηκάκης

Καθηγητής Παθολογίας

Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

ΟΡΚΟΣ
ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ



ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΗΙΤΡΟΝ
ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ
ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ
ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΙΝ ΚΑΤΑ
ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ
ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΘΗΝ ΤΗΝΔΕ ΗΤΗΣ
ΑΣΘΑΙΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΧΗΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ
ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ
ΚΑΙ ΒΙΟΝ ΚΟΙΝΩΣΑΣ ΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ
ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ ΘΑΙ
ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΟΥΤΕΩΝ ΑΔΕΛΦΟΙΣ

ΙΣΩΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΗΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ
ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΣ
ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ
ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ
ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕ
ΓΡΑΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΟΑΛΛΟ
ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ ΔΙΑΙΤΗ ΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΟΦΕΛΕΙΑ ΚΑΝΟΝΩΝ
ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΕΠΙΔΗΛΑΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙ
ΚΗΝ ΕΙΡΖΕΙΝ ΟΥΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΥΠΟΧΕΙΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ
ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΟΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ. ΠΕΣΣΟΝ ΘΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ
ΑΓΝΟΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ
ΤΗΝ ΕΜΗΝ ΟΥΤΕ ΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΑΙΘΙΟΝΤΑΣ ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ
ΕΡΓΑ ΤΗΣΙ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡΗΖΙΟΣ ΤΗΣ ΔΕ ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ
ΕΣΩ ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΟΦΕΛΕΙΑ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ
ΑΔΙΚΙΑΣ ΕΚΟΥΣΙΑΣ ΚΑΙ ΘΘΟΡΙΑΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΘΡΟΔΙΣΙ
ΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ ΕΛΕΥ
ΦΕΡΩΝΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ ΔΑ ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΙΩΩ Η Α
ΚΟΥΣΩ Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ ΑΜΗ
ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΑΔΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩΣΙΓΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ
ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ
ΠΟΚΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΝ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΙΣ ΤΟΝ
ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑ ΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΚΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ ΤΑΝΑΝΤΙΑ
ΤΟΝΤΕΩΝ

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Όνομα: Σύρμου Αρετή

Ημερομ. Γεννήσεως: 05 Νοεμβρίου 1984

Τόπος γέννησης: Καρδίτσα

Εθνικότητα: Ελληνική

Διεύθυνση: Γκιννοσάτη 33, 14452, Μεταμόρφωση Αττικής

Τηλέφωνο: 6973883366

Ηλεκτρονική διεύθυνση: asyrmou@hotmail.com

Οικογενειακή κατάσταση: Άγαμη

1.ΣΠΟΥΔΕΣ- ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

1999-2002: Πρώτο Λύκειο Καρδίτσας, Πτυχίο με βαθμό: 19/20

2002-2008: Πτυχίο Ιατρικής Σχολής, Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, Πτυχίο με βαθμό: "Λιαν Καλώς"

8/2008–11/2008: Συνεργάτης ιατρός Δερματολογικού Ιατρείου, Δερματολόγος
Κ. Μαρία Βογιατζή

11/2008–11/2009: Υπόχρεη Υπηρεσίας Υπαίθρου, Βαρδάκειο και Πρώιο
Γενικό Νοσοκομείο Σύρου, Κέντρο Υγείας Μυκόνου

2/2010-9/2012: Εφημερεύουσα ιατρός, Ψυχιατρική Κλινική Σινούρη,
Διευθυντής κ. Παντελής Λαζαρίδης

10/2012-7/2014: Άσκηση Ιατρικής ειδικότητας Παιδιατρικής, Γενικό
Νοσοκομείο Καρδίτσας

7/2014-10/2016: Άσκηση Ιατρικής ειδικότητας Παιδιατρικής, Β΄
Πανεπιστημιακή Παιδιατρική Κλινική Νοσοκομείο Παίδων «Π&Α Κυριακού»

11/2015: Πιστοποιητικό Εκπαίδευσης στο σεμινάριο ανανηπτών,
Εξειδικευμένη Εκπαίδευση και Προνοσοκομιακή Παιδιατρική,
Ελληνική Εταιρία Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης (ΕΕΚΑΑ),
πιστοποιημένο σεμινάριο από το American Academy of Pediatrics

2017: Τίτλος Ειδικότητας Παιδιατρικής, Νομαρχία Αθηνών, ΕΚΠΑ

2017: Πιστοποιητικό επάρκειας στην Πρότυπη Δοκιμασία Ανίχνευσης
Διαταραχών Επικοινωνίας Αυτιστικού Φάσματος “**παίς**”,
Μονάδα Αναπτυξιακής Παιδιατρικής,Επιστημονικά υπεύθυνη: Λωρέττα
Θωμαΐδου, ΕΚΠΑ

5/2017-σήμερα: Ιδιώτης παιδίατρος, Παιδιατρικό Ιατρείο, Μεταμόρφωση

06/2017-σήμερα: Επιμελήτρια παιδιατρικής κλινικής Ευρωκλινικής Παίδων

2017: Παρακολούθηση 2^{ου} μετεκπαιδευτικού σεμιναρίου Μητρικού Θηλασμού,
διάρκειας 35 ωρών, βασισμένο στις προτάσεις της Παγκόσμιας Οργάνωσης
Υγείας, ΡΕΑ Μαιευτική Γυναικολογική Κλινική ΑΕ, 8-12/5/2017

2017: Παρακολούθηση 12^{ου} μετεκπαιδευτικού σεμιναρίου Μητρικού Θηλασμού, διάρκειας 35 ωρών, βασισμένο στις προτάσεις της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας, Π Γ Νοσοκομείον Αττικών

Εκπόνηση Διδακτορικής Διατριβής 20/1/2011-19/7/2017: Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Αγία Σοφία, με θέμα:

«Έλεγχος ασθενών με συγγενείς ανωμαλίες με τη μέθοδο του μοριακού καρυοτύπου (array-CGH): Συσχέτιση γονοτύπου με φαινότυπο», Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής

2.ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

2.1. Δημοσιεύσεις σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά (Pubmed)

1. Tzetis Maria, Stefanaki Kalliopi, **Syrmou Areti**, Kosma Konstantina, Giannikou Krinio, Oikonomakis Vasilis, Choulakis Michael, Kolialexi Aggeliki, Makrythanassis Periklis, Sofia Kitsiou-Tzeli

An unusual case of dup 22q11.1q11.21, cat-eye syndrome phenotype and extragonadal mature teratoma: Review of the literature.

Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. 2012; 94(7):561-566.

2. Sophia Kitsiou-Tzeli, Helen Frysira, Krinio Giannikou, **Areti Syrmou**, Konstantina Kosma, Georgia Kakourou, Eleni Leze, Emmanuel Kanavakis, Maria Tzetis

Microdeletion and microduplication 17q21.31 plus an additional CNV, in patients with intellectual disability, identified by array-CGH.

Gene. 2012; 15;492(1):319-324.

3. Kitsiou-Tzeli S, Konstantinidou A, Sofocleous C, Kosma K, **Syrmou A**, Giannikou K, Sifakis S, Makrythanasis P, Tzetis M

Familial Pelizaeus-Merzbacher disease caused by a 320.6-kb Xq22.2 duplication and the pathological findings of a male fetus.

Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. 2012; 94(6):494-498.

4. Giannikou K, Fryssira H, Oikonomakis V, **Syrmou A**, Kosma K, Tzetis M, KitsiouTzeli S, Kanavakis E

Further delineation of novel 1p36 rearrangements by array-CGH analysis: Narrowing the breakpoints and clarifying the "extended" phenotype.

Gene. 2012; 15;506(2):360-368.

5. Tsoutsou E, Tzetis M, Giannikou K, **Syrmou A**, Oikonomakis V, Kosma K, Kanioura A, Kanavakis E, Fryssira H

Array-CGH revealed one of the smallest 16q21q22.1 microdeletions in a female patient with psychomotor retardation.

Eur J Paediatr Neurol. 2013; 17(3):772-776.

6. **Areti Syrmou**, Maria Tzetis, Sophia Kitsiou-Tzeli, Helen Fryssira, Konstantina Kosma, Vassilis Oikonomakis, Krinio Giannikou, Periklis Makrythanasis, Emmanuel Kanavakis

Array Comparative Genomic Hybridization (array-CGH) as a clinical diagnostic tool in syndromic and nonsyndromic congenital heart disease.

Pediatr Res. 2013; 73(6):772-776.

7. Oikonomakis V, Kosma K, Mitrakos A, Sofocleous C, Pervanidou P, **Syrmou A** Pampanos A, Psoni S, Fryssira H, Kanavakis E, Kitsiou-Tzeli S, Tzetis M

Reccurent copy number variations as risk factors for autism spectrum disorders: analysis of the clinical implications.

Clin Genet.2016; 89(6):708-718.

8. Krepis P, Argyri I, Krepi A, **Syrmou A**, Spyridis N, Tsolia M
Short-Course Regimens of Liposomal Amphotericin B for the Treatment of Mediterranean Visceral Leishmaniasis in Children: An 11-Year Retrospective Study at a Tertiary Care Center.

Pediatr Infect Dis J. 201736(9):849-854.

2.2. Δημοσιεύσεις σε ελληνικά επιστημονικά περιοδικά

1. Κίτσιου – Τζέλη Σ, Τζέτη Μ, Γιαννίκου Κ, **Σύρμου Α**, Οικονομάκης Β, Κοσμά Κ, Λεζέ Ε, Καναβάκης Ε

Σύνδρομο μικροελλείμματος και μικροδιπλασιασμού 17q21.31 διεγνωσμένα με τη νεότερη τεχνολογία μοριακού καρυοτύπου (Array-CGH)

Παιδιατρική 3 (74):108-117, 2012

2. Ελένη Λεζέ, Μαρία Τζέτη, Κωνσταντίνα Κοσμά, **Αρετή Σύρμου**, Κρινιώ Γιαννίκου, Βασίλης Οικονομάκης, Ελισάβετ Κουβίδη, Αγγελική Νίκα, Ιωάννης Καπετανάκης, Εμμανουήλ Καναβάκης, Σοφία Κίτσιου-Τζέλη

Η μοριακή διερεύνηση του συνδρόμου Jacobsen με την εφαρμογή συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού (array CGH)

Παιδιατρική 3-4 (75):108-115, 2012

2.3 Συμμετοχή σε κεφάλαια τιμητικών τόμων

1. ΤΙΜΗΤΙΚΟΣ ΤΟΜΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΟΥ Δ.Φ. ΚΟΚΚΙΝΟΥ», ΕΚΠΑ

Αθήνα 2012;675-684 Εμμ. Καναβάκης, Μ. Τζέτη, Ε. Φρυσίρα, Κ. Κοσμά, **Α. Σύρμου**, Β. Οικονομάκης, Κ. Γιαννίκου, Σ. Κίτσιου – Τζέλη

Αυτοτελές Κεφάλαιο: «Υπομικροσκοπικές γενομικές ανακατατάξεις ανιχνευόμενες με την εφαρμογή μικροσυστοιχίας συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού (array CGH) σε άτομα με συγγενείς καρδιοπάθειες»

2. ΤΙΜΗΤΙΚΟΣ ΤΟΜΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΟΥ ΕΜ. ΚΑΝΑΒΑΚΗ, ΕΚΠΑ

Αθήνα 2016;767-782 Μ Τζέτη, Ε Φρυσίρα, Κ Κοσμά, Σ Ψώνη, **Α Σύρμου**, Κ Γιαννίκου, Β Οικονομάκης, Α Μητράκος, Μ Μπραουδάκη, Σ. Κίτσιου Τζέλη

Αυτοτελές Κεφάλαιο: «Ο Μοριακός Καρυότυπος (Συγκριτικός Γενωμικός Υβριδισμός με Μικροσυστοιχίες- Array-CGH) ως διαγνωστικό Εργαλείο: Εμπειρί 9 χρόνων»

3.ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

3.1. Ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια

1. Tzetis M, Kitsiou-Tzeli S, Frysira E, Giannikou K, Oikonomakis V, **Syrmou A**, Kosma K, Kanavakis E.

Array CGH (Agilent 244K and 4x140K) analysis in patients with MR/DD/MCA
39th European Human Genetics Conference, ESHG, Amsterdam, Netherlands, May 28-31, 2011 (**European Journal of Human Genetics** 2011; 19(2): 108-109)

2. Tzetis M, Stefanaki K, **Syrmou A**, Kosma K, Leze E, Giannikou K, Oikonomakis V, Choulakis M, Kolialexi A, Makrythanasis P, Kanavakis E, Kitsiou-Tzeli S.

*Cat-eye syndrome phenotype and extra gonadal mature teratoma:
an unusual case of dup 22q11.1q11.21*

39th European Human Genetics Conference, ESHG, Amsterdam, Netherlands, May 28-31, 2011 (**European Journal of Human Genetics** 2011; 19(2): 80-81)

3. M. Tzetis, S. Kitsiou-Tzeli, H. Frissyra, K. Giannikou, V. Oikonomakis, **A. Syrmou**, K. Kosma, E. Kanavakis.

Array-CGH (Agilent 244K and 4X180K) analysis in patients with MR/MCA/DD
European Cytogeneticists Association (ECA) 8th European Cytogenetics Conference, Porto, Portugal, 2-5 July 2011 (**Chromosome Research** 2011; 19(1): S56)

4. Kitsiou-Tzeli S, Stefanaki K, **Syrmou A**, Kosma K, Giannikou K, Oikonomakis V, Choulakis M, Kolialexi A, Makrythanasis P, Tzetis M.

An unusual case of dup 22q11.1q11.21: Cat-eye syndrome and extragonadal mature teratoma
European Cytogeneticists Association (ECA) 8th European Cytogenetics Conference, Porto, Portugal, July 2-5, 2011 (**Chromosome Research** 2011; 19(1): S46-S47)

5. Kosma K, Tzetis M, Kitsiou-Tzeli S, Fryssira H, Giannikou K, Oikonomakis V, **Syrmou A**, Kanavakis E.
The clinical implications of Array CGH (Agilent 244 K and 4X180K) analysis in paediatric services
 52th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Research
 Newcastle, United Kingdom, October 14-17, 2011 (**Programme Book**,
www.kenes.com/paediatric-research, 2011; p416).

6. **Syrmou A**, Kitsiou-Tzeli S, Fryssira H, Kosma K, Oikonomakis V, Giannikou K, Kanavakis E.
Array comparative Genomic Hybridization (array-CGH) as a clinical diagnostic tool in syndromic and nonsyndromic Congenital Heart Defects
 40th European Human Genetics Conference, ESHG, Nuremberg, Germany, June 23-26, 2012 (**European Journal of Human Genetics** 2012; 20(1): 221)

7. Kitsiou-Tzeli S, Konstantinidou A, Sofocleous C, Kosma K, **Syrmou A**, Giannikou K, Sifakis S, Makrythanasis P, Tzetis M.
Pathological findings of a male fetus with familial Pelizaeus-Merzbacher disease caused by a 320.6 Kb Xq22.2 duplication
 40th European Human Genetics Conference, ESHG, Nuremberg, Germany, June 23-26, 2012 (**European Journal of Human Genetics** 2012; 20(1): 368)

8. Fryssira H, **Syrmou A**, Psoni S, Kitsiou-Tzeli S, Mavrou A, Claes K, Kanavakis E.
Genetic testing for Neurofibromatosis (NF1). When and why?
 40th European Human Genetics Conference, ESHG, Nuremberg, Germany, June 23-26, 2012 (**European Journal of Human Genetics** 2012; 20(1): 367)

9. Giannikou K, Kitsiou-Tzeli S, Fryssira H, Oikonomakis V, Kosma K, **Syrmou A**, Xaidara A, Kanavakis E, Tzetis M.
Array-CGH detection of cryptic genomic rearrangements in children with X-Linked Intellectual Disability and Congenital Malformations

40th European Human Genetics Conference, ESHG, Nuremberg, Germany, June 23-26, 2012 (**European Journal of Human Genetics** 2012; 20(1): 103-104)

10. M. Tzetis, S. Kitsiou-Tzeli, H. Fryssira, K. Giannikou, V. Oikonomakis, K. Kosma, **A. Syrmou**, A. Xaidara, E. Kanavakis.

Clinical utility of molecular karyotyping using high resolution array comparative genomic hybridization (aCGH) 40th European Human Genetics Conference, ESHG, Nuremberg, Germany, June 23-26, 2012 (**European Journal of Human Genetics** 2012; 20(1): 106-107)

11. Kosma K, Tzetis M, Giannikou K, Oikonomakis V, Xaidara A, Dinopoulos A , Youroukos S, **Syrmou A**, Kitsiou-Tzeli S, Kanavakis E.
Serious neurological entity in two unrelated patients with Xq13.1 duplication 41th European Human Genetics Conference, ESHG, Paris, France, June 8-11, 2013 (**European Journal of Human Genetics** 2013; 20(1): 106-107)

12. **A. Syrmou**, Tzetis M, Kosma K, Oikonomakis V, Giannikou K, Fryssira H, Kanavakis Em, Kitsiou-Tzeli S.

Kleefstra syndrome: the rediscovery of an old syndrome through array Comparative Hybridization technology (array-CGH) 41th European Human Genetics Conference, ESHG, Paris, France, June 8-11, 2013 (**European Journal of Human Genetics** 2013; 20(1): 106-107)

3.2. Ανακοινώσεις σε ελληνικά συνέδρια

1. Κοσμά Κ, Τζέτη Μ, **Σύρμου Α**, Λεζέ Ε, Γιαννίκου Κ. Οικονομάκης Β, Νίκα Α, Κουβίδη Ε, Καπετανάκης Ι. Κολιαλέξη Α, Μαύρου Α, Καναβάκης Ε, Κίτσιου-Τζέλη Σ.

Διάγνωση συνδρόμου Jacobsen με καρυότυπο 46,XXdel(11) (q23.3-qter) και επιβεβαίωση με μοριακό καρυότυπο (array CGH) σε θήλυ νεογνό μητέρας 36 ετών

16^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Αθήνα 21-23 Οκτωβρίου, 2011

2. **Σύρμου Α**, Στεφανάκη Κ, Κοσμά Κ, Λεζέ Ε, Τζέτη Μ, Γιαννίκου Κ, Οικονομάκης Β, Χουλάκης Μ, Κολιαλέξη Α, Κίτσιου-Τζέλη Σ, Μαύρου Α, Καναβάκης Ε.

Ασυνήθης περίπτωση τραχηλικού εξωγοναδικού τερατώματος σε ασθενή με σύνδρομο Cat-eye [dup22q11.1-q11.21; 1.6Mb]

49ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Μεσσηνία, 10-12 Ιουνίου, 2011

3. Λεζέ Ε, Τζέτη Μ, Κοσμά Κ, **Σύρμου Α**, Γιαννίκου Κ, Οικονομάκης Β, Νίκα Α, Καπετανάκης Ι, Κίτσιου-Τζέλη Σ, Καναβάκης Ε.

Η εφαρμογή του συγκριτικού γονιδιωματικού υβριδισμού (Array-CGH) στη διάγνωση του συνδρόμου Jacobsen

49ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Μεσσηνία, 10-12 Ιουνίου, 2011

4. **Σύρμου Α**, Τζέτη Μ, Κοσμά Κ, Φρυσίρα Ε, Οικονομάκης Β, Γιαννίκου Κ, Μητράκος Α, Καναβάκης Ε, Κίτσιου-Τζέλη Σ

Σύνδρομο Kleefstra διερεύνηση με την εφαρμογή Συγκριτικού Γενωμικού Υβριδισμού (array-CGH),

1^ο Συνέδριο ΣΙΓΕ, Αθήνα, 30-1/6/2013

5. Γιαννίκου Κ, Τζέτη Μ, Φρυσίρα Ε, Κοσμά Κ, Οικονομάκης Β, **Σύρμου Α**, Ξαιδάρα Α, Κίτσιου-Τζέλη Σ, Καναβάκης Ε
Κλινική εφαρμογή των μικροσυστοιχειών Συγκριτικού Γενωμικού Υβριδισμού (array-CGH) στις επιληπτικές διαταραχές
1^ο Συνέδριο ΣΙΓΕ, Αθήνα, 30-1/6/2013

6. Αντωνίου Ή, **Σύρμου Α**, Πρωτοπαππά Ε, Γκινή Μ, Φερεντίνου Ε, Λεοντάρη Κ, Παπαχρήστου Χ, Μπάρκα Χ.
Δηλητηριάσεις στα παιδιά. Επιδημιολογικά δεδομένα κατά τη διάρκεια πέντε ετών σε δευτεροβάθμιο νοσοκομείο
51ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη, 21-23 Ιουνίου, 2013

7. Αντωνίου Ή, Πρωτοπαππά Ε, **Σύρμου Α**, Φερεντίνου Ε, Λεοντάρη Κ, Γκινή Μ, Παπαχρήστου Χ, Μπάρκα Χ.
Επιδημιολογικά στοιχεία διακομιδών δευτεροβάθμιου νοσοκομείου. Σύγκριση δεδομένων 5ετίας 2008-2012 με αντιστοιχεία 5ετίας 1998-2002
51ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη, 21-23 Ιουνίου, 2013

8. Λύπας Δ, Γκινή Μ, Φερεντίνου Ε, Πρωτόπαπα Ε, **Σύρμου Α**, Λεοντάρη Κ.
Η σωματική τιμωρία παιδιών από γονείς ημιορεινών και ορεινών περιοχών
51ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη, 21-23 Ιουνίου, 2013

4. ΒΡΑΒΕΙΑ

1. ΧΟΡΗΓΙΑ “ΠΑΙΔΙ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ” της ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ PROCTER & GAMBLE
για την ενθάρρυνση της επιστημονικής έρευνας στο χώρο της Παιδιατρικής στην Ελλάδα για το Ακαδημαϊκό Έτος 2011-2012»
Ανταγωνιστικό Πρόγραμμα μετά από αξιολόγηση από 3μελή Επιτροπή εν ενεργεία Καθηγητών 1^{ης} βαθμίδας, Παιδιατρικών Κλινικών των Ελληνικών Πανεπιστημίων: «Ανίχνευση υπομικροσκοπικών χρωμοσωμικών διαταραχών

σε ασθενείς με αυτισμό ή διαταραχές αυτιστικού φάσματος με τη μέθοδο μικροσυστοιχιών συγκριτικού γονιδιωματικού υβριδισμού (array-CGH)»

Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής: Κοσμά Κ, Τζέτη Μ, Οικονομάκης Β, Κ. Γιαννίκου, **Α. Σύρμου**, Φρυσίρα Ε, Κίτσιου-Τζέλη Σ. Καναβάκης Ε.

2. ΧΩΡΕΜΕΙΟ ΕΠΑΘΛΟ της ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΙΑΣ,
50^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Έτος 2012, για την συμμετοχή στην εργασία με θέμα:

« Η νεότερη τεχνολογία του μοριακού καρυοτύπου στην παιδιατρική κλινική πράξη» Κίτσιου-Τζέλη Σ, Τζέτη Μ, Οικονομάκης Β, Γιαννίκου Κ., Κοσμά Κ, **Σύρμου Α.**, Φρυσίρα Ε., Καναβάκης Ε.

5. Ξένες Γλώσσες

Αγγλικά: First Certificate in English (Lower) University of Cambridge

Γαλλικά: Delf 1, Diplome d' etudes en langue francaise

Certificat d' aptitude de langue francaise niveau certificat

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΟΛΟΓΟΣ.....	18
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	20
ABSTRACT.....	23
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
A1. Εισαγωγή: Συγγενείς ανωμαλίες.....	26
1.1 Συχνότητα συγγενών ανωμαλιών.....	26
1.2 Επιπολασμός των συγγενών ανωμαλιών.....	28
1.3 Ταξινόμηση συγγενών ανωμαλιών.....	32
1.4 Κατηγορίες συγγενών ανωμαλιών.....	35
1.4.1 Δυσμορφίες (Malformations) Παραδείγματα.....	37
1.4.2 Διασπάσεις (disruption)-Παραδείγματα.....	37
1.4.3 Παραμορφώσεις (deformations) Παραδείγματα.....	38
1.4.4 Δυσπλασίες (dysplasia)- Παραδείγματα.....	39
1.5 Παράγοντες κίνδυνου για την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών.....	39
1.5.1 Μεγάλη ηλικία της μητέρας.....	39
1.5.2 Μεγάλη ηλικία του πατέρα.....	40
1.5.3 Συγγένεια μεταξύ των γονέων- ενδογαμία.....	40
1.5.4 Πολύδυμες κυήσεις.....	41
1.5.5 Χαμηλό βάρος γέννησης.....	42
1.5.6 Διαταραχές της κύησης.....	42
1.5.7 Τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής	42
1.6 Αιτιολογία Συγγενών Ανωμαλιών.....	44
1.6.1 Συγγενείς Ανωμαλίες γενετικής αιτιολογίας.....	45
1.6.1.α.Μονογονιδιακά νοσήματα.....	45
1.6.1.β.Χρωμοσωμικά νοσήματα.....	46
1.6.2 Συγγενείς ανωμαλίες περιβαλλοντικής αιτιολογίας.....	47
1.6.3 Συγγενείς ανωμαλίες άγνωστης αιτιολογίας.....	48
1.7 Πρόληψη συγγενών ανωμαλιών.....	48
1.8 Διαγνωστική προσέγγιση ασθενών με συγγενείς ανωμαλίες.....	54

1.9 Ο ρόλος των Ποικιλομορφισμών αριθμού αντιγράφων (CNVs) στις συγγενείς ανωμαλίες.....	54
1.10 Εφαρμογή Μικροσυστοιχιών Γενωμικού Συγκριτικού Υβριδισμού με ολιγονουκλεοτίδια (a-CGH) για τη μελέτη ατόμων με πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες.....	61
1.10.1 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί της τεχνολογίας a-CGH.....	66
1.10.2 Ποικιλομορφίες αριθμού αντιγράφων (CNVs)....	67
1.10.3. Agilent array-CGH μικροσυστοιχίες ολιγονουκλεοτιδίων.....	68
B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
B1. Σκοπός της παρούσας μελέτης	70
B2. Υλικό της μελέτης.....	73
B3. Μεθοδολογία Μικροσυστοιχιών Συγκριτικού Γενωμικού Υβριδισμού (array-CGH).....	75
3.1 Απομόνωση του γενωμικού DNA.....	76
3.2 Φωτομέτρηση του γενωμικού DNA.....	76
3.3 Ενζυμική πέψη του γενωμικού DNA.....	76
3.4 Ενζυμική Φθορίζουσα Σήμανση γενωμικού DNA.....	76
3.5 Προετοιμασία-διαδικασία υβριδισμού.....	77
3.6 Πλύσεις array-CGH μικροσυστοιχιών.....	77
3.7 Σάρωση μικροσυστοιχιών με υψηλής ευκρίνειας array-CGH Agilent DNA Microarray SureScan σαρωτή.....	77
3.8 Ανάλυση array-CGH δεδομένων.....	78
Γ.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	79
Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	120
Δ.1 Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών όπου ανιχνεύτηκαν γνωστά σύνδρομα που σχετίζονται με τον κλινικό φαινότυπο.....	124
Δ.2 Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών με συγγενείς καρδιοπάθειες και έλεγχος με μοριακό καρυότυπο.....	136
Ε.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	146
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	148

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών αρχικά υπό την διεύθυνση του Ομότιμου Καθηγητή κ. Εμμανουήλ Καναβάκη (20-1-2011 έως 30-8-2014), στη συνέχεια μέχρι την περάτωσή της (19-7-2017) υπό την διεύθυνση της Καθηγήτριας κ. Σοφίας Κίτσιου-Τζέλη. Η μελέτη επικεντρώθηκε στην μελέτη παιδιών με μία ή περισσότερες συγγενείς ανωμαλίες με ή χωρίς αυτισμό ή Νοητική Υστέρηση με την μέθοδο του Μοριακού Καρυοτύπου (array-CGH).

Η παρουσία μου στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών σηματοδοτεί την έναρξη της Παιδιατρικής μου σταδιοδρομίας. Αποτελεί ιδιαίτερη τιμή για μένα η συνεργασία με όλο το επιστημονικό προσωπικό του Εργαστηρίου και κατά συνέπεια αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω όλους και ιδιαίτερα:

Τον Ομότιμο Καθηγητή Ιατρικής Γενετικής κ. Εμμανουήλ Καναβάκη και μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής που με δέχτηκε στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής και μου προσέφερε τη δυνατότητα να ξεκινήσω και να διεκπεραιώσω την παρούσα διδακτορική διατριβή.

Την Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής κ. Σοφία Κίτσιου-Τζέλη και Επιβλέπουσα στη τριμελή συμβουλευτική επιτροπή για το ενδιαφέρον της και την ανεκτίμητη συμβολή της στον σχεδιασμό της μελέτης, στην επιλογή των ασθενών και στην καθοδήγηση που μου παρείχε σε όλο αυτό το χρονικό διάστημα μέχρι την ολοκλήρωση και τη συγγραφή της διατριβής αλλά και για τις γνώσεις και την εμπειρία που απέκτησα κοντά της.

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γενετικής κ. Μαρία Τζέτη και μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής για την προθυμία της και το ενδιαφέρον της να με εκπαιδεύσει, την υποστήριξη και τις συμβουλές της σε όλα τα στάδια.

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Κλινικής Γενετικής κ. Ελένη Φρουσίρα, που μου παραχώρησε ευγενικά το δικό της υλικό ασθενών για τη μελέτη και συνέβαλε σε σημαντικό βαθμό στην εκπαίδευση μου στην κλινική γενετική.

Την Ομότιμη Καθηγήτρια Γενετικής κ. Αριάδνη Μαύρου για το ειλικρινές ενδιαφέρον της στα στάδια του κυτταρογενετικού ελέγχου των ασθενών της μελέτης.

Όλο το επιστημονικό, τεχνολογικό και γραμματειακό προσωπικό του Εργαστηρίου που υπήρξαν άριστοι συνεργάτες για μένα και ιδιαίτερα την Ακαδημαϊκή Υπότροφο κ. Κωνσταντίνα Κοσμά για τη συνεχή υποστήριξή της στη διεξαγωγή της μελέτης.

Θερμά ευχαριστώ όλους τους Καθηγητές της επταμελούς επιτροπής που με τίμησαν με την αποδοχή τους να συμμετέχουν ως μέλη.

Τέλος οφείλω ευχαριστίες όχι μόνο στα παιδιά που συμμετείχαν στην μελέτη αλλά και στις οικογένειες των ασθενών που συναίνεσαν να συμμετέχουν στη χρήση του βιολογικού υλικού προκειμένου να περατωθεί η συγγραφή της διατριβής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο όρος συγγενείς ανωμαλίες αναφέρεται σε κάθε δομική, λειτουργική, μεταβολική διαταραχή που συμβαίνει στο έμβρυο κατά την διάρκεια της προγεννητικής ανάπτυξης και γίνεται εμφανής είτε στη γέννηση είτε αργότερα στη νεογνική/ βρεφική ή μετέπειτα ηλικία, με αποτέλεσμα τη σωματική ή νοητική μειονεξία.

Υπολογίζεται τουλάχιστον ότι το 2% των εμβρύων και των βρεφών παρουσιάζουν μείζονες συγγενείς ανωμαλίες, φτάνοντας περίπου το 6-7% σε μητρώα συστηματικής καταγραφής συγγενών ανωμαλιών. Αντιπροσωπεύουν το 1/3 των εισαγωγών σε παιδιατρικά τμήματα, και περίπου το 20 με 25% των αιτιών θανάτου κατά την περιγεννητική περίοδο, κατέχοντας την πρώτη αιτία θανάτου στη βρεφική ηλικία σε όλο το δυτικό κόσμο. Στο 30% των νεογνών με τις δομικές ανωμαλίες που θα επιβιώσουν στην περιγεννητική περίοδο συνεχίζεται να απειλείται η ζωή τους στην νεογνική και πρώτη βρεφική ηλικία. Στις ηλικίες μεταξύ 1 έως 5 ετών καταλαμβάνουν τη δεύτερη κατά σειρά αιτία θανάτου μετά τα παιδικά ατυχήματα, ενώ βρίσκονται μέσα στις πρώτες πέντε αιτίες θανάτου κατά την εφηβεία.

Οι συγγενείς ανωμαλίες με ή χωρίς νοητική υστέρηση/ δυσμορφίες/ διαταραχές φάσματος αυτισμού μπορεί να οφείλονται σε αδρές χρωμοσωμικές ανωμαλίες που εντοπίζονται σε περίπου 1 ανά 200 νεογνά με τον απλό (συμβατικό) καρυότυπο.

Ωστόσο η κλασική κυτταρογενετική ανάλυση δεν είναι σε θέση να εντοπίσει αξιόπιστα ανακατατάξεις (ελλείμματα ή διπλασιασμούς) γενομικών τμημάτων μικρότερων των 5 έως 10 μεγαβάσεων (Mb), ή τη χρωμοσωμική προέλευση των υπεράριθμων χρωμοσωμικών δεικτών (markers) ούτε τη θέση θραύσης των αναδιατάξεων. Έτσι στις μείζονες συγγενείς ανωμαλίες με τον καθιερωμένο γενετικό έλεγχο με καρυότυπο, συνολικά παραμένουν

αδιάγνωστοι πάνω από 25% των ασθενών που έχουν υπομικροσκοπικές χρωμοσωμικές ανακατατάξεις.

Προκειμένου να βελτιωθούν περαιτέρω οι διαγνωστικές γενετικές δοκιμασίες και να γεφυρωθεί το χάσμα μεταξύ της κυτταρογενετικής (κλασικός καρυότυπος) και της μοριακής γενετικής ανάλυσης μεταλλάξεων (DNA ανάλυση) έχει αναπτυχθεί η τεχνολογία του Μοριακού Καρυοτύπου με Μικροσυστοιχίες Συγκριτικού

Γενωμικού Υβριδισμού (array-CGH). Με την εφαρμογή του Μοριακού Καρυοτύπου, ανιχνεύονται σε όλο το μήκος των χρωμοσωμάτων υπομικροσκοπικές μη ισοζυγισμένες χρωμοσωμικές αναδιατάξεις μεγέθους μερικών κιλοβάσεων (Kb) έως πολλών μεγαβάσεων (Mb), συμβάλλοντας καταλυτικά στη μείωση του ποσοστού περιπτώσεων πολλαπλών συγγενών ανωμαλιών και ΝΥ ή δυσμορφιών αγνώστου αιτιολογίας οι οποίες παρέμεναν αδιάγνωστες.

Στα πλαίσια της εκπόνησης της παρούσης διδακτορικής διατριβής για τον εντοπισμό Copy Number Variations (CNVs) χρησιμοποιήθηκαν οι υψηλής διακριτικής ικανότητας μικροσυστοιχίες σε 197 ασθενείς με συγγενείς ανωμαλίες, με /ή χωρίς ΝΥ/ΔΑΦ (92 άρρενα, 105 θήλεα), ηλικίας από 1 ημερών έως 35 ετών.

Η μελέτη array-CGH έδειξε φυσιολογικά αποτελέσματα σε 75 ασθενείς, CNVs που δεν σχετίζονται με συγγενείς ανωμαλίες σε 41 ασθενείς και παθολογικά CNVs που σχετίζονται με συγγενείς ανωμαλίες σε 81 ασθενείς (41%), χωρίς να ληφθούν υπόψη οι πολυμορφικές αλληλουχίες Copy Number Polymorphisms (CNP). Από τους 81 ασθενείς με παθολογικά CNVs οι 20 είχαν συγγενείς ανωμαλίες χωρίς άλλα ευρήματα, οι 57 είχαν συγγενείς ανωμαλίες με ΝΥ και συγγενείς ανωμαλίες με ΝΥ και ΔΑΦ είχαν οι 4 στους 81.

Η πλειοψηφία των 133 CNVs που εντοπίστηκαν συνολικά στους 81 ασθενείς ήταν μικροελλείμματα (89/133) με συχνότητα 67%, ενώ οι μικροδιπλασιασμοί ήταν σπανιότεροι (44/133) με συχνότητα 33%. Σε 47 ασθενείς ο παθολογικός φαινότυπος συνδέεται με 1 CNV, σε 21 ασθενείς με 2

CNVs, ενώ σε 13 ασθενείς συνδέθηκε με 3 ή περισσότερα CNVs. Το μέγεθος των CNVs που εντοπίστηκαν ποικίλλει από 8 Kb έως 22,5 Mb. Γνωστά σύνδρομα μικροελλειμμάτων και μικροδιπλασιασμών που έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία σε άτομα με ίδιο ή παρόμοιο κλινικό φαινότυπο εντοπίστηκαν σε συνολικά 62/197 ασθενείς που περιελήφθησαν συνολικά στη μελέτη.

ABSTRACT

The definition of congenital anomalies refers to any structural, functional, metabolic disorder that occurs in the fetus during prenatal development and becomes evident either at birth or later in neonatal / infant or subsequent age, resulting in physical or mental disability. It is estimated that at least 2% of fetuses and infants have major congenital abnormalities, reaching about 6-7% in systematic registers of congenital abnormalities. They account for 1/3 of pediatric input, and about 20 to 25% of the causes of death during the perinatal period, occupying the first cause of death in infancy throughout the Western world. In 30% of infants with structural anomalies that will survive the perinatal period, their life in neonatal and early infancy is still threatened. They are the second leading cause of death among ages between 1 and 5 years following childhood accidents while they are among the top five causes of death during adolescence.

Congenital abnormalities with or without mental retardation/ autism spectrum disorders (ASD) may be due to chromosomal abnormalities identified in about 1/200 neonates by conventional karyotype. However, classical cytogenetic analysis is not able to reliably detect genomic rearrangements of less than 5 to 10 megabases (Mb), or the chromosomal origin of the marker chromosome, nor the exact breakage position of the rearrangements. Thus, with the established karyotype genetic testing for congenital abnormalities, chromosomal abnormalities are only revealed at

0.5%, while more than 25% of patients with deformities and mental retardation remain undiagnosed.

The Molecular Karyotype technology with array-CGH microarrays further improves diagnostic genetic tests and bridges the gap between cytogenetic (conventional karyotype) and molecular genetic analysis. With the application of the Molecular Karyotype, submicroscopic unbalanced chromosomal rearrangements of several kilobases (Kb) to several megabases (Mb) are detected throughout the chromosome, contributing to a reduction in the incidence of undiagnosed cases of multiple congenital abnormalities, mental retardation or/and peculiar faces.

In the context of this PhD for the detection of Copy Number Variations (CNVs), high resolution microarrays were used in 197 patients with relapsing abnormalities, with or without mental retardation / ASD (92 males, 105 females), aged from 1 day to 35 years old.

Array-CGH identified only Copy Number Polymorphisms (CNP) in 75 patients, pathological CNVs not associated with congenital abnormalities in 41 patients and pathological CNVs associated with congenital abnormalities in 81 patients (41%). 20 out of 81 patients had congenital abnormalities, 57 out of 81 patients had congenital abnormalities with mental retardation and 4 out of 81 patients had congenital abnormalities with mental retardation and ASD.

The majority of the 133 CNVs found in 81 patients were microdeletions (89/133) with a frequency of 67%, while the microduplications were less frequent. In 47 patients with congenital abnormalities the pathological phenotype was associated with 1 CNV, in 21 cases with 2 CNVs, while in 13 patients with 3 or more CNVs. The size of detected CNVs varies from 8 Kb to

22.5 Mb. In a total 62/81 patients have been identified with known microduplications and microdeletions syndromes that have been described in the literature in individuals with the same or similar clinical phenotype.

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Συγγενείς ανωμαλίες

Ένας από τους αρχικούς ορισμούς για τις συγγενείς ανωμαλίες όπως παρουσιάζεται στη σύγχρονη βιβλιογραφία από τον Josef Warkany το 1947, είναι ότι πρόκειται για δομικές ανωμαλίες που αναγνωρίζονται κατά τη γέννηση. Μπορεί να είναι μακρο- ή μικροσκοπικές, στα εξωτερικά ή εσωτερικά όργανα, σποραδικές ή οικογενείς, κληρονομούμενες ή μη, μονήρεις ή πολλαπλές (Warkany J 1947). Με βάση το διεθνές σύστημα πληροφοριών για τις συγγενείς ανωμαλίες ο ίδιος όρος αναφέρεται σε κάθε δομική, λειτουργική, μεταβολική διαταραχή που συμβαίνει στο έμβρυο κατά την διάρκεια της προγεννητικής ανάπτυξης και γίνεται εμφανής είτε στη γέννηση είτε αργότερα στη νεογνική/ βρεφική ή μετέπειτα ηλικία, με αποτέλεσμα τη σωματική ή νοητική μειονεξία (Davidson R&G και Zeesman S 1990). Οι συγγενείς ανωμαλίες μπορεί να είναι το αποτέλεσμα γενετικής ανωμαλίας, σφαλμάτων κατά την διάρκεια της μορφογένεσης, του ενδομήτριου περιβάλλοντος, ενδομήτριας λοίμωξης, ή χρωμοσωμικής ανωμαλίας.

1.1 Συχνότητα συγγενών ανωμαλιών

Υπολογίζεται τουλάχιστον ότι το 2% των εμβρύων και των βρεφών παρουσιάζουν μείζονες συγγενείς ανωμαλίες, φτάνοντας περίπου το 6-7% σε μητρών συστηματικής καταγραφής συγγενών ανωμαλιών. Αντιπροσωπεύουν το 1/3 των εισαγωγών σε παιδιατρικά τμήματα, και περίπου το 20 με 25% των αιτιών θανάτου κατά την περιγεννητική περίοδο, κατέχοντας την πρώτη αιτία θανάτου στη βρεφική ηλικία σε όλο το δυτικό κόσμο (De Galan-Roosen AE et al, 1998, Queisser-Luft A et al, 2002, Garne E et al, 2012). Στο 30% των νεογνών με τις δομικές ανωμαλίες που θα επιβιώσουν στην περιγεννητική περίοδο συνεχίζεται να απειλείται η ζωή τους στην νεογνική και πρώτη

βρεφική ηλικία (Shepard TH et al, 1986). Από στοιχεία του Κέντρου Ελέγχου και Προλήψεων Νοσημάτων για το έτος 2000 στις ΗΠΑ οι συγγενείς ανωμαλίες καταλαμβάνουν τη δεύτερη κατά σειρά αιτία θανάτου στις ηλικίες μεταξύ 1 έως 5 ετών μετά τα παιδικά ατυχήματα, ενώ βρίσκονται μέσα στις πρώτες πέντε αιτίες θανάτου κατά την εφηβεία (Καραβιτάκης Μ, Φρυσίρα Ε. 2009).

Από τη διεθνή προοπτική μελέτη των Rosano A et al 2000 διαπιστώθηκε από το 1950 έως το 1994 μείωση της συνολικής βρεφικής θνησιμότητας κατά 68.8%, ενώ μείωση της βρεφικής θνησιμότητας που οφείλεται σε συγγενείς ανωμαλίες κατά 33.4%.

Η μείωση της περιγεννητικής θνησιμότητας αποδίδεται στη βελτίωση της παροχής ιατρικών υπηρεσιών και την ανάπτυξη μονάδων εντατικής θεραπείας πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών με αποτέλεσμα την καλύτερη αντιμετώπιση των διαφόρων επιπλοκών του τοκετού και επίσης την μείωση των περιγεννητικών θανάτων από λοιμώξεις και υποσιτισμό. Εκ παραλλήλου ο προγεννητικός έλεγχος και η υπερηχογραφική ανίχνευση συγγενών ανωμαλιών μερικές φορές οδηγεί σε προγραμματισμένη διακοπή της κύησης συνεισφέροντας έτσι στη μείωση της βρεφικής θνησιμότητας. Όμως παρά τη βελτίωση του προγεννητικού ελέγχου, της περιγεννητικής φροντίδας, συμπεριλαμβανομένης της πρώιμης ιατροχειρουργικής παρέμβασης, το μικρότερο ποσοστό μείωσης της βρεφικής θνησιμότητας οφειλόμενης σε συγγενείς ανωμαλίες, συγκριτικά με τη συνολική βρεφική θνησιμότητα, αντικατοπτρίζει την έλλειψη αποτελεσματικής περίθαλψης νεογνών με συγγενείς ανωμαλίες (De Galan-Roosen AE et al, 1998, Rosano A et al 2000). Ως εκ τούτου δεδομένου ότι στο 40-60% των περιπτώσεων η αιτιολογία των συγγενών ανωμαλιών είναι άγνωστη, σημαντική μείωση στην περιγεννητική και βρεφική θνησιμότητα και νοσηρότητα θα μπορούσε να προσφέρει η μελέτη και η εξιχνίαση των αιτιών τους, καθώς και η εφαρμογή μέτρων πρωτοβάθμιας πρόληψης (De Galan-Roosen AE et al, 1998, Queisser-Luft A et al, 2002).

Ορισμένες συγγενείς ανωμαλίες δεν γίνονται αντιληπτές κατά την γέννηση και διαγιγνώσκονται πολύ αργότερα κατά την βρεφική ή και την παιδική ηλικία, όπως ανωμαλίες οδόντων, στένωση πυλωρού, συγγενείς καρδιοπάθειες. Οι συχνότερες συγγενείς ανωμαλίες αφορούν το μυοσκελετικό και το καρδιαγγειακό σύστημα και ακολουθούν το ουροποιητικό, το πεπτικό, οι σχιστίες προσώπου και το κεντρικό νευρικό σύστημα.

1.2 Επιπολασμός των συγγενών ανωμαλιών

Σύμφωνα με στοιχεία της Ευρωπαϊκής Επιτήρησης Συγγενών Ανωμαλιών (EUROCAT), από το έτος 1980 έως το έτος 1994 αναφέρεται ότι ο επιπολασμός μειζόνων συγγενών ανωμαλιών ανά 10.000 βρέφη αφορά κατά σειρά προτεραιότητας το μυοσκελετικό σύστημα (74/10.000), το καρδιαγγειακό (59/10.000), το έσω ουρογεννητικό (33/10.000), το πεπτικό (27/10.000), το κεντρικό νευρικό (22/10.000), το έξω ουρογεννητικό και τις σχιστίες προσώπου (15/10.000). Από στοιχεία του ίδιου οργανισμού σε σύνολο 3.883.879 γεννήσεων για τα έτη 1996-2001, αναφέρεται ότι ο επιπολασμός μειζόνων συγγενών ανωμαλιών ανά 10.000 γεννήσεις αφορά το καρδιαγγειακό σύστημα (54/10.000), ακολουθούμενο από το μυοσκελετικό (48/10.000), το ουροποιητικό (35/10.000), το πεπτικό (14/10.000), τις σχιστίες προσώπου (13/10.000) και τελευταίο το κεντρικό νευρικό σύστημα (10/10.000) (The EUROCAT website; Available from: URL: <http://www.eurocat.ulster.ac.uk./pubdata>). Ακολουθούν η βουβωνοκήλη, οι ανωμαλίες του δέρματος, των ώτων, του αυχένα, των οφθαλμών και του αναπνευστικού συστήματος (Baird PA et al, 1988). Πτωτική τάση παρουσιάζεται στα ελλείμματα του νωτιαίου σωλήνα γεγονός που αποδίδεται τόσο στην βελτίωση διατροφής της εγκύου με ενίσχυση σε φυλλικό οξύ όσο και στις νεότερες προγεννητικές διαγνωστικές μεθόδους (Oakley GP, 1985). Στους εμβρυικούς θανάτους και στα θνησιγενή έμβρυα οι συγγενείς ανωμαλίες του ΚΝΣ κατέχουν πρωταρχική θέση μετά την 20^η βδομάδα κύησης. Ο επιπολασμός τους ανά 10.000 γεννήσεις είναι 1.18/10.000. Ακολουθούν οι

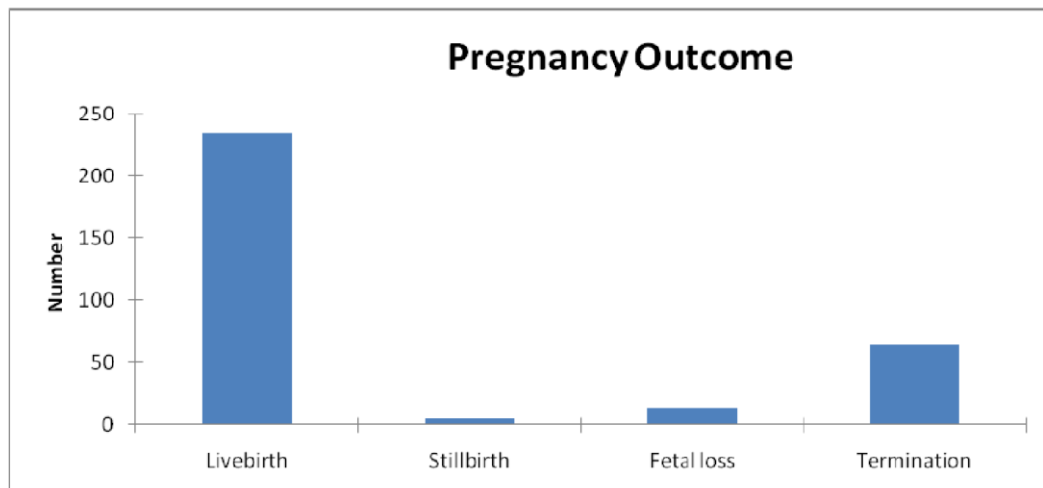
συγγενείς ανωμαλίες του καρδιαγγειακού συστήματος (1.17/10.000), του ουροποιητικού (0.97/10.000), των άκρων (0.86/10.000) και του πεπτικού σωλήνα (0.52/10.000). Σε αυτές τις περιπτώσεις ο επιπολασμός των χρωμοσωμικών ανωμαλιών είναι 1.11/10/000. Η ίδια σειρά ακολουθείται στον επιπολασμό των συγγενών ανωμαλιών σε διακοπές κυήσεων, με εξαίρεση τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες που κατέχουν την πρώτη θέση (The EUROCAT website; Available from: URL: <http://www.eurocat.ulster.ac.uk./pubdata>).

Τα ίδια αποτελέσματα καταγράφονται και από άλλες μελέτες σε έμβρυα, συμπεριλαμβανομένων των τεχνητών/ αυτόματων αποβολών και των θνησιγενών εμβρύων, όπου οι συγγενείς ανωμαλίες στα διάφορα συστήματα κατά σειρά εμφάνισης αφορούν το κεντρικό νευρικό σύστημα, καρδιαγγειακό, ουροποιητικό, σκελετικό, πεπτικό και αναπνευστικό (Tennstedt C et al, 2001, Horn LC et al, 2004). Από στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας στην Ευρώπη, η νεογνική θνησιμότητα λόγω συγγενών ανωμαλιών για το έτος 2000 κυμαινόταν: 1) κάτω από 10 ανά 1000 ζώντα νεογνά σε 33 ανεπτυγμένες χώρες, 2) πάνω από 20 ανά 1000 ζώντα νεογνά σε 11 αναπτυσσόμενες χώρες της ίδιας περιοχής. Στην Ελλάδα για το έτος 2000, η νεογνική θνησιμότητα ήταν 5.9 ανά 1000 ζώντα νεογνά. (March of Dimes Birth Defects (2004); Available from: URL: <http://www.modimes.org>).

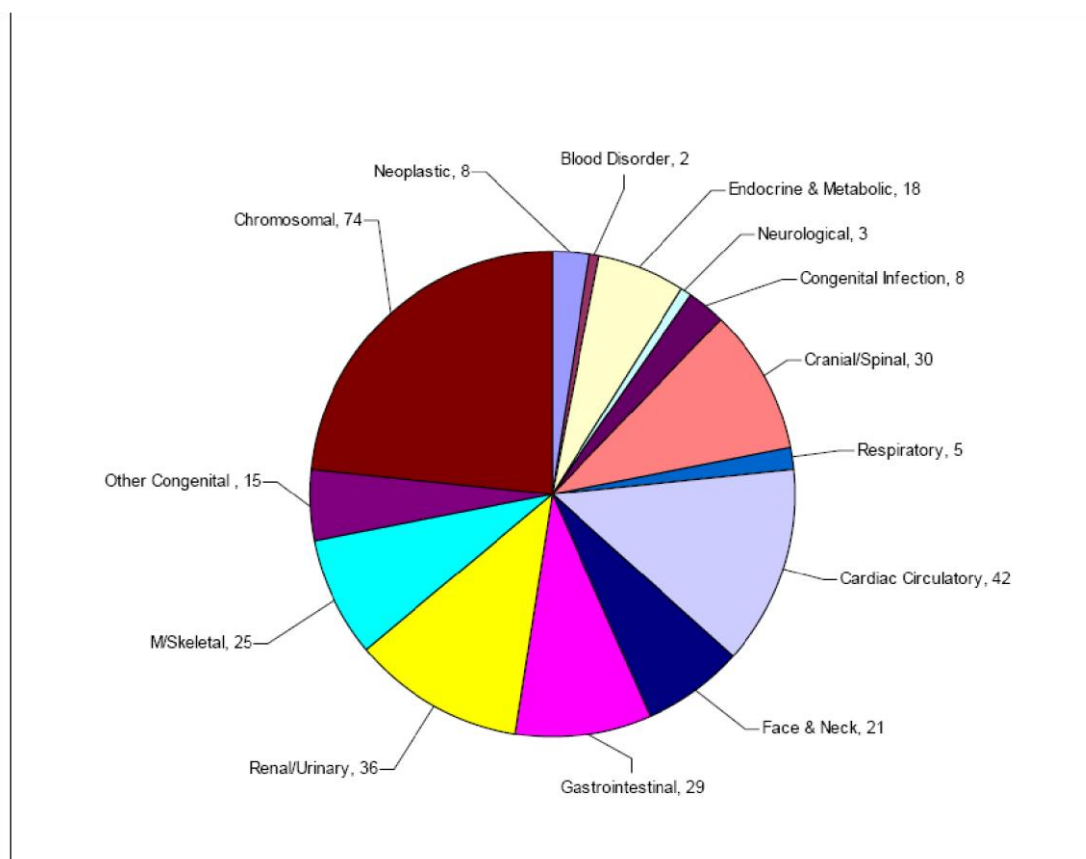
Στην ανασκόπηση που διενήργησαν οι Robins J et al για την περίοδο από Απρίλιο του 2011 έως Μάρτιο του 2012 σε 316 κυήσεις (n=316) που είχαν συσχετιστεί με μία ή περισσότερες συγγενείς ανωμαλίες διαπιστώθηκε ότι στο 74% (n=234) η έκβαση ήταν ομαλή με την γέννηση ζώντων νεογνών. Υπήρχαν 5 θνησιγενή έμβρυα (2%) και 12 εμβρυικοί θάνατοι (4%). Διακοπή κύησης διενεργήθηκε σε 60 έμβρυα (20%) μετά την προγεννητική διάγνωση των συγγενών ανωμαλιών (Εικόνα 1). Συγκεκριμένα διαπιστώθηκαν 573 ανωμαλίες σε 316 κυήσεις. Σε 203 περιπτώσεις επισημάνθηκαν μόνο η κύρια ανωμαλία, ενώ στις υπόλοιπες 113, (36%), δύο ή περισσότερες ανωμαλίες. Σε έξι περιπτώσεις (2%), καθορίστηκε ένα σύνολο 8 ανωμαλιών. Αυτές περιελάμβαναν το Σύνδρομο Goldenhar, την τρισωμία 13, τη σειρηνομελία, τον σοβαρό υδροκέφαλο και δύο περιπτώσεις με πολλαπλές ανωμαλίες,

χωρίς να ορίζεται ένα συγκεκριμένο σύνδρομο ή να καθορίζεται σαφώς η αιτία. Στην Εικόνα 2 ταξινομούνται οι συγγενείς ανωμαλίες με βάση την συχνότητά τους στις 316 κυήσεις.

Εικόνα 1: Έκβαση κυήσεων με συγγενείς ανωμαλίες (Robins J et al 2012)



Εικόνα 2: Ταξινόμηση των κυήσεων με συγγενείς ανωμαλίες (Robins J et al 2012)

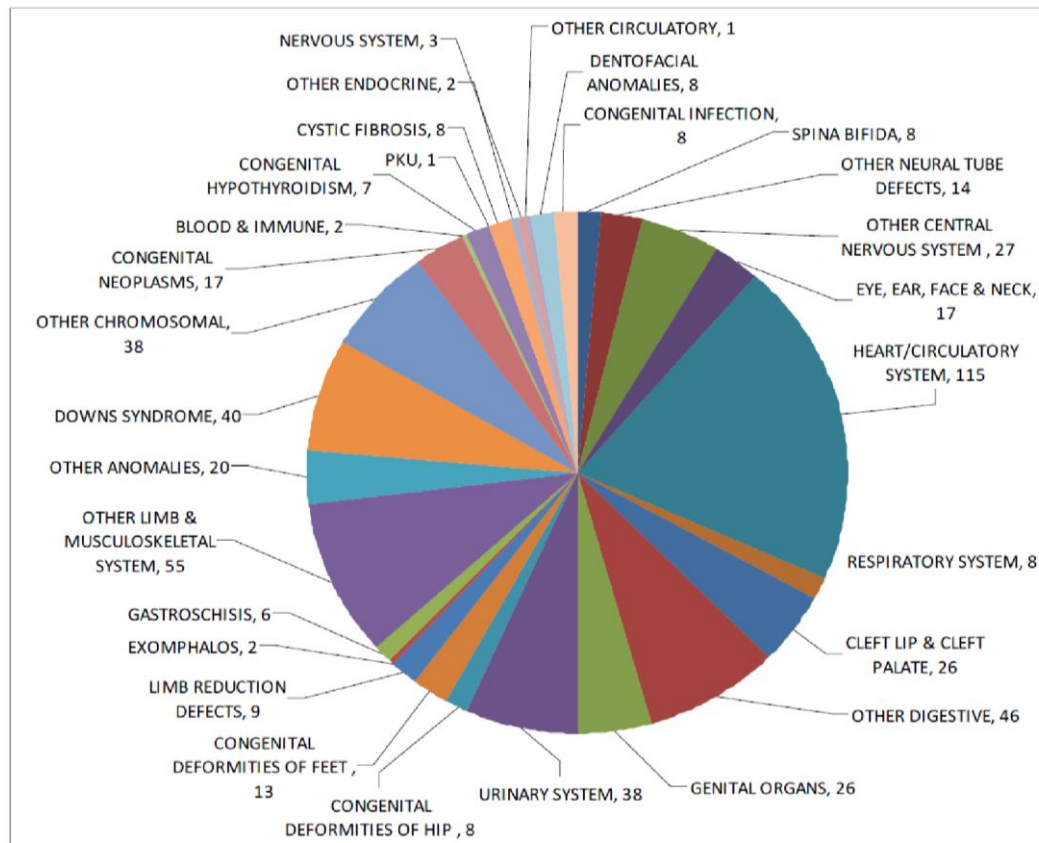


Οι συγγενείς ανωμαλίες στο 49% (n = 155) των κυήσεων διαγνώστηκαν προγεννητικά. Σε 110 περιπτώσεις (34%), η διάγνωση έγινε κατά τη γέννηση ή κατά την πρώτη εβδομάδα της ζωής. Σε 39 περιπτώσεις (12%), η διάγνωση έγινε μετά τον πρώτο μήνα, αλλά μέσα στον πρώτο χρόνο της ζωής. Έξι περιπτώσεις, (2%), διαγνώστηκαν μετά τον θάνατο. Σε περαιτέρω 6 περιπτώσεις το σημείο της διάγνωσης καταγράφεται ως «άγνωστο». Το 93% των συγγενών ανωμαλιών του κρανίου και της σπονδυλικής στήλης διαγνώστηκε πριν από τη γέννηση. Σε δύο περιπτώσεις που διαπιστώθηκαν διαταραχές σε βιοχημικές εξετάσεις αίματος τελικά είχαν σύνδρομο Di George (del 22q11.2). Και στα δύο νεογνά διαπιστώθηκε καρδιακή ανωμαλία. Το πρώτο νεογνό διαγνώστηκε κατά τη γέννηση ως συνέπεια της ατρησίας της αορτής. Ενώ στην άλλη περίπτωση η διάγνωση έγινε μέσα στον πρώτο χρόνο της ζωής και είναι ενδιαφέρον γιατί αρχικά επισημάνθηκε ως σύνδρομο Angelman.

Παρόλο που ένα μεγάλο ποσοστό μειζόνων συγγενών ανωμαλιών διαγνώθηκε προγεννητικά ή κατά την πρώτη εβδομάδα της ζωής ωστόσο διαπιστώνεται πως ένα αξιόλογο ποσοστό (περίπου 21%) με συγγενείς ανωμαλίες δεν διαγιγνώσκονται τον πρώτο χρόνο της ζωής.

Σύμφωνα με την Εικόνα 3 διαπιστώνεται πως διαταραχές της καρδιάς και του κυκλοφορικού συστήματος αντιπροσωπεύουν την πλειοψηφία των καθορισμένων ανωμαλιών, (n = 115, 20%). Χρωμοσωμικές ανωμαλίες ήταν η διάγνωση σε πολλές περιπτώσεις. Ανωμαλίες των άκρων και του μυοσκελετικού συστήματος είναι επίσης διαδεδομένες, αντιπροσωπεύοντας το 15% όλων των διαταραχών. Ομοίως παθήσεις της σπονδυλικής στήλης και του κεντρικού νευρικού συστήματος αποτελούν συχνές συγγενείς ανωμαλίες.

Εικόνα 3: Συγγενείς ανωμαλίες κατά συστήματα (Robins J et al, 2012)



1.3 Ταξινόμηση συγγενών ανωμαλιών

Η ταξινόμηση των συγγενών ανωμαλιών σε μείζονες και ελάσσονες γίνεται με βάση την βαρύτητά τους.

Οι **μείζονες ανωμαλίες**, είτε είναι ασύμβατες με τη ζωή είτε επιφέρουν σοβαρές μορφολογικές, λειτουργικές και αισθητικές διαταραχές, π.χ συγγενής καρδιοπάθεια, κρανιοσυνostέωση, σχιστίες χειλέων/υπερώας. Απαιτούν άμεση ιατρική ή χειρουργική παρέμβαση μετά την γέννηση και προκαλούν σωματική αναπηρία και προβλήματα κοινωνικής αποδοχής. Περιλαμβάνουν ανωμαλίες διαφόρων οργάνων και συστημάτων, όπως του ΚΝΣ, του

καρδιαγγειακού, ουρογεννητικού, πεπτικού, σκελετικού και προσώπου. Η συχνότητα στα τελειόμηνα νεογνά είναι 2-3% (Kalter H 2003).

Οι **ελάσσονες ανωμαλίες**, αναφέρονται σε ήπιες παρεκκλίσεις από το φυσιολογικό και δεν έχουν ιατρική ή αισθητική σημασία για τον ασθενή π.χ κλινοδακτυλία, επίκανθος, μονήρης χειρομαντική γραμμή (Kalter H 2003). Οι ελάσσονες ανωμαλίες που εμφανίζουν μεγαλύτερη συχνότητα (από 4-50%) ονομάζονται *φυσιολογικές ποικιλομορφίες*, ενώ εκείνες με συχνότητα >50% ονομάζονται *φυσιολογικά στίγματα* π.χ ψηλαφητή μετωπιαία ραφή. Η ίδια παρέκκλιση που μπορεί να αποτελεί ελάσσονα συγγενή ανωμαλία για μία φυλή και ένα φύλο, μπορεί να αποτελεί φυσιολογική ποικιλομορφία ή στίγματα για μία άλλη φυλή και φύλο π.χ η μονήρης χειρομαντική γραμμή είναι συχνότερη στις φυλές της ανατολής. Επιπλέον από το σύνολο των παιδιών που παρουσιάζουν ελάσσονες συγγενείς ανωμαλίες κατά την γέννηση, ένας μικρός αριθμός αυτών θα συνεχίζουν να παρουσιάζουν τις ίδιες παρεκκλίσεις σε μεγαλύτερη ηλικία. Για παράδειγμα ο επίκανθος, η θολωτή υπερώα, η μογγολοειδής φορά των βλεφαρικών σχισμών δεν ανιχνεύονται συνήθως σε παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας, ενώ αντίθετα τα προωτιαία επάρματα, οι αντιμογγολοειδείς βλεφαρικές σχισμές και η μονήρης χειρομαντική γραμμή παραμένουν σταθερά ευρήματα στο πέρασμα του χρόνου (Mehes K 1983). Σε κάθε νεογνό που παρατηρούνται περισσότερες των τριών ελάσσονες συγγενείς ανωμαλίες πρέπει να διερευνάται η περίπτωση να συνυπάρχει μία ή περισσότερες μείζονες συγγενείς ανωμαλίες (9,6%) (Jones KL et al, 2002). Η συνολική συχνότητα των νεογνών που εμφανίζουν μία ή περισσότερες ελάσσονες ανωμαλίες χωρίς την συνύπαρξη μείζονων συγγενών ανωμαλιών κυμαίνεται από 14,2-39,9%. Και αντιστρόφως τα νεογνά που εμφανίζουν έστω και μία μείζονα συγγενή ανωμαλία έχουν πολλαπλάσια πιθανότητα να εμφανίζουν συγχρόνως μία τουλάχιστον ελάσσονα ανωμαλία. Η ύπαρξη πολλαπλών συγγενών ανωμαλιών προσαυξάνει τόσο τον κίνδυνο εκδήλωσης προβλημάτων συμπεριφοράς (διαταραχή ελλειμματικής προσοχής και

υπερκινητικότητας, εκρήξεις θυμού) (Waldrop MF et al 1978) όσο και την πιθανότητα κάποιου χρωμοσωμικού συνδρόμου (Khoury MJ et al 1991). Γενικότερα οι συγγενείς ανωμαλίες εμφανίζονται συχνότερα σε αγόρια, λιποβαρή και σε πρόωρα (Mehes K, 1983, Κίτσιου- Τζέλη Σ, 1992).

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Παραδείγματα Ελασσόνων Συγγενών Ανωμαλιών

ΕΛΛΑΣΟΝΕΣ ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ	ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ
Πρόσωπο	Μακροπροσωπία, τριγωνικό πρόσωπο
Οφθαλμοί	Επίκανθος, μογγολοειδής/ αντιμογγολοειδής φορά των βλεφαρικών σχισμών, ύπερ/υποτελορισμός
Ώτα Στόμα	Χαμηλή πρόσφυση, αφεστώτα Μικροστομία, ιχθυόμορφο, λεπτά χείλη, θολωτή υπερώα, μακρογλωσσία
Δερματογλυφικά	Μονήρης χειρομαντική γραμμή, βαθιές πτυχές
Δέρμα	Café au lait κηλίδες, λευκές κηλίδες, λεπτό δέρμα
Άκρα	Κλινοδακτυλία, μεγάλη απόσταση 1 ^{ου} -2 ^{ου} δακτύλου

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Παραδείγματα Μειζόνων Συγγενών Ανωμαλιών

ΜΕΙΖΟΝΕΣ ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ	ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ
Συγγενείς καρδιοπάθειες	Στένωση ισθμού αορτής, μεσοκολπική/ μεσοκοιλιακή επικοινωνία, ανοιχτός βοττάλειος πόρος
Συγγενείς ανωμαλίες ουροποιητικού	Μονήρης/έκτοπος νεφρός
Συγγενείς ανωμαλίες κρανίου	Κρανιοσυνοστέωση, ελλείματα τριχωτού κεφαλής
Συγγενείς ανωμαλίες μυοσκελετικού συστήματος	Ραιβοιπποποδία/ συνδακτυλία
Συγγενείς ανωμαλίες γεννητικών οργάνων	Κρυφορχία, αμφίβολα έξω γεννητικά όργανα, απλασία μήτρας
Συγγενείς ανωμαλίες προσώπου	Σχιστίες υπερώας/ χειλέων, καταρράκτης

1.4 Κατηγορίες Συγγενών Ανωμαλιών

Οι συγγενείς ανωμαλίες ταξινομούνται σε διάφορες κατηγορίες ανάλογα με το στάδιο της εμβρυογένεσης που προκλήθηκε η βλάβη. 1) **Δυσμορφίες (malformations)**: αποτελούν δομικές ανωμαλίες ενός οργάνου ή τμήματός του ή μίας ευρύτερης περιοχής του σώματος ως αποτέλεσμα εντοπισμένης διαταραχής του μηχανισμού της ανάπτυξης, συμβαίνουν κατά την εμβρυογένεση από την στιγμή της σύλληψης και έχουν συνήθως γενετική αιτιολογία, σε 2) **Διασπάσεις (disruptions)**: αποτελούν δομικές ανωμαλίες ενός οργάνου ή τμήματός του ή μίας ευρύτερης περιοχής του σώματος ως αποτέλεσμα παρέμβασης εξωγενών παραγόντων ή αμνιακών ταινιών στην αρχικά φυσιολογική διαδικασία της ενδομήτριας ανάπτυξης, 3) **Παραμορφώσεις (deformations)**: αποτελούν ανωμαλίες στη μορφή, το

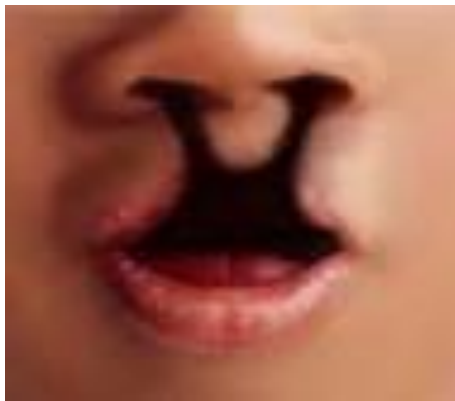
σχήμα και τη θέση ενός τμήματος του σώματος που επιφέρει η δράση μηχανικών δυνάμεων ή νευρομυϊκών διαταραχών, ως αποτέλεσμα ενδομήτριας υποκινητικότητας, πχ λόγω βλάβης του κεντρικού νευρικού συστήματος του εμβρύου και 4) **Δυσπλασίες (dysplasias)**: αποτελούν ανωμαλίες της οργάνωσης των κυττάρων στους ιστούς με μορφολογικές επιπτώσεις. Πρόκειται για τη διαδικασία που οδηγεί στη «δυσιστογένεση». Μπορεί να είναι μονήρεις ή πολλαπλές ή να περιλαμβάνονται σε συγκεκριμένο σύνδρομο, ακολουθία ή συνδυασμό. Μπορεί να είναι μακρο- ή μικροσκοπικές, οικογενείς ή σποραδικές, κληρονομούμενες ή μη.

Πολλές συγγενείς ανωμαλίες δεν απαντούν μεμονωμένα αλλά συνυπάρχουν με άλλες ανωμαλίες από άλλα συστήματα συχνά στα πλαίσια ενός γενικότερου συνδρόμου. Ο όρος *σύνδρομο* χρησιμοποιείται όταν τα επιμέρους δυσμορφικά και λειτουργικά στοιχεία που εμφανίζει ένας ασθενής έχει αποδειχθεί ότι συνδέονται μεταξύ τους με κοινό παθογενετικό μηχανισμό. Άλλες συγγενείς ανωμαλίες που είναι γνωστό ότι εμφανίζονται με σταθερό συνδυασμό σε συχνότητα που είναι πολύ μεγαλύτερη για να θεωρηθεί τυχαίο γεγονός ονομάζονται *συνδυασμοί δυσμορφιών* (malformation associations). Παραδείγματα αποτελούν οι συνδυασμοί **VACTERL** (**V**:vertebral, **A**:anal atresia, **C**:cardiac anomalies, **T**:Tracheo Esophageal anomalies, **R**:renal anomalies, **L**:limb defects) και **CHARGE** (**C**:coloboma, **H**:heart defects, **A**:atresia choanal, **R**:retardation, **G**:genital hypoplasia, **E**:ear anomalies-deafness). Τέλος ο όρος *ακολουθία* υποδηλώνει μία σειρά συμβάντων (δυσμορφίες, παραμορφώσεις, διασπάσεις) που δημιουργούνται μετά από αρχική γενεσιουργό ανωμαλία. Για παράδειγμα στην ακολουθία Potter, η αγενεσία των νεφρών έχει ως συνέπεια το ολιγοϋδράμνιο, δευτεροπαθείς παραμορφώσεις των άκρων και πνευμονική υποπλασία (Kingston HM, 2002).

1.4.1 Δυσμορφίες (Malformations)-Παραδείγματα

Οι συχνότερες δυσμορφίες είναι οι χειλεοσχιστίες (Εικόνες 4,5), οι υπερωιοσχιστίες (Εικόνα 5), τα ελλείμματα του νωτιαίου σωλήνα και η πυλωρική στένωση. Η συχνότητα κάθε μίας από της ανωτέρω ανωμαλίες είναι περίπου 0,51% στα νεογνά. Όταν οι δυσμορφίες είναι μεμονωμένες, το άτομο μετά την χειρουργική διόρθωση αναπτύσσεται φυσιολογικά και η πρόγνωση είναι πολύ καλή. Ο κίνδυνος επανάληψης σε άλλο μέλος της οικογένειας εξαρτάται από την γενεσιουργό αιτία δηλαδή αν είναι πολυπαραγοντική, μονογονιδιακή, χρωμοσωμική ή περιβαλλοντική.

Εικόνα 4



Εικόνα 5



Εικόνα 4,5: Χειλεοσχιστία (Εικόνα 4,5), Υπερωιοσχιστία (Εικόνα 5)

Leslie J et al, 2013

1.4.2 Διασπάσεις (disruption)- Παραδείγματα

Οι διασπάσεις ενός ή περισσότερων τμημάτων του σώματος του εμβρύου που προηγουμένως ήταν ομαλά διαμορφωμένα οφείλονται σε δύο βασικούς μηχανισμούς. Ο πρώτος αφορά τον ακρωτηριασμό ή εγκλωβισμό των δακτύλων των άνω ή κάτω άκρων από τις αμνιακές ταινίες και ο δεύτερος αφορά την διακοπή της αιματικής ροής σε αναπτυσσόμενα τμήματα

του σώματος του εμβρύου που οδηγεί σε νέκρωση, αποτέλεσμα εμφράκτου, και την απορρόφηση των ιστών περιφερικά του σημείου της βλάβης. Επίσης διακοπή της αιματικής ροής μπορεί να προκληθεί από αγγειοσύσπαση ή αιμορραγία λόγω χρήσης κοκαΐνης, ή από διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη ή/και είσοδο εμβόλων στην κυκλοφορία του επιζώντος εμβρύου σε περίπτωση πολύδυμης κύησης με ενδομήτριο θάνατο του ενός από τα δύο έμβρυα.

Πορεγκεφαλία, εγκεφαλική νέκρωση, υδρανεγκεφαλία, πολυκυστική εγκεφαλομαλακία, υδροκεφαλία, μικροκεφαλία, ημιπροσωπική μικροσωμία, γαστρόσχιση, ατρησία του εντέρου αποτελούν κλασικά παραδείγματα διασπάσεων. Συνήθως είναι σποραδικές βλάβες και η πρόγνωση εξαρτάται από την σοβαρότητα, την εντόπιση και την έκταση των ανωμαλιών.

1.4.3 Παραμορφώσεις (deformations)-Παραδείγματα

Οι παραμορφώσεις αφορούν συνήθως το μυοσκελετικό σύστημα και συνήθως δημιουργούνται λόγω θέσης (congenital postural deformities). Έχουν ορισμένα χαρακτηριστικά που τις διαχωρίζουν από τις δυσμορφίες: συμβαίνουν συχνότερα μεταξύ 20^{ης} και 28^{ης} εβδομάδας κύησης, έχουν χαμηλή περιγεννητική θνησιμότητα, και συνήθως διορθώνονται μετά τον τοκετό και μετά από αλλαγή θέσης.

Οι κύριες αιτίες που δημιουργούν παραμορφώσεις είναι: α) η ανώμαλη θέση στην μήτρα (π.χ. δίκερως μήτρα), β) η αύξηση της ενδομήτριας πίεσης (π.χ. παρατεταμένη ισχιακή προβολή), γ) η αύξηση της υδροστατικής πίεσης (π.χ. πολυυδράμνιο) και δ) αμνιακές ταινίες.

Χαρακτηριστικά παραδείγματα παραμορφώσεων είναι η ραιβοϊπποποδία και το συγγενές εξάρθρωμα ισχίου. Η πρόγνωση των παραμορφώσεων είναι εξαιρετική μετά την αυτόματη ή την χειρουργική διόρθωση.

Ο κίνδυνος επανάληψης της ίδιας παραμόρφωσης είναι σχεδόν μηδενικός εκτός και αν υπάρχει ο ίδιος παθολογικός παράγοντας και στην επόμενη κύηση. Το συγγενές εξάρθρωμα ισχίου και η ραιβοϊπποποδία έχουν

κίνδυνο επανάληψης περίπου 2-5% όταν αποδίδεται σε πολυπαραγοντική κληρονομικότητα.

1.4.4 Δυσπλασίες (dysplasia)- Παραδείγματα

Οι δυσπλασίες μπορεί να είναι μεταβολικής ή μη μεταβολικής φύσεως, να αφορούν έναν ή περισσότερους ιστούς, να είναι εντοπισμένες ή γενικευμένες, μονήρεις ή πολλαπλές. Χαρακτηριστικά παραδείγματα δυσπλασίας του συνδετικού ιστού είναι η ατελής οστεογένεση, το σύνδρομο Marfan και σκελετικές δυσπλασίες όπως βραχυμελικός νανισμός.

1.5 Παράγοντες κίνδυνου για την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών

Έχουν αναφερθεί ορισμένες καταστάσεις που οι συγγενείς ανωμαλίες εμφανίζονται συχνότερα από ότι συνήθως, ανεξάρτητα από την τυχόν κληρονομική επιβάρυνση ή έκθεση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες. Αυτές οι καταστάσεις είναι η μεγάλη ηλικία της μητέρας, η μεγάλη ηλικία του πατέρα, η συγγένεια μεταξύ των γονέων-ενδογαμία, οι πολύδυμες κυήσεις, το χαμηλό βάρος γέννησης, οι διάφορες διαταραχές της κύησης, οι τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής [In vitro fertilisation (IVF)].

1.5.1 Μεγάλη ηλικία της μητέρας

Η μεγάλη ηλικία της μητέρας έχει συνδεθεί με την εμφάνιση των συγγενών ανωμαλιών που οφείλεται σε χρωμοσωμικές διαταραχές. Οι γυναίκες άνω των 35 ετών πρέπει να υποβάλλονται σε προγεννητικό έλεγχο καθώς ο κίνδυνος εμφάνισης χρωμοσωμικών ανωμαλιών είναι μεγαλύτερος από τον κίνδυνο αποβολής του εμβρύου από τον επεμβατικό έλεγχο. Εκτός από την αυξημένη τάση ατελούς διαχωρισμού των χρωμοσωμάτων ή χρωματίδων κατά την μειωτική διαίρεση στα ωοκύτταρα, για την εξήγηση της συσχέτισης της ηλικίας της μητέρας με τον εμβρυικό ανευπλοειδισμό έχουν

διατυπωθεί και διάφορες άλλες υποθέσεις όπως η μείωση της ικανότητας αποβολής των εμβρύων που έχουν χρωμοσωμικές διαταραχές και η άθροιση διαφόρων περιβαλλοντικών εμβρυοτοξικών παραγόντων που αυξάνουν την τάση για ατελή διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων (Hassold T and Hunt P 2001, Pellestor F et al 2006). Χαρακτηριστικό παράδειγμα ανευπλοειδίας που συναντάται σε κυήσεις γυναικών μεγάλης ηλικίας είναι η τρισωμία 21 ή σύνδρομο Down.

1.5.2 Μεγάλη ηλικία του πατέρα

Η ηλικία του πατέρα φαίνεται ότι αυξάνει τον κίνδυνο για ορισμένες μεμονωμένες συγγενείς ανωμαλίες. Συγκεκριμένα σε παιδιά πατέρων ηλικίας μεγαλύτερης των 40 ετών παρατηρείται αύξηση της συχνότητας πρωταίων εκφύσεων, απλασίας της ρινός, σχιστιών, υδροκεφάλου, συγγενών καρδιοπαθειών (στένωση πνευμονικής αρτηρίας, μεσοκοιλιακή επικοινωνία). Επίσης υπάρχουν αναφορές αυξημένου κινδύνου εμφάνισης ανωμαλιών των άκρων (όπως συνδακτυλίες, πολυδακτυλίες, ελλείμματα των άνω άκρων) και ανώμαλης σύγκλεισης νωτιαίου σωλήνα (Lian ZH et al 1986, Kazaura M et al 2004, Zhu JL et al 2005).

Οι πολλαπλές μιτωτικές διαιρέσεις των γαμετικών κυττάρων στους άνδρες συγκριτικά με τις γυναίκες αυξάνουν τον κίνδυνο αυτόματων επίκτητων μεταλλάξεων και ευνοείται η εμφάνιση μονογονιδιακών νοσημάτων με σοβαρές συγγενείς ανωμαλίες όπως η αχονδροπλασία (Crow JF et al 2000).

1.5.3 Συγγένεια μεταξύ των γονέων- ενδογαμία

Η συγγένεια μεταξύ των γονέων αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών στις περιπτώσεις που κληρονομούνται με υπολειπόμενο τύπο και στις περιπτώσεις πολυπαραγοντικών διαταραχών

αυξάνοντας τον κίνδυνο περιγεννητικής θνησιμότητας και θνησιγενών εμβρύων (Nabulsi MN et al 2003).

Συγκεκριμένα αναφέρεται πως ο κίνδυνος εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών σε παιδιά γονέων που είναι πρώτα εξαδέλφια, κυμαίνεται από 2.9 έως 8%, δηλαδή περισσότερο από διπλάσιος σε σύγκριση με το κίνδυνο στο γενικότερο πληθυσμό (Bromiker R et al, 2004).

1.5.4 Πολύδυμες κυήσεις

Οι πολύδυμες κυήσεις θεωρούνται υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών. Η συχνότητα εμφάνισης χρωμοσωμικών και συγγενών ανωμαλιών μεγαλώνει όσο αυξάνεται ο αριθμός των εμβρύων (Li SJ et al 2003, Clearly-Goldman J et al, 2005). Στις μονήρεις κυήσεις η πιθανότητα εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών είναι περίπου 1,4%, στις δίδυμες κυήσεις 2,7% και στις τρίδυμες κυήσεις 6,09% (Onyskowona Z et al 1971). Τα μονοζυγωτικά δίδυμα έχουν 2-3 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών (κυρίως της μέσης γραμμής) συγκριτικά με τα διζυγωτικά ενώ στο μεγαλύτερο ποσοστό οι ανωμαλίες μη γενετικής αιτιολογίας, αφορούν το ένα από τα δίδυμα, ενδεχομένως λόγω άνισου καταμερισμού των βλαστομεριδίων (Rustico MA et al 2005).

Οι συχνότερες ανωμαλίες είναι η ακαρδία, η ανεγκεφαλία, οι ατρησίες του πεπτικού, η νεφρική агенесία, το έλλειμμα μεσοκοιλιακού καρδιακού διαφράγματος, οι υπερωιοχειλεοσχιστίες, ο υποσπαδίας και ο επισπαδίας (Mastroiacovo P et al 1999). Επίσης στις πολύδυμες κυήσεις εμφανίζονται συχνότερα παραμορφώσεις από συμπίεσεις που συμβαίνουν λόγω του ενδομήτριου συνωστισμού.

Χρωμοσωμικές ανωμαλίες όπως το σύνδρομο Down, το σύνδρομο Turner, το σύνδρομο Klinefelter, το σύνδρομο Edwards, εμφανίζονται συχνά στις πολύδυμες κυήσεις. Στην περίπτωση των χρωμοσωμικών ανωμαλιών σε συνάρτηση με την ηλικία της μητέρας, καθένα από τα διζυγωτικά έμβρυα παρουσιάζει ατομικό κίνδυνο ανευπλοειδισμού, διπλασιάζοντας έτσι τις

πιθανότητες χρωμοσωμικών ανωμαλιών της κύησης. Είναι πιθανό ο συνδυασμός τόσο γενετικών αλλά και περιβαλλοντικών και θρεπτικών παραγόντων να ευθύνεται για την αυξημένη συχνότητα συγγενών ανωμαλιών στις πολύδυμες κυήσεις.

1.5.5 Χαμηλό βάρος γέννησης

Το χαμηλό βάρος γέννησης θεωρείται ένας από τους παράγοντες που σχετίζεται με συγγενείς ανωμαλίες. Σε βρέφη με βάρος γέννησης μεγαλύτερο των 2500 gr, η συχνότητα των ανωμαλιών είναι 4%, ενώ στα νεογνά με βάρος γέννησης μικρότερο των 1500 gr ο κίνδυνος είναι 18% (Heinonen OP et al 1977).

1.5.6 Διαταραχές της κύησης

Οι συχνότερες διαταραχές της κύησης που έχουν συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών είναι η μονήρης ομφαλική αρτηρία, το ολιγοϋδράμνιο, το πολυυδράμνιο και ο περιορισμός του ενδομήτριου χώρου.

1.5.7 Τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής

Όσον αφορά την συσχέτιση των συγγενών ανωμαλιών και των τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (IVF), δεν υπάρχει βιβλιογραφική ομοφωνία. Από τα αποτελέσματα της πολυκεντρικής μελέτης στις Η.Π.Α. των Shevell T et al (2005) δεν παρατηρήθηκε αύξηση της συχνότητας τόσο των δομικών όσο και των χρωμοσωμικών ανωμαλιών. Αντίθετα από δύο άλλες μελέτες σε νεογνά των οποίων η σύλληψη έγινε με IVF ή με ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI), πρόέκυψε ότι ο κίνδυνος εμφάνισης συγγενών δομικών ανωμαλιών ήταν διπλάσιος ενώ παρατηρήθηκε αύξηση και των χρωμοσωμικών ανωμαλιών (Hansen M et al, 2002, Merlob P

et al 2005). Στην μελέτη των Merlob P et al, (2005), παρατηρήθηκε αυξημένος κίνδυνος για συγκεκριμένες ανωμαλίες, όπως ανωμαλίες του νευρικού σωλήνα, ανωμαλίες του πεπτικού συστήματος, ομφαλοκήλη, και υποσπαδία, ενώ για άλλες κοινές συγγενείς ανωμαλίες, όπως στοματο-προσωπικές σχιστίες, καμία σημαντική αύξηση δεν παρατήθηκε, παρόλο που μία συσχέτιση μεταξύ της διέγερσης των ωοθηκών και της γέννησης νεογνών με σχιστίες του προσώπου είχε περιγραφεί στο παρελθόν. Μετά από μελέτη διέγερσης των ωοθηκών και εμφάνισης ανωμαλιών του νευρικού σωλήνα από τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Van Loon K et al, 1992) πιθανολογείται να υπάρχει αυξημένος κίνδυνος εκδήλωσης. Συγκεκριμένα έχει αναφερθεί αυξημένος κίνδυνος για δισχιδή ράχη, όπου η προγεννητική διάγνωση είναι λιγότερο επιτυχής από ό, τι για την ανεγκεφαλία.

Η δεύτερη ομάδα των δυσπλασιών που συμβαίνει σε αυξημένο ρυθμό μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση σύμφωνα με τους Lancaster PA et al (1986) είναι η ατρησία του οισοφάγου, η ατρησία του λεπτού εντέρου και η ατρησία του πρωκτού. Ο αυξημένος κίνδυνος για ομφαλοκήλη που παρατηρήθηκε μπορεί να είναι τυχαίος μολονότι ήταν στατιστικά σημαντικός. Έχει ενδιαφέρον ότι ο υποσπαδίας φάνηκε να αυξάνεται σε βρέφη που γεννήθηκαν μετά από ICSI, αλλά δεν συμβαίνει το ίδιο μετά την κλασική υποβοηθούμενη αναπαραγωγή. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι επειδή η αναλογία των φύλων μετά από ICSI είναι διαφορετική σε σχέση με τη φυσιολογική σύλληψη, η αύξηση του κινδύνου για υποσπαδία ελαφρώς υποτιμάται. Ο αυξημένος κίνδυνος για την εμφάνιση υποσπαδία μετά από IVF που έχει περιγραφεί από τους Silver RI et al το 1999 συνδέθηκε με την θεραπεία με προγεστογόνα, ενώ οι Kallen B et al το 2010 θεώρησαν αμφίβολη τη συσχέτιση της θεραπείας με προγεστογόνα και την πρόκληση υποσπαδία.

Στην πλέον πρόσφατη μελέτη από τους Farhi A et al το 2013 συμπεριλήφθηκαν 9042 γεννήσεις μετά από IVF και 213.288 γεννήσεις μετά από φυσική σύλληψη κατά την περίοδο 1997-2004. Παρατηρήθηκε αυξημένος κίνδυνος για όλες τις συγγενείς δυσπλασίες σε βρέφη που γεννήθηκαν μετά

από IVF σε σύγκριση με τα βρέφη που γεννήθηκαν μετά από φυσιολογική σύλληψη (2,4% έναντι 1,9% αντίστοιχα). Ο αυξημένος κίνδυνος αφορούσε τις μονήρεις γεννήσεις (2,4% έναντι 1,8%) αλλά όχι τις πολύδυμες κυήσεις μετά από IVF [2,5% έναντι 2,6%]. Σημαντικά αυξημένος κίνδυνος για την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών του νευρικού, του κυκλοφορικού, του πεπτικού και του γεννητικού συστήματος ήταν εμφανής στα βρέφη μετά από IVF σε σύγκριση με βρέφη φυσιολογικής σύλληψης (Farhi A et al, 2013). Η αύξηση του κινδύνου, ενδεχομένως να είναι αποτέλεσμα των χαρακτηριστικών των ατόμων που υποβάλλονται σε τεχνικές υποβοηθούμενης παραγωγής, όπως η προχωρημένη ηλικία των υπογόνιμων ζευγαριών, η υποκείμενη αιτία της υπογονιμότητας, τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για την πρόκληση ωορρηξίας ή για τη διατήρηση της εγκυμοσύνης κατά τα πρώτα στάδια, οι παράγοντες που σχετίζονται με τις διαδικασίες, όπως η κατάψυξη και απόψυξη των εμβρύων, το δυναμικό για πολυσπερμική λίπανση και η καθυστερημένη γονιμοποίηση του ωαρίου (Ghazi HA et al 1991, Tandulwadkar S et al 2012, Hansen M et al 2012).

1.6 Αιτιολογία Συγγενών Ανωμαλιών

Η αιτιολογία των συγγενών ανωμαλιών μπορεί να διαιρεθεί σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: γενετική, περιβαλλοντική και άγνωστη (Καραβιτάκης Μ, Φρυσίρα Ε, 2009). Σύμφωνα με παλαιότερες μελέτες που βασίζονται σε πεπερασμένες διαγνωστικές εξετάσεις οι συγγενείς ανωμαλίες γενετικής και περιβαλλοντικής αιτιολογίας καταλαμβάνουν συνολικά περίπου το 40%, ενώ οι ανωμαλίες άγνωστης αιτιολογίας αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό, μεταξύ 40-60%. Από το 40% της γενετικής και περιβαλλοντικής αιτιολογίας, το 7.5% περίπου αφορά μονογονιδιακά νοσήματα που ακολουθούν τους μενδέλειους κανόνες κληρονομικότητας, ενώ το 6% περίπου αφορά τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Από το υπόλοιπο ποσοστό περίπου το 5% αφορά ανωμαλίες αμιγώς περιβαλλοντικής αιτιολογίας, με την έννοια της έκθεσης της

μητέρας κατά την κύηση σε διαφόρους λοιμογόνους ή μη παράγοντες, φαρμακολογικές ή άλλες τοξικές ουσίες. Σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες αποδίδεται ένα σημαντικό ποσοστό των συγγενών ανωμαλιών στα νεογνά. Σε ποσοστό 20% καταγράφονται ανωμαλίες πολυπαραγοντικής αιτιολογίας, όπου πολλαπλοί γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες συνδυάζονται στον παθογενετικό μηχανισμό της συγγενούς ανωμαλίας.

Παρόλο που σε ένα μεγάλο ποσοστό δεν δύναται να διευκρινιστεί η αιτιολογία τους, η ταξινόμηση τους στις διάφορες κατηγορίες είναι απαραίτητη για την διερεύνηση του παθογενετικού μηχανισμού με τον οποίο προκλήθηκαν. Η ακριβής διάγνωση της αιτιολογίας των συγγενών ανωμαλιών παρέχει σημαντικές πληροφορίες για τη σωστή γενετική συμβουλευτική της οικογένειας, αφού μπορούμε να υπολογίσουμε με μεγαλύτερη ακρίβεια τον κίνδυνο επανάληψης και ενδεχομένως να προσφέρουμε τη δυνατότητα προγεννητικού ελέγχου στις επόμενες κυήσεις (Κίτσιου- Τζέλη Σ, 1992).

1.6.1 Συγγενείς Ανωμαλίες γενετικής αιτιολογίας

1.6.1.α.Μονογονιδιακά νοσήματα

Οι συγγενείς ανωμαλίες που σχετίζονται με μονογονιδιακά νοσήματα ακολουθούν τους Μενδέλειους κανόνες κληρονομικότητας. Τα μονογονιδιακά νοσήματα, παρότι σπάνια το καθένα ξεχωριστά, στο σύνολό τους είναι πολλά. Μέχρι πρόσφατα έχουν καταγραφεί στο OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) περίπου 4000 γενετικοί τόποι (loci) που σχετίζονται με μονογονιδιακά νοσήματα και προκαλούνται από μεταλλάξεις του ενός ή και των δύο γονιδίων κάθε ζεύγους χρωμοσωμάτων. Υπολογίζεται ότι η συχνότητα των συγγενών ανωμαλιών που οφείλονται σε μεταλλαγμένα γονίδια και τα οποία ακολουθούν τον αυτοσωματικό επικρατητικό ή υπολειπόμενο και τον φυλοσύνδετο τρόπο κληρονομικότητας κυμαίνεται από 0.8 έως 8 ανά 1000 ζώντα νεογνά. Η μεγάλη αυτή διακύμανση αποδίδεται στην ελλιπή διάγνωση ή στην

υπερεκτίμηση των ανωμαλιών αυτής της κατηγορίας στις διάφορες μελέτες. (Kelter H 1998).

1.6.1.β.Χρωμοσωμικά νοσήματα

Σε χρωμοσωμικά νοσήματα αποδίδεται ένα σημαντικό ποσοστό των συγγενών ανωμαλιών που εντοπίζονται αμέσως μετά τη γέννηση. Το ποσοστό αυτό στην πραγματικότητα είναι ακόμη μεγαλύτερο καθώς ορισμένα χρωμοσωμικά σύνδρομα όπως το Klinefelter, 47,XXX, 47,XYY δεν είναι εμφανή κατά την γέννηση.

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι ιδιαίτερα συχνές στις αυτόματες αποβολές. Υπολογίζεται ότι το 10%-15% των κυήσεων καταλήγουν σε αυτόματες αποβολές και το 50% αυτών συνδυάζονται με χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Όσον αφορά στο σύνδρομο Turner, περίπου το 99% εμβρύων καταλήγουν σε αυτόματη αποβολή (Stephenson MD et al 2002). Γενικότερα το αποτέλεσμα αυτής της πρώιμης φυσικής επιλογής και της αυτόματης αποβολής είναι η μείωση του ποσοστού των χρωμοσωμικών ανωμαλιών με την εξέλιξη της εγκυμοσύνης, έτσι ώστε η συχνότητά τους στα θνησιγενή έμβρυα να είναι περίπου 6%, ενώ στα ζώντα νεογνά να ανέρχεται στο 0.6%. Οι συχνότερες χρωμοσωμικές ανωμαλίες που παρατηρούνται στις αυτόματες αποβολές είναι αριθμητικές τρισωμίες αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων, μονοσωμίες X και πολυπλοειδείς. Μεταξύ των τρισωμιών, οι συχνότερες αφορούν τα χρωμοσώματα 13, 14, 15, 16, 18, 21 και 22. Οι ανωμαλίες των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων προκαλούν συνήθως πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες και νοητική υστέρηση. Αντίθετα, οι ανωμαλίες των χρωμοσωμάτων του φύλου και κυρίως οι αριθμητικές παρουσιάζουν ηπιότερο φαινότυπο (Staeble M et al, 2005). Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες εν γένει ευθύνονται για ένα ευρύτερο φάσμα σύνθετων φαινοτύπων, συμπεριλαμβανομένων, πλην των πολλαπλών συγγενών ανωμαλιών και δυσμορφικών χαρακτηριστικών,

νοητικής υστέρησης/ μαθησιακών δυσκολιών και διαταραχών του φάσματος αυτισμού.

1.6.2 Συγγενείς ανωμαλίες περιβαλλοντικής αιτιολογίας

Εκτός από τη γενετική αιτιολογία των συγγενών ανωμαλιών, ένα ποσοστό περίπου 5% καλύπτεται από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως φάνηκε σε παλαιότερες μελέτες. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες δύνανται να ασκούν μεταλλαξιογόνο δράση στο πατρικό ή μητρικό γενετικό υλικό ή απευθείας τερατογόνο δράση στο κύημα, ανάλογα με το χρόνο έκθεσης δηλαδή πριν ή μετά τη σύλληψη αντίστοιχα. Μετά τη σύλληψη, η έκθεση στον τερατογόνο παράγοντα κυρίως το πρώτο τρίμηνο της κύησης κατά την «ευαίσθητη περίοδο» της οργανογένεσης, έχει ως συνέπεια την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών (Κίτσιου Τζέλη Σ, 1992). Με τα στοιχεία από νεότερες μελέτες, προγεννητική έκθεση σε κάποιον ειδικό τερατογόνο παράγοντα διαπιστώνεται στο 8-10% των περιπτώσεων συγγενών ανωμαλιών. Ανάλογα με τη χρονική περίοδο δράσης του τερατογόνου παράγοντα, προκύπτουν ειδικές ανωμαλίες από τα διάφορα συστήματα (Dolk H 2004).

Η ανεπαρκής πρόσληψη βιταμινών στο διάστημα κοντά στην σύλληψη έχει αποδειχθεί ότι είναι από τους σημαντικότερους παράγοντες αυξημένου κινδύνου για την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών. Η σημασία του φυλλικού οξέος και άλλων διατροφικών πηγών μεθυλομάδων για την ισορροπία της μεθυλίωσης του DNA αποδείχθηκε από τους Cooney CA και συν 2002 και επιβεβαιώθηκε ένα χρόνο αργότερα από τους Waterland RA και Jirtle RL 2003 σε πειράματα με ποντίκια Agouti (A^{vy}). Είναι γνωστό ότι η ανεπαρκής πρόσληψη φυλλικού οξέος οδηγεί σε χρωμοσωμική αστάθεια με αποτέλεσμα ανωμαλίες του πλακούντα αλλά και συγγενείς ανωμαλίες με συχνότερα τα ελλείμματα του νωτιαίου σωλήνα. Η ενίσχυση της διατροφής με φυλλικό οξύ πριν ακόμη από τη σύλληψη αποτελεί ήδη πρακτική στις περισσότερες χώρες

του κόσμου και είναι απαραίτητη ιδιαίτερα για τις μητέρες με ανεπάρκεια σε ένζυμα μεταβολισμού του φυλλικού οξέος (π.χ. *MTHFR*).

Εκτός από τα τερατογόνα φάρμακα, διάφορες ανωμαλίες του άμεσου περιβάλλοντος του εμβρύου όπως η κακή θέση εμφύτευσης στην μήτρα, ή η ανεπάρκεια του πλακούντα μπορεί να επηρεάζουν την αιμάτωση και την θρέψη του εμβρύου συμβάλλοντας στην πρόκληση συγγενών ανωμαλιών.

Επίσης η μειωμένη ενδοτικότητα της μήτρας έχει ενοχοποιηθεί για την πρόκληση συγγενούς εξάρθρωματος ισχίου και ραιβοϊπποποδίας.

1.6.3 Συγγενείς ανωμαλίες πολυπαραγοντικής αιτιολογίας

Πολυπαραγοντικής αιτιολογίας είναι οι δομικές συγγενείς ανωμαλίες για τις οποίες δε διαπιστώνεται αίτιο μονογονιδιακό ή χρωμοσωμικό ούτε έκθεση σε τερατογόνους παράγοντες όπως η στένωση του πυλωρού και το συγγενές εξάρθρωμα ισχίου. Συνήθως οι συγγενείς ανωμαλίες πολυπαραγοντικής αιτιολογίας είναι μεμονωμένες και κοινές στον γενικό πληθυσμό. Σημαντικό μέρος έχει γενετικό υπόστρωμα με την έννοια της αλληλεπίδρασης πολλών γονιδίων με περιβαλλοντικούς παράγοντες. Η ανακάλυψη νέων υπεύθυνων γονιδίων και άλλων περιβαλλοντικών τερατογόνων ουσιών, αναμφισβήτητα προσφέρει τη δυνατότητα κατανόησης της αιτιολογίας και του παθογενετικού μηχανισμού αυτής της κατηγορίας των συγγενών ανωμαλιών (Kalter H, 2003, Brent RL, 2004).

1.7 Πρόληψη συγγενών ανωμαλιών

Υπάρχει έντονη ανησυχία και συνεχής επαγρύπνηση σχετικά με την αιτιολογία των συγγενών ανωμαλιών και πολλά ερωτήματα έχουν εκφραστεί για την συσχέτιση της προγεννητικής έκθεσης σε διάφορους

περιβαλλοντικούς παράγοντες με την εκδήλωση προβλημάτων υγείας, όπως εκδηλώσεις από το αναπνευστικό σύστημα, κακοήθειες ή συγγενείς ανωμαλίες. Συνεπώς, είναι ύψιστης σημασίας η καταγραφή της εμφάνισης και της γεωγραφικής κατανομής ασθενειών, όπως ο καρκίνος ή οι γενετικές ανωμαλίες. Μία προκαταρκτική μελέτη του Bédard JE το 2011 έδειξε μια μη σημαντική αύξηση του επιπολασμού των συγγενών ανωμαλιών του καρδιαγγειακού συστήματος στην γέννηση σε αγροτικές περιοχές σε σύγκριση με τις αστικές. Η συχνότητα των ανωμαλιών του νευρικού σωλήνα δεν είχε κάποια σημαντική αλλαγή μετά από τη μεγάλη πτώση που ακολούθησε την εισαγωγή του φυλλικού οξέος, στη διατροφή της εγκύου το 1998. Υπήρξε μια αιχμή της συχνότητας της δισχιδούς ράχης για το έτος 2006 και επίσης μία πολύ μικρή αιχμή για ανεγκεφαλίας το 2009, οι οποίες είναι σε μεγάλο βαθμό ανεξήγητες. Παρατηρήθηκε μια μη στατιστικά σημαντική αύξηση σε χειλεοσχιστία με ή χωρίς υπερωιοσχιστία, αλλά υπάρχει μια σημαντική προς τα κάτω τάση για υπερωιοσχιστία, αλλά και για ορθοπρωκτική ατρησία και ατρησία ή στένωση του παχέος εντέρου. Η μεγαλύτερη αύξηση παρατηρείται στην γαστροσχιστία και στο σύνδρομο Down. Το τελευταίο είναι σχεδόν βέβαιο λόγω του πολύ υψηλότερου ποσοστού γυναικών ηλικίας άνω των 35, οι οποίες γονιμοποιούν.

Στις αρχές του 1980 περίπου 4% όλων των μητέρων ήταν ηλικίας μεγαλύτερης των 35 ετών, ενώ τώρα το ποσοστό αυτό αγγίζει το 16% (Oddy WH et al 2009, Stothard KJ et al 2009, Watkins ML et al 2003).

Είναι ενδιαφέρον ότι και η νεαρή ηλικία της μητέρας συσχετίζεται με ορισμένες συγγενείς ανωμαλίες όπως την γαστρόσχιση καθώς εμφανίζεται κυρίως σε πολύ νεαρές μητέρες (15 έως 19 ετών) και σε μικρότερο βαθμό επίσης μεταξύ της ηλικίας 20 έως 24 ετών. Ενώ η ακριβής παθογένεια είναι άγνωστη, υπάρχει ένας συσχετισμός με ένα σύνολο παραγόντων κινδύνου, όπως η απουσία προγεννητικής φροντίδας, η κακή διατροφή, η χρήση των αγγειοσυσπαστικών ψυχαγωγικών ναρκωτικών όπως το ecstasy, οι αμφεταμίνες και η κοκαΐνη, το κάπνισμα τσιγάρων ή μαριχουάνας.

Η πιο πετυχημένη στρατηγική για την πρόληψη των συγγενών ανωμαλιών όλα αυτά τα χρόνια θεωρείται η ανοσοποίηση για την ερυθρά και η εξάλειψη του συνδρόμου της συγγενούς ερυθράς. Δυστυχώς, παραμένει μικρό ποσοστό του πληθυσμού που αρνούνται να ανοσοποιήσουν τα παιδιά τους λόγω της υποτιθέμενης σύνδεσης μεταξύ του εμβολίου MMR και του αυτισμού που όμως έχει αποδειχθεί ότι είναι ψευδής. Επίσης ο βελτιωμένος έλεγχος γλυκόζης για τις διαβητικές μητέρες και η ταυτοποίηση των ατόμων με διαβήτη κύησης είναι υψίστης σημασίας, όπως και η αποφυγή του καπνού, του αλκοόλ και φαρμάκων που έχουν γνωστή τερατογόνο δράση όπως είναι η θαλιδομίδη, τα αντιεπιληπτικά, και η ισοτρετινίνη. Άλλα φάρμακα συμπεριλαμβανομένων των ψυχοτρόπων, ακόμη και αν δεν έχει αποδειχθεί ότι είναι τερατογόνα θα πρέπει να αποφεύγονται κατά τη διάρκεια της κύησης. Αν η χορήγησή τους απαιτείται θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο μετά από προσεκτική αξιολόγηση και να χορηγείται ένα μόνο φάρμακο (μονοθεραπεία) και η ελάχιστη αποτελεσματική δόση.

Υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις ότι οι συγγενείς ανωμαλίες είναι συχνότερες μεταξύ των παχύσαρκων μητέρων ($\Delta\text{ΜΣ} \geq 30$), ακόμη και των υπέρβαρων μητέρων ($\Delta\text{ΜΣ}$ 25,0 έως 29,9) από ό,τι μεταξύ των γυναικών φυσιολογικού βάρους ($\Delta\text{ΜΣ}$ 18,5 - 24,9). Η αύξηση των συγγενών ανωμαλιών περιλαμβάνει πολλά διαφορετικά συστήματα, μεταξύ αυτών ανωμαλίες του νευρικού σωλήνα, καρδιακές ανωμαλίες, στοματοπροσωπικές σχιστίδες, ανωμαλίες των άκρων, αποφρακτικές ανωμαλίες του ουροποιητικού συστήματος και ορθοπρωκτική ατρησία. (Oddy WH et al 2009, Stothard KJ et al 2009, Watkins ML et al 2003).

Ένα απλό μέτρο δημόσιας υγείας για τη μείωση του επιπολασμού των συγγενών ανωμαλιών, πέραν των ελλειμμάτων του νευρικού σωλήνα, θα πρέπει να περιλαμβάνει εκστρατείες για την αύξηση της χρήσης των πολυβιταμινών και του φυλλικού οξέος πριν από τη σύλληψη και σε όλο το πρώτο τρίμηνο της κύησης. Υπάρχουν σημαντικές αποδείξεις ότι η χρήση των συμπληρωμάτων φυλλικού οξέος είναι υποβέλτιστη (Ray JG et al 2004) παρά τις δημόσιες εκστρατείες για την γνωστοποίηση της ανάγκης λήψης αυτού.

Συνήθως μετά από κάθε εκστρατεία υπάρχει μία προσωρινή βελτίωση του ποσοστού των εγκύων που λαμβάνει το φυλλικό οξύ αλλά ποτέ δεν αυξάνεται πάνω από το 50% του πληθυσμού με το υψηλότερο ποσοστό λήψης φυλλικού οξέος στις γυναίκες του Βανκούβερ (49%) (Morin VI et al 2001). Εκτός από τις σχιστίες χειλέων/υπερώας, υπάρχουν κάποιες ενδείξεις ότι το φυλλικό οξύ και / ή οι πολυβιταμίνες μπορεί να μειώσουν και την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών των άκρων (Cleves MA et al 2010), της καρδιάς (Botto LD et al 2004), του ουροποιητικού συστήματος (Czeizel AE 2009) και της ατρησίας του ορθού (Myers MF et al 2001).

Ιδιαίτερη σημασία έχει σήμερα η δευτεροβάθμια πρόληψη των συγγενών ανωμαλιών, δηλαδή η ανίχνευσή τους κατά την προγεννητική περίοδο. Στη δευτεροβάθμια πρόληψη χρησιμοποιούνται ορολογικές μετρήσεις στην έγκυο, επεμβατικές μέθοδοι, όπως η αμνιοπαρακέντηση και η λήψη χοριακής λάχνης αλλά κυρίως ο προγεννητικός τακτικός υπερηχογραφικός έλεγχος για τον αποκλεισμό ή την επιβεβαίωση συγγενών ανωμαλιών, καθώς το 90% των νεογνών με συγγενείς ανωμαλίες γεννιούνται από μητέρες χωρίς εμφανείς παράγοντες κινδύνου (Stefos T et al, 1999, Stoll C et al, 2003).

Ο υπερηχογραφικός έλεγχος δεν εξασφαλίζει την ανίχνευση συγγενών ανωμαλιών με 100% ακρίβεια. Από διάφορες μελέτες έχει προκύψει ότι το ποσοστό ανίχνευσης προγεννητικά ανωμαλιών κυμαίνεται από 35 έως 78,3%. Η ευρεία αυτή διακύμανση οφείλεται στο διαφορετικό επίπεδο εκπαίδευσης, εμπειρίας, εξοπλισμού των μελετητών, στο περιορισμένο αριθμό περιστατικών και ανωμαλιών που έχουν διερευνηθεί ανά μελέτη καθώς επίσης και στον αριθμό των υπερηχογραφικών ελέγχων που πραγματοποιείται σε κάθε κύηση (Grandjean H et al 1999). Έχει παρατηρηθεί πως σε τριτοβάθμια νοσοκομεία και σε ελέγχους κυήσεων υψηλού κινδύνου η ευαισθησία κυμαίνεται από 96-99% και ειδικότητα 100%, σε αντίθεση με τον τακτικό έλεγχο κυήσεων χαμηλού κινδύνου που η ευαισθησία κυμαίνεται από 50-60% και η ειδικότητα 95-99% (Carrera JM et al, 1995). Παράγοντες που ενδέχεται να επηρεάσουν το ποσοστό ανίχνευσης των προγεννητικών

συγγενών ανωμαλιών είναι ο μητρικός δείκτης μάζας σώματος ($>25\text{kg/m}^2$) και η ηλικία κύησης (Tabor A et al, 2003). Η ιδανικότερη ηλικία κύησης για την υπερηχογραφική ανίχνευση των περισσότερων συγγενών ανωμαλιών είναι μεταξύ της 20^{ης} και 22^{ης} εβδομάδας ενώ ο έλεγχος μεταξύ 10^{ης} και 14^{ης} εβδομάδας, έχει δυνατότητα ανεύρεσης έως 80% των εμβρύων με χρωμοσωμικές ανωμαλίες.

Η περίοδος του πρώτου τριμήνου θεωρείται η ιδανική για την εκτέλεση ενός ενδεδειγμένου υπερηχογραφικού ελέγχου καθώς έχουν ολοκληρωθεί τα ανατομικά χαρακτηριστικά του εμβρύου το οποίο έχει ικανοποιητικό μέγεθος για την λεπτομερή εξέτασή του και ο όγκος του αμνιακού υγρού είναι επαρκής ώστε το έμβρυο να απεικονίζεται ευκρινώς. Υπερηχογραφικοί δείκτες χρωμοσωμικών ανωμαλιών είναι η μέτρηση της αυχενικής διαφάνειας σε συνδυασμό με την απουσία του ρινικού οστού που συσχετίζονται με τρισωμία 21 ή άλλες ανευπλοειδίες σε ποσοστό 70%. Άλλοι δείκτες χρωμοσωμικών ή μονογονιδιακών ανωμαλιών είναι η υποπλασία της 5^{ης} φάλαγγας του 5^{ου} δακτύλου της άκρας χειρός, η οπισθογναθία, η χαμηλή πρόσφυση ώτων, το υπερηχογενές έντερο, το ολιγουδράμνιο ή το πολυδράμνιο (Carrera JM et al 1995). Παράλληλα παρέχεται η δυνατότητα προσδιορισμού της ηλικίας κύησης και του αριθμού των εμβρύων. Μείζονες καρδιακές ή και άλλες ανωμαλίες μπορούν να ανιχνευτούν και να γίνει η συσχέτιση αυτών με διάφορα γενετικά σύνδρομα (Souka AP et al, 1997, Schwarzier P et al, 1999, Zorpi MA et al 2003, Taipale P et al 2004). Όταν κατά τον υπερηχογραφικό έλεγχο εντοπίζονται συγγενείς ανωμαλίες προκύπτει η ανάγκη αποκλεισμού χρωμοσωμικού ή μονογονιδιακού νοσήματος και συστήνεται διενέργεια προγεννητικού ελέγχου.

Σε μία από τις μεγαλύτερες πολυκεντρικές μελέτες των Grandjean H et al το 1998 και 1999 σε 170.800 έμβρυα βρέθηκαν 3686 με συγγενείς ανωμαλίες, μείζονες και ελάσσονες (74% και 46% αντίστοιχα). Το ποσοστό ανίχνευσης μείζονων ανωμαλιών ήταν μεγαλύτερο στο ουροποιητικό και το ΚΝΣ (88,5% και 88,3% αντίστοιχα), το μυοσκελετικό (73,6%) και λιγότερο το καρδιαγγειακό σύστημα (38,3%). Για τις ελάσσονες ανωμαλίες το ποσοστό

ανίχνευσης ήταν μεγαλύτερο στο ουροποιητικό και λιγότερο στο καρδιαγγειακό και το μυοσκελετικό (89,1%, 29, 8% και 18% αντίστοιχα). Όπως προκύπτει από άλλες μελέτες ο αρνητικός υπερηχογραφικός έλεγχος δεν αποκλείει απόλυτα την απουσία τους.

Ωστόσο τα ποσοστά ανίχνευσης είναι υψηλότερα στις μείζονες και θανατηφόρες ανωμαλίες (Goncalves LF et al 1994).

Συμπερασματικά, ο προγεννητικός υπερηχογραφικός έλεγχος θεωρείται η μέθοδος εκλογής με μεγάλη ειδικότητα και ευαισθησία για την προγεννητική ανίχνευση συγγενών ανωμαλιών (Goldberg JD 2004, Levi S 2002).

Με την δυνατότητα προγεννητικής ανίχνευσης των συγγενών ανωμαλιών προσφέρεται η κατά το δυνατό καλύτερη παρακολούθηση της κύησης όσον αφορά την προγεννητική φροντίδα και την παροχή σωστών πληροφοριών για την πρόγνωση και ενδεχομένως τη λήψη απόφασης για την διακοπή της κύησης.

Παράλληλα για τους γονείς που επιλέγουν την ολοκλήρωση της κύησης παρέχεται η δυνατότητα προετοιμασίας των γονέων ως προς την γέννηση ενός πάσχοντος νεογνού και προγραμματίζεται η κατάλληλη αντιμετώπιση του νεογνού μετά τη γέννηση και πιθανόν η μεταφορά του σε ειδικές μονάδες εντατικής παρακολούθησης και θεραπείας. Έτσι σημειώνεται σημαντική μείωση της νοσηρότητας και θνησιμότητας των πασχόντων νεογνών (Grandjean H et al 1999, Stoll C et al 2002, Czeizel AE 2004, Garne E et al 2004, Garne E et al 2005). Τα τελευταία μάλιστα έτη, σε ορισμένες συγγενείς ανωμαλίες όπως η διαφραγματοκήλη υπάρχει η δυνατότητα ενδομήτριας χειρουργικής διόρθωσης (Albanese CT et al 1998, Harrison MR, 2000).

1.8 Διαγνωστική προσέγγιση ασθενών με συγγενείς ανωμαλίες

Η σωστή αξιολόγηση των κλινικών συμπτωμάτων και μορφολογικών ανωμαλιών αποτελούν την προϋπόθεση για τον ορθό εργαστηριακό έλεγχο και την έγκαιρη διάγνωση. Για κάποια σύνδρομα (όπως το σύνδρομο Williams, η αχονδροπλασία), η διάγνωση δύναται να τεθεί από τα χαρακτηριστικά του προσώπου καθώς και από ανωμαλίες άλλων συστημάτων. Η διαγνωστική προσέγγιση των νεογνών, βρεφών και παιδιών με ασυνήθιστα όμως χαρακτηριστικά βασίζεται: **1)** στην προσεκτική λήψη του ιστορικού **2)** στην λεπτομερή κλινική εξέταση (περιγράφεται με σαφήνεια και καταγράφεται ό,τι παρατηρείται στον υπό εξέταση ασθενή) και **3)** στον κατάλληλο εργαστηριακό έλεγχο. Δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στο γενεαλογικό δένδρο, στο οικογενειακό, προγεννητικό, περιγεννητικό και αναπτυξιακό ιστορικό, που αποτελούν απαραίτητα εργαλεία για τη σωστή διάγνωση, τον καθορισμό της πρόγνωσης, στην εντόπιση άλλων μελών της οικογένειας, που είναι σε κίνδυνο και την παροχή πληροφοριών όσον αφορά τη φύση της ασθένειας. Η κατασκευή ενός λεπτομερούς γενεαλογικού δένδρου θεωρείται το πρώτο βήμα στη διερεύνηση των ασθενών. Οι ερωτήσεις πρέπει να είναι εξειδικευμένες ούτως ώστε να λαμβάνονται συγκεκριμένα στοιχεία για τον τρόπο κληρονομικότητας.

1.9 Ο ρόλος των Ποικιλομορφισμών αριθμού αντιγράφων (CNVs) στις συγγενείς ανωμαλίες

Το ανθρώπινο γονιδίωμα αποτελεί μια πολύπλοκη πολυμορφική αρχιτεκτονική δυναμική οντότητα με εκτενείς γενωμικές αναδιατάξεις, περιλαμβάνοντας ποσοτικές και ποιοτικές αλλαγές. Η ποικιλομορφία στο

ανθρώπινο γονιδίωμα υπάρχει σε πολλές μορφές, περιλαμβάνοντας πολυμορφισμούς απλών νουκλεοτιδίων (SNP, Single-Nucleotide Polymorphisms), πολυμορφισμούς μικρών ενθέσεων και ελλειμμάτων, επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες και γενωμικές δομικές αλλαγές, όπως αναστροφές, ισοζυγισμένες και μη ισοζυγισμένες αμοιβαίες μεταθέσεις. Αυτές οι αναδιατάξεις αλλάζουν τη χωρική οργάνωση του DNA ή καταλήγουν σε ελλείμματα, προσθήκες, ή διπλασιασμούς χρωμοσωμικών περιοχών, με μέγεθος από μερικές κιλοβάσεις (Kb) έως πολλές μεγαβάσεις (Mb). (Fanciulli M et al., 2009). Συσχετίζονται με περίπου 6500 περιοχές που είναι διασκορπισμένες σε όλο το ανθρώπινο γονιδίωμα, το οποίο χαρακτηρίζεται ως χρωμοσωμικά πολυμορφικό σε ποσοστό 20%.

Τα CNVs ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση, επηρεάζουν τη γενετική ποικιλομορφία και συμβάλλουν στην εξέλιξη (Iafrate AJ et al, 2004; Sebat J et al, 2004; Redon R et al, 2006). Οι περιοχές CNVs οι οποίες αφορούν περίπου 10-12% του γονιδιώματος, με το 46% αυτών να εντοπίζονται σε περικεντρικές και υποτελομερικές περιοχές, ενώ τα υπόλοιπα CNVs σε ενδιάμεσες περιοχές σε ποσοστό 6% σε κάθε χρωμόσωμα (van Ommen GJ et al, 2005, Moeschler JB et al, 2008) μπορεί να είναι πολυμορφικές, δηλαδή να μην έχουν παθολογική επίπτωση στο φαινότυπο ή ακόμα και παθολογικές, συνδεόμενες ακόμη και με την εμφάνιση πολυπαραγοντικών νοσημάτων με καθυστέρηση στην έναρξη της νόσου ή να εμφανίζουν ποικίλη διεισδυτικότητα και μειωμένη εκφραστικότητα ή απλά να αποτελούν προδιαθεσικούς παράγοντες για κάποια διαταραχή ή να σχετίζονται με την απόκριση σε συγκεκριμένα φάρμακα. Πολλά δε από αυτά τα CNVs έχουν ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση συνδρόμων μικροδιπλασιασμών και μικροελλειμμάτων, καθώς επηρεάζουν την γονιδιακή έκφραση. Μερικά CNVs ενδέχεται να αλληλοεπικαλύπτονται με γενωμικές περιοχές μη κωδικοποιών RNA, περιλαμβάνοντας τα microRNAs (miRNAs). Τα CNVs που περιλαμβάνουν μη κωδικοποιούσες περιοχές, δύναται να ρυθμίζουν τα επίπεδα γονιδιακής έκφρασης έμμεσα μέσω φαινομένων θέσης, επιδρώντας σε μεταγραφικά

ρυθμιστικά στοιχεία σε μεγάλες αποστάσεις της τάξης των ~6Mb ή μέσω αλλαγών στη δομή της χρωματίνης.

Οι πολυμορφικές χρωμοσωμικές αναδιατάξεις μπορεί να έχουν τις εξής συνέπειες:

A) Πιθανή επίπτωση στον αριθμό αντιγράφων ενός γονιδίου με συνέπεια μεταβολή στη σύνθεση της πρωτεΐνης (gene dosage)

B) Κατάργηση της λειτουργίας των γονιδίων

Γ) Αλλαγή της δομής των γονιδίων

Δ) Απορρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων

Όλα τα παραπάνω οδηγούν σε παθολογικούς φαινοτύπους. (Redon et al., 2006). Οι πολυμορφισμοί αριθμού αντιγράφων (CNVs, Copy Number Variations) αποτελούν μεγάλα τμήματα DNA με μέγεθος, που κυμαίνεται από χιλιάδες ως εκατομμύρια νουκλεοτιδικές βάσεις με ποικιλομορφία στον αριθμό των αντιγράφων, *de novo* ή κληρονομικά (Fanciulli M et al, 2010). Αποτελούν πραγματικούς πολυμορφισμούς όταν εντοπίζονται σε ποσοστό μεγαλύτερο ή ίσο του 1% ενός συγκεκριμένου πληθυσμού.

Διακρίνονται σε:

A. Ελλείμματα (υποτελομεριδιακά και ενδιάμεσα)

B. Διπλασιασμούς

Γ. Ελλείμματα και διπλασιασμούς στην ίδια θέση με συχνά αλληλεπικαλυπτόμενα όρια

Δ. Αναστροφές

E. Ενθέσεις

Τα μικροελλείμματα και οι μικροδιπλασιασμοί που προκύπτουν μπορεί να έχουν παθολογική συνέπεια ή να είναι απλά φυσιολογικές πολυμορφικές αλλαγές που αποτελούν μια νέα πηγή ποικιλομορφίας του ανθρώπινου γονιδιώματος (Ifrate AJ et al 2004, Sebat J 2004, Redon R 2006).

Εκτενείς μελέτες έχουν δείξει ότι τα CNVs επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση, τη φαινοτυπική ποικιλομορφία και προσαρμογή και συμβάλλουν στην εξέλιξη (Ifrate AJ et al., 2004; Sebat J et al., 2004; Redon R et al, 2006).

Καλύπτουν περιοχές που περιλαμβάνουν γονίδια με ρόλο στην κυτταρική προσκόλληση, τη χημική διέγερση, την απόκριση νευροδιαβιβαστών σε εξωτερικά ερεθίσματα, την άμυνα (HLA, Defensin locus) και τις αισθήσεις όπως η όσφρηση (γονίδια οσφρητικών υποδοχέων). Μεταξύ των CNVs γίνεται επίσης διάκριση σε:

A) Καλοήγη-χωρίς παθολογική συνέπεια CNVs (benign CNVs)

B) Παθολογικά CNVs (pCNVs)

Γ) Αγνώστου κλινικής σημασίας CNVs (uCNVs)

Στον γενικό πληθυσμό είναι δυνατόν να ανιχνευθούν περισσότερα καλοήγη χωρίς παθολογική συνέπεια CNVs. Σε αντίθεση με άλλους τύπους δομικών αναδιατάξεων, οι αναστροφές, επειδή θεωρούνται ισοζυγισμένες αναδιατάξεις, δεν οδηγούν άμεσα σε παθολογικές καταστάσεις στα φυσιολογικά άτομα-φορείς. Ενδέχεται όμως να αποτελούν παράγοντες κινδύνου για τη δημιουργία μικροελλειμμάτων ή μικροδιπλασιασμών στους απογόνους των φυσιολογικών γονέων-φορέων (Feuk L et al, 2006).

Μη ταξινομημένοι πολυμορφισμοί μπορούν να καταταγούν ως παθολογικοί στις βάσεις δεδομένων σύμφωνα με κριτήρια όπως:

- i) Τη de novo προέλευση
- ii) Τη διάκριση μέσα στην οικογένεια με βάση το φαινότυπο
- iii) Το μέγεθος της αστάθειας
- iv) Τον αριθμό των γονιδίων
- v) Τη λειτουργία των εμπλεκόμενων γονιδίων
- vi) Τη συσχέτιση του φαινοτύπου με την κλινική εικόνα καλά χαρακτηρισμένων συνδρόμων

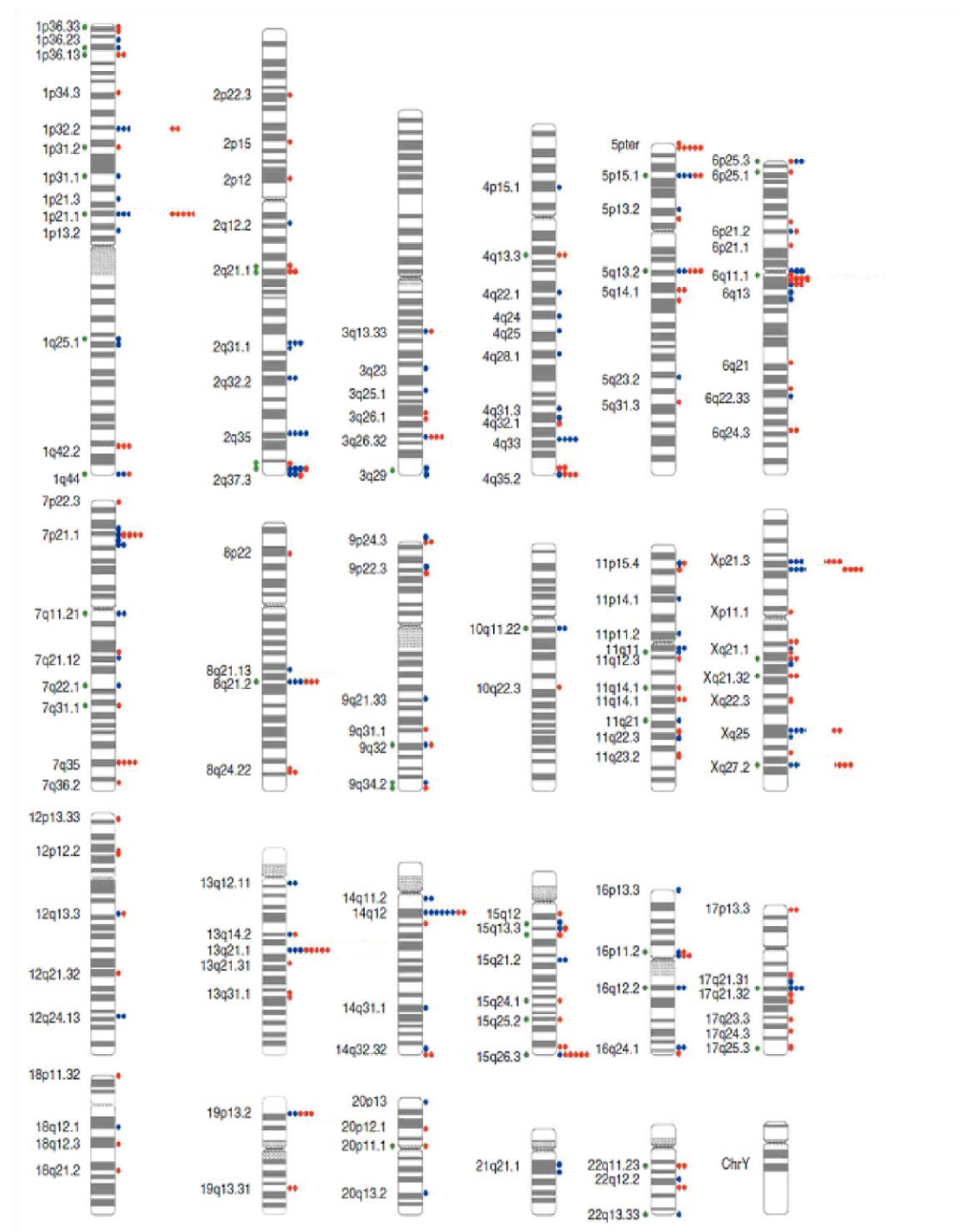
Τα CNVs που χαρακτηρίζονται «Αγνώστου κλινικής σημασίας» είναι συνήθως κληρονομούμενα από κάποιον γονέα. Αν κάποια χρωμοσωμική αναδιάταξη βρεθεί σε έναν φαινοτυπικά φυσιολογικό γονέα ή σε κάποιο ανεξάρτητο άτομο ελέγχου τότε πιθανότατα δεν υπάρχει κάποια φαινοτυπική

επίπτωση. Ωστόσο λόγω της πιθανότητας χαμηλής δεισδυτικότητας ή/και ποικίλης εκφραστικότητας του φαινοτύπου η γενετική συμβουλευτική μπορεί να αποβεί περιπλοκή. Οι διεθνείς βάσεις δεδομένων που υπάρχουν μπορούν να βοηθήσουν στον προσδιορισμό της κλινικής σημασίας των CNVs. Ο έλεγχος των γονέων ή και άλλων μελών της οικογένειας συνήθως είναι αναγκαίος για να προσδιοριστούν τα αποτελέσματα της εξέτασης. Όταν ένα CNV χαρακτηριστεί *de novo* τότε θεωρείται παθολογικό ειδικά αν η λειτουργία των γονιδίων που περιέχει συμβαδίζει με τον φαινότυπο του ασθενούς. Ωστόσο σε κάποιες περιπτώσεις πρέπει να εξετάζεται η πιθανότητα μη πατρότητας (Shinawi M et al 2008). Μερικά CNVs είναι υπερβολικά σταθερά χωρίς καμία ανιχνεύσιμη ποικιλομορφία στις θέσεις και το μέγεθος των σημείων θραύσεως, ενώ άλλα εμφανίζουν μεγάλη ετερογένεια. Έχει βρεθεί επίσης συσχέτιση πολλαπλών σπάνιων *de novo* CNVs με νευροαναπτυξιακές ασθένειες και πολυπαραγοντικά νοσήματα, όπως οι διαταραχές στο φάσμα του αυτισμού, η σχιζοφρένεια, η νόσος Crohn, η ψωρίαση, ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, η αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση και ο HIV-1. Αρκετές αλλαγές αριθμού αντιγράφων είχαν ταυτοποιηθεί με απλές μεθόδους μοριακής γενετικής ανάλυσης, όπως τις κυτταρογενετικές μεθόδους. Έχει υπολογιστεί ότι το ένα πέμπτο του ανθρώπινου γονιδιώματος περιλαμβάνει αλλαγές αριθμού αντιγράφων CNVs, με το 46% των CNVs να βρίσκονται σε περικεντρικές και υποτελομερικές περιοχές, ενώ τα υπόλοιπα CNVs εντοπίζονται στις ενδιάμεσες περιοχές. (van Ommen GJ et al, 2005). Τα περισσότερα από τα CNVs έχουν χαρτογραφηθεί χρησιμοποιώντας την κλασσική κυτταρογενετική G-ζώνωσης, το πολλαπλό υποτελομεριδιακό FISH, FISH χρώσης ολόκληρων χρωμοσωμάτων, MFISH, SKY ή πολυχρωματική

ζώνωση (MultiColor Banding, MCB). Πολλά από τα CNVs ενδεχομένως αντιπροσωπεύουν καλοήθεις κοινούς πολυμορφισμούς CNPs (Copy Number Polymorphisms), ωστόσο άλλα CNVs έχουν ενοχοποιηθεί για συγκεκριμένους κλινικούς φαινοτύπους, που οφείλονται σε διάφορους μοριακούς παθογενετικούς μηχανισμούς. (Pai GS et al 1980, Patsalis PC et al 2007).

Σύμφωνα με πρόσφατη στατιστική (Μάρτιος 2009), >3800 δομικές αλλαγές (Structural Variations, SVs ή CNVs) βρίσκονται στη Βάση δεδομένων Database of Genomic Variants (DGV,<http://projects.tcag.ca/variation/>). Οι κόκκινοι κύκλοι δεξιά από κάθε χρωμόσωμα απεικονίζουν ελλείμματα, ενώ οι μπλε διπλασιασμούς σε μια εκτενή μελέτη υγιών ατόμων (Εικόνα 6). (lafrate AJ et al, 2004) Σε μερικές περιπτώσεις, παρόμοιες αναδιατάξεις στον ίδιο γενετικό τόπο οδηγούν σε διαφορετική ανωμαλία και κατ' επέκταση σε διαφορετικές κλινικές παθογενετικές καταστάσεις. Για παράδειγμα διπλασιασμός του γονιδίου της περιφερειακής μυελίνης *PMP22* οδηγεί στην διαταραχή Charcot-Marie-Tooth τύπου 1A (CMT1A;Mendelian Inheritance in Man MIM 118220) ενώ έλλειμμα του ίδιου γονιδίου προκαλεί κληρονομική νευροπάθεια HNPP (HNPP, Hereditary Neuropathy with liability to Pressure Palsies, MIM 162500).

Εικόνα 6: Ανίχνευση ποικιλομορφιών στο ανθρώπινο γονιδίωμα



lafrate AJ et al 2004

1.10 Εφαρμογή Μικροσυστοιχιών Γενωμικού Συγκριτικού Υβριδισμού με ολιγονουκλεοτίδια (a-CGH) για τη μελέτη CNVs σε άτομα με πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες

Οι συγγενείς ανωμαλίες με ή χωρίς νοητική υστέρηση/ δυσμορφίες/ διαταραχές φάσματος αυτισμού μπορεί να οφείλονται σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες που εντοπίζονται σε περίπου 1 ανά 200 νεογνά με τον απλό (συμβατικό) καρυότυπο.

Μετά το 1956 όταν οι Tjio και Levan πρώτοι ανέφεραν ότι ο άνθρωπος έχει 46 χρωμοσώματα, έχουν γίνει τεράστιες προσπάθειες να προσδιοριστούν γενωμικές ανακατατάξεις που συσχετίζονται με γενετικές ασθένειες (Edelmann L et al, 2009). Στον τομέα της κλινικής κυτταρογενετικής ξεκίνησαν οι πρώτες ανακαλύψεις των ολικών τρισωμιών με πολύ συγκεκριμένους φαινοτύπους, όπως η τρισωμία 21, η τρισωμία 13 και η τρισωμία 18 στο σύνδρομο Down, Patau και Edwards αντίστοιχα. Καθώς τεχνικές υψηλής ανάλυσης κατέστησαν διαθέσιμες, συμπεριλαμβανομένης την ευρέως χρησιμοποιούμενη χρώση Giemsa μετά από πέψη με θρυψίνη ή G-banding, αυξήθηκε σημαντικά η διάγνωση χρωμοσωμικών ανωμαλιών.

Ωστόσο η κλασική κυτταρογενετική ανάλυση δεν είναι σε θέση να εντοπίσει αξιόπιστα ανακατατάξεις (ελλείμματα ή διπλασιασμούς) γενομικών τμημάτων μικρότερων των 5 έως 10 μεγαβάσεων (Mb), ή τη χρωμοσωμική προέλευση των υπεράριθμων χρωμοσωμικών δεικτών (markers) ούτε τη θέση θραύσης των αναδιατάξεων. Έτσι με τον καθιερωμένο γενετικό έλεγχο με καρυότυπο στις μείζονες συγγενείς ανωμαλίες, οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες αποκαλύπτονται μόνο στο 0,5%, ενώ περισσότερα από το 75% των ατόμων με ΝΥ/ ΔΑΔ, παραμένουν ακαθόριστης αιτίας, και συνολικά παραμένουν αδιάγνωστοι πάνω από 25% των ασθενών με δυσμορφολογίες και ΝΥ (Flint J et al 2003).

Στις αρχές του 1990 η εισαγωγή μοριακών κυτταρογενετικών τεχνικών στα κλινικά εργαστήρια αποτέλεσε πολύ σημαντική πρόοδο στην δυνατότητα

ανίχνευσης γνωστών σήμερα συνδρόμων μικροελλειμάτων και στον προσδιορισμό χρωμοσωμικών ανακατατάξεων άγνωστης προέλευσης. Η τεχνική του φθορίζοντος *in situ* υβριδισμού (FISH), εφαρμόζεται σε μεσοφασικούς πυρήνες ή μεταφασικά χρωμοσώματα για υποτελομεριδιακές περιοχές ή ολόκληρα χρωμοσώματα. Ο έλεγχος γίνεται μόνο στοχευμένα καθώς προϋποθέτει την κλινική διάγνωση του τύπου και της γενωμικής θέσης της ανωμαλίας ή χρησιμοποιείται για την ανάλυση ενός περιορισμένου αριθμού χρωμοσωμικών τόπων ταυτόχρονα (διακριτική ευκρίνεια >20-100kb). Με ειδικούς φθορίζοντες ανιχνευτές που προσκολλώνται στις συμπληρωματικές αλληλουχίες του γονιδιώματος επιτρέποντας την ανίχνευση ειδικών συνδρόμων μικροελλειμάτων. Υπάρχουν διαθέσιμοι αρκετοί ανιχνευτές (probes) για FISH εφαρμογή για τα πλέον κοινά σύνδρομα και τονίζεται ότι αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται όταν ο φαινότυπος είναι ενδεικτικός για μία συγκεκριμένη ασθένεια.

Συνεπώς σε άτομα που δεν έχουν ένα συγκεκριμένο φαινότυπο η χρήση συγκεκριμένων ανιχνευτών FISH δεν είναι εφικτή. Η συνδυασμένη ανάλυση συμβατικού καρυοτύπου και FISH ή MLPA επιτρέπει την ανίχνευση χρωμοσωμικών ανωμαλιών περίπου στο 5-10% των ασθενών αυτών (Rooms L et al, 2005). Άλλες βασισμένες στη FISH τεχνολογία μέθοδοι, είναι ο φασματικός καρυότυπος (spectral karyotyping-SKY) και το multicolor FISH τεχνικές ιδιαίτερα χρήσιμες στον προσδιορισμό αγνώστων χρωμοσωμικών ανακατατάξεων που βασίζονται κυρίως στην αρχή της διαφοροποιημένης επισήμανσης κάθε χρωμοσώματος, χρησιμοποιώντας ένα μοναδικό συνδυασμό φθοριοχρωμάτων και είναι ιδιαίτερα ευεργετικές για τον εντοπισμό της προέλευσης και του περιεχομένου υπεράριθμων χρωμοσωμικών δεικτών (markers) και των χρωμοσωμικών ανακατατάξεων (CCRs) που περιλαμβάνουν περισσότερα από δύο χρωμοσώματα.

Προκειμένου να βελτιωθούν περαιτέρω οι διαγνωστικές γενετικές δοκιμασίες και να γεφυρωθεί το χάσμα μεταξύ της κυτταρογενετικής (κλασικός καρυότυπος) και της μοριακής γενετικής ανάλυσης έχει αναπτυχθεί τα

τελευταία χρόνια η τεχνολογία του Μοριακού Καρυοτύπου με Μικροσυστοιχίες Συγκριτικού Γενωμικού Υβριδισμού (array-CGH).

Η επιχειρηματολογία για την εισαγωγή των μικροσυστοιχειών συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού (array-CGH) στην κλινική πρακτική είναι ότι υπάρχει εμφανής αναγκαιότητα να βελτιωθεί το ποσοστό διάγνωσης γενετικών ανωμαλιών που οδηγούν σε φυσική και λειτουργική ανωμαλία. Έτσι στη σύγχρονη γενετική διαγνωστική η διερεύνηση ασθενών με κάθε είδους συγγενείς ανωμαλίες έχει πλέον επεκταθεί στη εφαρμογή αυτής της τεχνολογίας υψηλής ανάλυσης.

Με την εφαρμογή του Μοριακού Καρυοτύπου, ανιχνεύονται σε όλο το μήκος των χρωμοσωμάτων υπομικροσκοπικές μη ισοζυγισμένες χρωμοσωμικές αναδιατάξεις μεγέθους μερικών κιλοβάσεων (Kb) έως πολλών μεγαβάσεων (Mb), συμβάλλοντας καταλυτικά στη μείωση του ποσοστού περιπτώσεων ΝΥ και πολλαπλών συγγενών ανωμαλιών ή δυσμορφιών αγνώστου αιτιολογίας οι οποίες παρέμειναν αδιάγνωστες. Επιπροσθέτως, η ικανότητα των array-CGH να «ανακρίνουν» εκατοντάδες ή χιλιάδες διαφορετικούς γενετικούς τόπους συγχρόνως με μία μόνο εξέταση, έχει ισχυρά πλεονεκτήματα έναντι μιας ακόμα μοριακής τεχνικής, του φθορίζοντος *in situ* υβριδισμού (FISH), όπου ο έλεγχος γίνεται μόνο στοχευμένα ανάλογα με την κλινική διάγνωση συγκεκριμένου νοσήματος. Όσον αφορά ειδικότερα τα τελομερίδια, οι περισσότερες συστοιχίες array-CGH καλύπτουν μεγαλύτερα τμήματα τελομεριδίων σε σχέση με τους υπάρχοντες ανιχνευτές FISH και επομένως ταυτοποιούν περισσότερες ανακατατάξεις, ενώ συγχρόνως προσδιορίζεται το μέγεθός τους καθώς και η τυχόν συνύπαρξη ελλείμματος με διπλασιασμό στην ίδια περιοχή (de Vries 2005). Με τη νέα μεθοδολογία συγκρίνεται ο αριθμός αντιγράφων DNA (CNVs) ενός γονιδιώματος δείγματος αναφοράς (control) με εκείνο ενός ασθενούς, μέσω διαφορετικής σήμανσης του γενωμικού DNA με διαφορετικά φθοριοχρώματα. Τα ιχνηθετημένα δείγματα υβριδίζονται ανταγωνιστικά πάνω σε συστοιχία αλληλουχιών DNA, στέρεα ακινητοποιημένων σε γυάλινα πλακίδια- και όχι σε μεταφασικά χρωμοσώματα. Η τεχνική array CGH είναι καθαρά μοριακή, με

κυτταρογενετικές εφαρμογές και αντιπροσωπεύει μέθοδο υβριδική. Η αξιολόγηση και ερμηνεία των σημαντικών ευρημάτων που προκύπτουν από την ανάλυση στηρίζεται σε διεθνείς βάσεις δεδομένων

[Decipher (<http://www.sanger.ac.uk/PostGenomics/decipher/>),

Ecaruca (<http://www.ECARUCA.net>),

UCSC (<http://genome.ucsc.edu/>), Ensembl

(<http://www.ensembl.org>) και Database of Genomic Variants

(<http://projects.tcag.ca/variation>)] από όπου συγκεντρώνονται πληροφορίες

για το μέγεθος και τη θέση εντοπισμού της κάθε χρωμοσωμικής περιοχής, την ύπαρξη πολυμορφικών περιοχών, που είναι γνωστές ως CNPs (Copy Number Polymorphisms) αλλά και τα γονίδια τα οποία η χρωμοσωμική θέση περιέχει. Εντοπισμός των γονιδίων που βρίσκονται στις περιοχές που έχουν διαγραφεί ή διπλασιαστεί μπορεί να εξηγήσει τα χαρακτηριστικά του φαινοτύπου σύμφωνα πάντα με τη βιβλιογραφία και τις διεθνείς βάσεις δεδομένων. Έτσι, ο Μοριακός Καρυότυπος τείνει ραγδαία να αποτελέσει την πρώτη διαγνωστική βαθμίδα για τους ασθενείς με πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες ή/και ανεξήγητη καθυστέρηση ανάπτυξης/ Νοητική Υστέρηση και ΔΑΔ.

Μικροσυστοιχίες με κλώνους βακτηριακών τεχνητών χρωμοσωμάτων (BACs), τεχνητών χρωμοσωμάτων ζύμης (YACs) και cDNA κλώνους μεγέθους >1Mb χρησιμοποιήθηκαν ως ανιχνευτές, με επιτυχία στο πρόσφατο παρελθόν, αλλά με αρκετούς περιορισμούς (Miyake N et al, 2006, Liang JS et al, 2008). Οι BACs κλώνοι με τυπικό μέγεθος 75–200kb δεν είναι σε θέση να ταυτοποιήσουν με αξιοπιστία αλλαγές αριθμού αντιγράφων μικρότερες από 50-100kb. Οι BAC/YAC συστοιχίες με κλώνους 1Mb επιτρέπουν την ανίχνευση CNVs μεγέθους >1 Mb, παρέχουν κάλυψη κυρίως υποτελομεριδιακών περιοχών και δεν είναι σε θέση να ανιχνεύσουν ανωμαλίες μικρότερες από τον ένθετο κλώνο (Vissers LE et al, 2003).

Οι κλώνοι κοσμιδίων και φοσμιδίων έχουν μέγεθος ~40kb και επιτρέπουν ανίχνευση CNVs μεγέθους >20kb (Mao R et al, 2005). Οι cDNA κλώνοι είναι σε θέση να αυξήσουν την διακριτική ευκρίνεια στο επίπεδο ενός γονιδίου ή

μέρος αυτού και ακόμα μεγαλύτερη διακριτική ευκρίνεια μπορεί να επιτευχθεί με γενωμικά/ μη επαναλαμβανόμενη αλληλουχία PCR προϊόντα (Crotwell PL et al, 2012).

Οι πρόσφατες εξελίξεις στην τεχνολογία των array-CGH μικροσυστοιχιών, έχουν συμβάλλει στην εμφάνιση ενός νέου πρωτοποριακού τύπου μικροσυστοιχιών, που βασίζονται σε ανιχνευτές μονόκλωνων συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων (ssDNA) μεγέθους 25-85bp και ονομάζονται μικροσυστοιχίες ολιγονουκλεοτιδίων συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού (oligo array-CGH). Οι μέθοδοι κατασκευής oligo array-CGH μικροσυστοιχιών περιλαμβάνουν διάφορες inkjet και microjet ή spotting τεχνολογίες, *in situ* διαδικασίες ή/και on-chip φωτολιθογραφική σύνθεση ολιγονουκλεοτιδίων.

Συμπερασματικά η τεχνολογία των array-CGH επιτρέπει την ακριβή διάγνωση, τον χαρακτηρισμό των συνδρόμων, τη συσχέτιση γονότυπου με φαινότυπου, την πρόληψη, την πρόγνωση και την καλύτερη κλινική παρακολούθηση. Η τεχνολογία των array-CGH, εφαρμόζεται στη γενετική διάγνωση και έρευνα (Keren B et al, 2011). Στη γενετική διάγνωση αποτελεί ισχυρό μεθοδολογικό εργαλείο για τη μελέτη ασθενών με ΝΥ/ΑΚ αγνώστου αιτιολογίας με ή χωρίς διαταραχές φάσματος αυτισμού, πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες (ΠΣΑ), επιληψία/σπασμούς (Shaikh TH et al, 2007, Brady BD et al, 2012). Άλλες εφαρμογές του Μοριακού Καρυοτύπου περιλαμβάνουν τον προγεννητικό έλεγχο και τη διεύρυνση αιματολογικών κακοηθειών σε διαγνωστικό και προγνωστικό επίπεδο, παρέχοντας πιο ακριβή ταυτοποίηση σε μοριακό επίπεδο για τη φύση του όγκου σε σύγκριση με τις δυνατότητες της ιστολογικής εξέτασης. Οι ερευνητικές εφαρμογές των array-CGH μικροσυστοιχιών περιλαμβάνουν ταυτοποίηση νέων υποψήφιων γονιδίων για συγκεκριμένες διαταραχές, ανακάλυψη νέων γενετικών συνδρόμων και συσχέτιση γονότυπου-φαινοτύπου (Stankiewicz P et al, 2007; Keren B et al, 2011, Kang JU et al, 2012).

Αν και η τεχνολογία array-CGH έχει αρχίσει να εφαρμόζεται από αρκετά Κέντρα Γενετικής για τη διερεύνηση ασθενών με συγγενείς ανωμαλίες, αναπτυξιακή καθυστέρηση ή/ και μαθησιακές δυσκολίες, ο

σποραδικός χαρακτήρας και η σπανιότητα της πλειοψηφίας των συγγενών ανωμαλιών περιορίζει ακόμη την δυνατότητα ερμηνείας όλων των μοριακών ευρημάτων. Η διάγνωση ασθενών με την νεότερη και πλέον εξελιγμένη αυτή τεχνολογία έχει αρχίσει να πραγματοποιείται από 10ετίας αποκλειστικά όσον αφορά στον δημόσιο Ελληνικό χώρο, στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

1.10.1 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί της τεχνολογίας a-CGH

Η υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα με υψηλή απόδοση σε δυνατότητες αυτοματισμού, απλότητας, επαναληψιμότητας και ακριβή χαρτογράφηση των χρωμοσωμικών αναδιατάξεων είναι τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα της νέας τεχνολογίας. Συγκεκριμένα παρουσιάζει 10-1000 φορές μεγαλύτερη διακριτική ευκρίνεια από το συμβατικό καρυοτύπο και επιτρέπει σάρωση γενωμικών αλλαγών καθώς και ταυτοποίηση υπομικροσκοπικών δομικών ενδιάμεσων αναδιατάξεων μεγέθους >20Kb κατά μέσο όρο σε περιπτώσεις ιδιοπαθούς ΝΥ με ή χωρίς ΠΣΑ, ανάλογα με κλινικά κριτήρια επιλογής των ασθενών (Shaw-Smith C et al, 2004, Oikonomakis V et al, 2016). Επιπρόσθετα δεν είναι απαραίτητη η καλλιέργεια των κυττάρων με αποτέλεσμα ο χρόνος της διενέργειας της συγκεκριμένης εξέτασης να είναι σημαντικά μικρότερος από τις κλασικές κυτταρογενετικές μεθόδους ενώ δεν απαιτούνται για την εφαρμογή της μεθόδου διαιρούμενα κύτταρα και αυτό έχει πλεονέκτημα στην εφαρμογή της σε μελέτες με υλικό από βιοψία. Οι περισσότερες a-CGH πλατφόρμες απαιτούν μόλις λίγα μικρογραμμάρια γενωμικού DNA, επιτρέποντας ακόμη και την ενίσχυση ολόκληρου του γονιδιώματος, εάν απαιτείται (Ming JE et al, 2006). Σε ορισμένες περιπτώσεις αποκαλύπτονται κλινικά αναπάντεχες γενωμικές ανισσοροπίες, τονίζοντας τα πλεονεκτήματα της ολικής σάρωσης του γονιδιώματος συγκριτικά με τις στοχευμένες μεθόδους που μπορούν μόνο να αποκαλύψουν πληροφορίες για την περιοχή που ανακρίνεται. Αποδεδειγμένα η μεθοδολογία a-CGH

αποκαλύπτει χρωμοσωμικά μωσαικά εφόσον η πλατφόρμα διαθέτει και ολιγονουκλεοτίδια ανίχνευσης SNPs σε ποσοστό $\geq 20\%$ και επιπλέον είναι σε θέση να ανιχνεύσει και χρωμοσωμικές περιοχές απώλειας ετεροζυγωτίας (LOH)..

Όπως σε όλες τις τεχνικές, υπάρχουν και στην συγκεκριμένη ορισμένοι περιορισμοί όπως είναι η αδυναμία να ανιχνεύσει ποιοτικές αλλαγές, όπως είναι οι ισοζυγισμένες ανακατατάξεις δηλαδή οι χρωμοσωμικές μεταθέσεις και οι αναστροφές. Στους περιορισμούς πρέπει να αναφερθεί και το υψηλό κόστος της εξέτασης, το οποίο δεν επιτρέπει την εφαρμογή σε ευρεία κλίμακα καθώς και ότι κάποιες φορές ανιχνεύονται γενομικές ανακατατάξεις άγνωστης σημασίας με αποτέλεσμα δυσκολία στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Προβλήματα μπορεί να προκύψουν ενδεχομένως σε περιπτώσεις χαμηλού ποσοστού μωσαϊκισμού καθώς και στην ερμηνεία CNVs αγνώστου κλινικής σημασίας (Shinawi M et al 2008).

Οι τέσσερις κύριες εταιρίες εμπορικά διαθέσιμων μικροσυστοιχιών ολιγονουκλεοτιδίων υψηλής ευκρίνειας περιλαμβάνουν τις πλατφόρμες Affymetrix, Agilent, NimbleGen και Illumina (Shaikh TH, 2007)

Η ανάλυση με FISH, MLPA αποτελούν τις συνιστώμενες μοριακές μεθόδους για την επιβεβαίωση των θετικών array-CGH αποτελεσμάτων. Σε αρκετές περιπτώσεις FISH χρειάζεται να γίνει και στους γονείς του ασθενούς για την αποσαφήνιση της κλινικής ερμηνείας των ευρημάτων του Μοριακού Καρυότυπου, καθώς επιτρέπει τον εντοπισμό φορέων ισοζυγισμένων αναδιατάξεων.

1.10.2 Ποικιλομορφίες αριθμού αντιγράφων (CNVs)

Η τεχνική a-CGH έχει την ικανότητα να ανιχνεύσει υπομικροσκοπικές προσθήκες ή ελλείμματα του γονιδιώματος με πολύ υψηλή ευκρίνεια και εκτελείται για τον προσδιορισμό παθολογικών χρωμοσωμικών ανακατατάξεων ή ποικιλομορφιών αριθμού αντιγράφων (CNVs) που είναι

υπεύθυνα για τον κλινικό φαινότυπο. Στις περισσότερες περιπτώσεις η παθολογική αναδιάταξη προκύπτει *de novo* και αντιπροσωπεύει σποραδικές χρωμοσωμικές ανακατατάξεις που συμβαίνουν κατά την μείωση των γονεικών γαμετών. Ωστόσο CNVs έχουν περιγραφεί στην βιβλιογραφία ότι παρουσιάζονται σε φαινοτυπικά φυσιολογικά άτομα και σε μερικές περιπτώσεις συναντώνται σε υψηλή συχνότητα στον γενικό πληθυσμό. Το μέγεθός τους ποικίλει από 1kb έως πολλές Mb και παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία αριθμού αντιγράφων όταν συγκρίνονται με ένα γονιδίωμα αναφοράς περιλαμβάνοντας ελλείμματα και διπλασιασμούς της γενωμικής περιοχής. Αυτές οι δομικές ποικιλίες είναι συνήθως κληρονομούμενες και παρουσιάζονται στο 12% του γονιδιώματος (Edelmann L et al 2009). Το 40% των αναφερόμενων CNVs που κληρονομούνται βρίσκονται σε περιοχές που τα γονίδια είναι αραιά και τείνουν να εδράζονται εκτός των καλά συντηρημένων περιοχών του γονιδιώματος. Εκτιμάται ότι υπάρχουν χιλιάδες ποικιλομορφίες στο γονιδίωμα πολλές από τις οποίες είναι πολύ κοινές περιλαμβάνοντας ελλείμματα πολυμορφισμών σε ειδικά γονίδια που σχετίζονται με στεροειδή του φύλου, μεταβολισμούς των φαρμάκων και την όσφρηση, όπως και διπλασιασμοί που μπορεί να είναι πιο σπάνιοι ή να αποτελούν εθνικούς πολυμορφισμούς.

1.10.3. Agilent array-CGH μικροσυστοιχίες ολιγονουκλεοτιδίων

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή χρησιμοποιήθηκε η πρωτοποριακή τεχνολογία μικροσυστοιχιών της εταιρίας Agilent Technologies (Santa Clara, CA). Η εταιρία Agilent παρέχει μια ολοκληρωμένη πλατφόρμα για διάφορες array-CGH εφαρμογές με CGH ανιχνευτές και επιπλέον ανιχνευτές SNP ηλεκτρονικά διαθέσιμους στην ιστοσελίδα της διαδικτυακής πύλης Agilent eArray , η οποία επιπλέον επιτρέπει την *in silico* δημιουργία ειδικών μικροσυστοιχιών και ολιγο-βιβλιοθηκών. Η διαδικτυακή πύλη παρέχει ελεύθερη πρόσβαση σε όλους τους εξουσιοδοτημένους χρήστες και τη δυνατότητα σχεδιασμού μικροσυστοιχιών με συγκεκριμένες προδιαγραφές (τεχνολογία Agilent's SurePrint inkjet). Ένα σημαντικό πλεονέκτημα των

Agilent μικροσυστοιχιών είναι ότι το DNA των δειγμάτων ελέγχου και αναφοράς υφίστανται την ίδια μεταχείριση και υβριδίζονται πάνω στο ίδιο γυάλινο πλακάκι, ενώ στις εταιρίες Affymetrix και Illumina, οι εντάσεις των σημάτων του δείγματος ελέγχου συγκρίνονται με ένα ταυτοποιημένο δείγμα μάρτυρα, το οποίο αναλύεται προηγουμένως κάτω από διαφορετικές συνθήκες. Η εταιρία Agilent παρέχει βέλτιστα υπολογιστικά εργαλεία και ευέλικτους στατιστικούς αλγορίθμους, που επιτρέπουν την κανονικοποίηση των δεδομένων για τον έλεγχο και ελαχιστοποίηση του θορύβου, καθώς και τον περιορισμό των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων.

Ο κατάλογος της εταιρίας περιέχει μια σειρά από εμπορικά διαθέσιμες SurePrint G3 Human CGH μικροσυστοιχίες: 1x1M, 2x400K, 1x244K, 4x180K, 2x105K, 8x60K, 4x44K και 8X15K για διάφορες κλινικές εφαρμογές. Οι Agilent μικροσυστοιχίες συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων συνδυάζουν την κάλυψη τόσο στοχευμένων περιοχών όσο και ολόκληρου του γονιδιώματος σε περιοχές της ευχρωματίνης, που αντιπροσωπεύουν μοναδικές αλληλουχίες στο γονιδίωμα. Επιτρέπουν την ανίχνευση μικροελλειμμάτων, μικροδιπλασιασμών, ανευπλοειδίων, μη ισοζυγισμένων μεταθέσεων καθώς και υποτελομεριδιακών και περικεντρικών αλλαγών αριθμού αντιγράφων. Η επιλογή των ανιχνευτών είναι τέτοια, ώστε το 84% αυτών βρίσκεται σε περιοχές ανάμεσα σε γονίδια (intragenic) (περίπου 50% στα ιντρόνια και 50% στα εξώνια) και 16% σε intregenic περιοχές (Veltman JA et al, 2007). Για παράδειγμα, οι μικροσυστοιχίες 4x44K περιλαμβάνουν 44.290 ολιγονουκλεοτιδικούς ανιχνευτές (60-μερή), με έναν τουλάχιστον ανιχνευτή για καθένα από τα ~25.000 γονίδια και κάλυψη ολόκληρου του γονιδιώματος με μια μέση χωρική διακριτική ευκρίνεια της τάξης των 30-35kb. Οι μικροσυστοιχίες Agilent array-CGH μπορούν να εφαρμοστούν σε DNA που προέρχεται από ιστούς (φρέσκους ή μονιμοποιημένους), κυτταρικές σειρές, ολικό αίμα, αμνιοκύτταρα, βιοψία χοριακών λαχνών, καθώς και άλλα δύσκολα και απαιτητικά στο χειρισμό υλικά (Veltman JA et al, 2002 & 2006).

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B1. Σκοπός της παρούσας μελέτης

Η πολυπλοκότητα και πολυπαραγοντικότητα των συγγενών ανωμαλιών όπως διαπιστώνεται από σχετικές μελέτες, αποτελεί το κυριότερο εμπόδιο ως προς τη διερεύνηση του γενετικού υποστρώματος τους. Επειδή όμως οι συγγενείς ανωμαλίες συνθέτουν ένα περίπλοκο κοινωνικό και οικονομικό πρόβλημα για την οικογένεια καθώς και για την ιατρική κοινότητα, συνεχίζονται οι ερευνητικές προσπάθειες παγκοσμίως με στόχο να διευκρινισθεί το γενετικό υπόβαθρο ώστε να μπορεί να προσφερθεί κατάλληλη γενετική συμβουλευτική, ιδιαίτερα με την εντόπιση πιθανών μοριακών διαταραχών.

Η παρούσα μελέτη επιχειρήθηκε με σκοπό τη συγκέντρωση στοιχείων από πληθυσμό ασθενών με συγγενείς ανωμαλίες μετά από την ανάλυση του γονιδιώματος με την Μέθοδο Μικροσυστοιχιών Συγκριτικού Γονιδιωματικού Υβριδισμού / array-CGH. Τα συμπεράσματα αυτής της μελέτης αναμένεται ότι θα αποτελέσουν σημαντική εξέλιξη στις υπάρχουσες διαγνωστικές δυνατότητες για τους ασθενείς με συγγενείς ανωμαλίες. Ο καθορισμός υπομικροσκοπικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών με την τεχνολογία αυτή εκτιμάται ότι θα συμβάλλει στην εντόπιση περιπτώσεων υψηλού κινδύνου, ώστε να δοθεί γενετική καθοδήγηση για περαιτέρω διερεύνηση, όχι μόνο του πάσχοντος, αλλά και των υπολοίπων μελών της οικογένειας του, ενώ διανοίγονται νέες προοπτικές για την εκτίμηση της θεραπευτικής παρέμβασης και της κλινικής φροντίδας.

Ειδικότερα η κλινική χρησιμότητα της γενετικής διάγνωσης με την τεχνική των Μικροσυστοιχιών (microarrays) κρίνεται από τα οφέλη για τον ασθενή και την οικογένειά του. Επιτρέπει όχι μόνο την εντόπιση μικρών αλλά κλινικώς σημαντικών γονιδιακών ανωμαλιών, οι οποίες δεν ανιχνεύονται με τον

κλασικό καρυότυπο (βελτίωση του διαγνωστικού yield), αλλά και τον ακριβή καθορισμό των γονιδίων που περιέχονται στην γενετική περιοχή με το μικροέλλειμμα ή μικροδιπλασιασμό, εμπλουτίζοντας σημαντικά τις πληροφορίες για τη συσχέτιση γονοτύπου/ φαινοτύπου.

Συμπεράσματα από επιτροπές εμπειρογνομόνων και κλινικές κατευθυντήριες οδηγίες συμφωνούν ότι η γενετική πληροφορία είναι ανεκτίμητης σημασίας διότι καθιστά εφικτή την αιτιολογική ερμηνεία που είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στους ασθενείς με συγγενείς ανωμαλίες και έχει ως συνέπεια σημαντικά οφέλη τόσο για τον ασθενή και όσο και για την οικογένειά του.

Τα οφέλη της γενετικής διάγνωσης για τους ασθενείς με συγγενείς ανωμαλίες:

- α) Κατάλληλη ιατρική αντιμετώπιση και θεραπεία
- β) Προγραμματισμός προσυμπτωματικού ελέγχου συνοδών επιπλοκών
- γ) Αποφυγή επιπρόσθετων ειδικών κλινικοεργαστηριακών διαγνωστικών εξετάσεων και τερματισμός της διαγνωστικής «οδύσσειας»
- δ) Συσχέτιση γονοτύπου/ φαινοτύπου των πασχόντων παιδιών σε περιπτώσεις χωρίς προηγούμενο οικογενειακό ιστορικό (de novo) καθώς και μεταξύ γονέων- φορέων και πασχόντων παιδιών στις κληρονομικές περιπτώσεις
- ε) Καθορισμός της πρόγνωσης
- ζ) Κατάλληλες παραπομπές σε ιατρικές και κοινωνικές υπηρεσίες

Τα οφέλη της γενετικής διάγνωσης για τους γονείς των ασθενών με συγγενείς ανωμαλίες:

- α) Εξάλειψη της αβεβαιότητας, ενοχών και άγχους
- β) Καθορισμός της πρόγνωσης και σχεδιασμός θεραπευτικής προσέγγισης
- γ) Κατάλληλες παραπομπές σε ιατρικές και κοινωνικές υπηρεσίες
- δ) Παροχή γενετικής συμβουλευτικής
- ε) Διευκρίνιση του κινδύνου επανάληψης των κλινικών εκδηλώσεων σε επόμενα παιδιά της οικογένειας

στ) Πληροφόρηση σχετικά με δυνατότητες ανίχνευσης άλλων πασχόντων στην οικογένεια

ζ) Εξειδικευμένη και εκτεταμένη προγεννητική διάγνωση με array-CGH σε κυήσεις υψηλού κινδύνου λόγω της ύπαρξης επιβαρυμένου οικογενειακού ιστορικού (προηγούμενο παιδί με παθολογικό array-CGH)

Η παρούσα μελέτη αναμένεται ότι θα επιτρέψει στον Ελλαδικό χώρο την :

1. Καταγραφή της συχνότητας υπομικροσκοπικών διαταραχών σε άτομα με συγγενείς ανωμαλίες
2. Ομογενοποίηση των ευρημάτων σε κατηγορίες συγγενών ανωμαλιών που εμφανίζουν γνωστά ή νέα σύνδρομα, με την συσχέτιση πολυμορφισμών αριθμού αντιγράφων (CNVs) και την εκτίμηση του γονιδιακού περιεχομένου των CNVs- εντόπιση υποψηφίων γονιδίων συγγενών ανωμαλιών
3. Βελτίωση στις δυνατότητες πρόβλεψης για την πρόγνωση της κλινικής εικόνας μέσω των πληροφοριών που θα προκύψουν
4. Συγκέντρωση κλινικοεργαστηριακών πληροφοριών για τους γονείς και τα αδέρφια των ασθενών που έχουν τους ίδιους πολυμορφισμούς προκειμένου να εμπλουτιστούν περαιτέρω οι γνώσεις για την αξιολόγηση ακόμη και CNVs αβέβαιης σημασίας.

Τα αποτελέσματα της μοριακής ανάλυσης αναμένεται να προστεθούν σε εκείνα που προϋπάρχουν διεθνώς από μελέτες άλλων ερευνητικών κέντρων, συμβάλλοντας στην εμπλουτισμό της διαγνωστικής εμπειρίας και την συσχέτιση του γονοτύπου με τον φαινότυπο. Εξάλλου ο πρωτότυπος χαρακτήρας της προτεινόμενης μελέτης αποδεικνύεται από το τεράστιο ενδιαφέρον της διεθνούς επιστημονικής κοινότητας στο συγκεκριμένο θέμα και τις συνεχείς βιβλιογραφικές αναφορές για τη διερεύνηση της γενετικής βάσης των συγγενών ανωμαλιών αλλά και για την εφαρμογή των νέων μοριακών τεχνικών σε διαγνωστικό πεδίο σε άτομα με συγγενείς ανωμαλίες.

Με τον εντοπισμό υπομικροσκοπικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών συγκριτικά με συγκεκριμένες φαινοτυπικές εκδηλώσεις αναγνωρίζονται νέα σύνδρομα,

και καθορίζονται οι συχνότητες τους με αποτέλεσμα να διευκολύνεται η γενετική καθοδήγηση για περαιτέρω διερεύνηση, όχι μόνο στον πάσχοντα, αλλά και στα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας. Τέλος, με καινοτόμο αυτή τη γενετική ανάλυση του Μοριακού Καρυοτύπου αναμένεται ότι θα δημιουργηθούν νέες προοπτικές για την εκτίμηση της θεραπευτικής παρέμβασης και της κλινικής φροντίδας των ασθενών και των οικογενειών τους.

B2. Υλικό της μελέτης

Υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 197 ασθενείς με πολλαπλές ή μεμονωμένες συγγενείς ανωμαλίες. Όλοι οι ασθενείς που εξετάστηκαν από τους κλινικούς γενετιστές του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής, είχαν παραπεμφθεί από παιδιάτρους, νευρολόγους, αναπτυξιολόγους ή ιατρούς άλλων ειδικοτήτων όπως καρδιολόγους, νευροχειρουργούς, γυναικολόγους κ.α, λόγω μεμονωμένων ή πολλαπλών συγγενών ανωμαλιών με ή χωρίς δυσμορφίες/ ψυχοκινητική καθυστέρηση/ διαφορετικού βαθμού ΝΥ/ διαταραχών φάσματος αυτισμού/ επιληψίας/σπασμών. Όλοι οι ασθενείς είχαν προηγουμένως ελεγχθεί με συμβατικό καρυότυπο, ενώ πολλοί από αυτούς είχαν υποβληθεί επιπλέον σε μια σειρά από άλλους γενετικούς ελέγχους (όπως εύθραυστο Χ-FRAX, σύνδρομο RETT, PWS, AS, FISH ή μεταβολικό έλεγχο). Αποκλείστηκαν από τη μελέτη πάσχοντες που εκ του κλινικού και εργαστηριακού ελέγχου αποδείχθηκε ότι εμφανίζουν παθολογικό καρυότυπο ή γενετικό σύνδρομο γνωστής αιτιολογίας

Λεπτομερή αρχεία τηρήθηκαν για όλους τους ασθενείς που συμμετείχαν στην μελέτη κατόπιν εξέτασης στα Ιατρεία Κλινικής Γενετικής του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής από κλινικό γενετιστή, όπου εκτός από το είδος των συγγενών ανωμαλιών συμπληρώθηκαν τα εξής στοιχεία: οι δημογραφικές πληροφορίες, το οικογενειακό και το ατομικό ιστορικό, το λεπτομερές προγεννητικό ιστορικό (ενδομήτρια καθυστέρηση, έκθεση σε επιβλαβείς παράγοντες), τα αποτελέσματα προηγούμενου

κλινικοεργαστηριακού ελέγχου, τα στάδια της ψυχοκινητικής ανάπτυξης και ο βαθμός της νοητικής εξέλιξης.

Κατά περίπτωση και εφόσον υπήρχαν ενδείξεις οι ασθενείς υποβάλλονταν σε περαιτέρω κλινικοεργαστηριακό έλεγχο:

1. Καρυότυπος
2. Υπερηχογράφημα καρδιάς, άνω-κάτω κοιλίας, νεφρών-ουρητήρων-κύστεως
3. Νευροαπεικόνιση [αξονικός CT-scan έλεγχος ή μαγνητικός συντονισμός (MRI) εγκεφάλου], όπως σε άτομα με ψυχοκινητική καθυστέρηση/NY, παλινδρόμηση ομιλίας/ μικροκεφαλία/μακροκεφαλία/ ιστορικό σπασμών/ ή υποψία υποκλινικής επιληψίας
4. Ακτινολογικός έλεγχος σκελετού σε άτομα με κοντό ανάστημα ή/και σκελετικές ανωμαλίες
5. Οφθαλμολογικός και ακουσολογικός έλεγχος
6. Μεταβολικός έλεγχος για εξέταση βιοχημικών, ορολογικών και ενζυμικών δεικτών
7. Μοριακός Καρυότυπος (array-CGH)

Μετά την ολοκλήρωση του γενετικού ελέγχου, οι ασθενείς επανεξετάζονταν στα ιατρεία Κλινικής Γενετικής του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής και ενημερώνετο ο ατομικός τους φάκελος.

Στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής δημιουργήθηκε βάση δεδομένων (εσωτερικός διαδικτυακός τόπος) όπου αποθηκεύθηκαν όλα τα κλινικοεργαστηριακά στοιχεία των ασθενών καθώς και τα αποτελέσματα του γενετικού ελέγχου.

Για κάθε ασθενή ήταν απαραίτητη η έγγραφη συγκατάθεση των γονέων μετά από ενημέρωσή τους και η εξουσιοδότησή τους για τη μελέτη του γενετικού υλικού (DNA) του παιδιού με σκοπό την πιθανή ανεύρεση της γενετικής αιτιολογίας των πολλαπλών συγγενών ανωμαλιών.

Σε υγιείς ή/ και πάσχοντες γονείς, ή άλλοι πρώτου βαθμού συγγενείς, προτάθηκε ο έλεγχος μόνο εφόσον ο Μοριακός Καρυότυπος του πάσχοντος είχε αναδείξει χρωμοσωμικές ανωμαλίες, με σκοπό να προσδιοριστεί ο

τρόπος κληρονόμησης (de novo ή κληρονομούμενα από τους γονείς) και να επιτραπεί η κατάλληλη γενετική συμβουλευτική στην οικογένεια στην περίπτωση επόμενης εγκυμοσύνης. Ωστόσο αυτό τις περισσότερες φορές δεν κατέστη δυνατό εξαιτίας άρνησης των γονέων είτε για οικονομικούς είτε για προσωπικούς λόγους. Η οικογένεια βεβαιώνεται εγγράφως ότι το γενετικό υλικό του ασθενούς θα φυλάσσεται στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του ΕΚΠΑ και θα χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά για τη συγκεκριμένη μελέτη και μόνο.

B3. Μεθοδολογία Μικροσυστοιχιών Συγκριτικού Γενωμικού Υβριδισμού (array-CGH)

Οι Agilent DNA συστοιχίες είναι μικροσυστοιχίες συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού με απόσταση παρακείμενων ανιχνευτών από 43Kb για τις λιγότερο υψηλής ευκρίνειας έως 2.1Kb για τις υψηλής ευκρίνειας μικροσυστοιχίες. Παρέχουν κάλυψη των κωδικοποιουσών (~7.4Kb απόσταση παρακείμενων ανιχνευτών) και μη κωδικοποιουσών περιοχών του γονιδιώματος (16.5Kb απόσταση παρακείμενων ανιχνευτών) [gene oriented arrangement]. Οι υψηλής ευκρίνειας μικροσυστοιχίες έχουν την δυνατότητα κάλυψης του ~99% των γονιδίων ≥ 3 ανιχνευτές. Οι συστοιχίες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν υψηλής ευκρίνειας 1X244K (>236.000 ανιχνευτές με μέση διακριτική ικανότητα 8.9Kb) και 4X180K (>170.000 ανιχνευτές με μέση διακριτική ικανότητα 13 Kb). Η μεθοδολογία της τεχνικής array CGH που ακολουθήθηκε έχει περιγραφεί αναλυτικά σε αρκετές δημοσιεύσεις του Εργαστηρίου και αναφέρεται συνοπτικά παρακάτω.

3.1 Απομόνωση του γενωμικού DNA

Το πρώτο στάδιο αφορούσε την απομόνωση των λευκοκυττάρων από το ολικό περιφερικό αίμα κάθε ασθενούς αφού συλλέχτηκαν σε φιαλίδια όγκου 3mL με EDTA²⁰ ως αντιπηκτικό. Στη συνέχεια έγινε εκχύλιση του γενωμικού DNA με το πλήρως αυτοματοποιημένο ρομποτικό σύστημα απομόνωσης της εταιρίας QIAGEN με χρήση τεχνολογίας μαγνητικών σφαιριδίων (QIAGEN BioROBOT M48, Qiagen, Hilden, Germany). Το γενωμικό DNA φυλάσσεται στους 4°C, ενώ στους -80°C φυλάχθηκαν τα λευκοκύτταρα από κάθε δείγμα για ενδεχόμενη μελλοντική χρήση.

3.2 Φωτομέτρηση του γενωμικού DNA

Στη συνέχεια έγινε έλεγχος της καθαρότητας και μέτρησης της συγκέντρωσης DNA χρησιμοποιώντας σπεκτροφωτόμετρο Nano Drop ND-1000 UV-Vis, υπολογίζοντας τον λόγο A260/280 και A260/230.

3.3 Ενζυμική πέψη γενωμικού DNA

Το επόμενο βήμα είναι η πέψη του γενωμικού DNA του ασθενούς και DNA με δύο ενδονουκλεάσες (AluI και RsaI).

3.4 Ενζυμική Φθορίζουσα Σήμανση γενωμικού DNA

Μετά τη πέψη, το DNA του ασθενούς και το DNA αναφοράς σημαίνονται με φθορίζουσες χρωστικές Cy3 και Cy5 αντίστοιχα.

Ακολουθείται η επώαση στους 37°C για 2 ώρες και στους 65°C για 10 λεπτά με σκοπό την απενεργοποίηση του ενζύμου.

3.5 Προετοιμασία-διαδικασία υβριδισμού

Το επόμενο στάδιο περιλαμβάνει την προετοιμασία του μίγματος υβριδοποίησης και φυγοκέντρηση για 1 λεπτό στις 17.900xg για την απομάκρυνση πιθανών φυσαλίδων. Στη συνέχεια το ιχνηθετημένο αναμιγμένο γενωμικό DNA υβριδοποιείται στις μικροσυστοιχίες, οι οποίες περιέχουν 60μερή ολιγονουκλεοτίδια.

3.6 Πλύσεις array-CGH μικροσυστοιχιών

Μετά την ολοκλήρωση του υβριδισμού, γίνονται πλύσεις ώστε να απομακρυνθεί το μη υβριδοποιημένο υλικό.

3.7 Σάρωση μικροσυστοιχιών με υψηλής ευκρίνειας array-CGH Agilent DNA Microarray SureScan σαρωτή

Οι μικροσυστοιχίες τοποθετούνται αρχικά σε ειδικές θήκες και κατόπιν στο περιστροφικό εξάρτημα Carousel του Agilent σαρωτή και η σάρωση γίνεται με τη βοήθεια του λογισμικού Feature Extraction (Agilent). Το λογισμικό Feature Extraction επεξεργάζεται με έναν αυτοματοποιημένο τρόπο, εντοπίζει και τοποθετεί τα πλέγματα (grids), ενώ καθορίζει επακριβώς την πυκνότητα των ανιχνευτών και τις αναλογίες της έντασής τους δημιουργώντας τελικά μια εικόνα tiff.

3.8 Ανάλυση array-CGH δεδομένων

Την σάρωση των array-CGH μικροσυστοιχειών ακολούθησε η επεξεργασία της εικόνας tiff, η κανονικοποίηση των δεδομένων για τη βελτίωση της ευαισθησίας ανίχνευσης του αριθμού αλλαγών αντιγράφων, η οπτικοποίηση της φθορίζουσας πληροφορίας και η ανάλυση των ψηφιοποιημένων δεδομένων προκειμένου να γίνει η ανάλυση των array-CGH δεδομένων με το λογισμικό πρόγραμμα CGH Analytics ή με την πιο πρόσφατη έκδοση των Cytogenomics. Για να γίνει αποδεκτή μια χρωμοσωμική αναδιάταξη, ο ελάχιστος αριθμός των ανιχνευτών, που περιλαμβάνεται σε μια περιοχή έλλειψης ή διπλασιασμού, ορίστηκε στα 4 ολιγονουκλεοτίδια. Οι αρνητικές τιμές των $\log_2\text{ratio}$ σχετίζονται με ελλείμματα (κατώφλι <-0.35), ενώ θετικές τιμές (κατώφλι $>+0.35$) σχετίζονται με διπλασιασμούς/τριπλασιασμούς. Για την οπτικοποίηση και ανάλυση των δεδομένων, έγινε εξαγωγή των txt αρχείων. Για την ανάλυση των οπτικοποιημένων αποτελεσμάτων, οι εικόνες με τις χρωμοσωμικές αναδιατάξεις, ενώ οι πληροφορίες για τις συντενταγμένες και τα ονόματα των ανιχνευτών στις περιοχές διπλασιασμών και ελλείψεων, τις θέσεις τους πάνω στο χρωμόσωμα, καθώς και τα υπεύθυνα γονίδια καταχωρήθηκαν σε αρχείο τύπου .xls.

Ο τελικός καθορισμός των σημαντικών ευρημάτων στηρίζεται στις εξής βάσεις δεδομένων:

Decipher (<http://www.sanger.ac.uk/PostGenomics/decipher/>),

Ecaruca (<http://www.ECARUCA.net>), UCSC (<http://genome.ucsc.edu/>), Ensembl (<http://www.ensembl.org>), και Database of Genomic Variants (<http://projects.tcag.ca/variation/>). Γίνεται σύγκριση των ευρημάτων με υπάρχουσες βιβλιογραφικές αναφορές για καταγεγραμμένα γενετικά σύνδρομα. Από τις βάσεις δεδομένων συγκεντρώνονται και πληροφορίες για το μέγεθος και τη θέση εντοπισμού της κάθε χρωμοσωμικής περιοχής, τα γονίδια που περιέχει αλλά και την ύπαρξη πολυμορφικών περιοχών, γνωστές ως CNPs (Copy Number Polymorphisms).

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στα πλαίσια της εκπόνησης της παρούσης διδακτορικής διατριβής για τον εντοπισμό Copy Number Variations (CNVs) χρησιμοποιήθηκαν οι υψηλής διακριτικής ικανότητας μικροσυστοιχίες σε 197 ασθενείς με συγγενείς ανωμαλίες, με /ή χωρίς ΝΥ/ΔΑΦ (92 άρρενα, 105 θήλεα), ηλικίας από 1 ημερών έως 35 ετών.

Η εξέταση array-CGH έδειξε φυσιολογικά αποτελέσματα σε 75 ασθενείς, CNVs που δεν σχετίζονται με συγγενείς ανωμαλίες σε 41 ασθενείς και παθολογικά CNVs που σχετίζονται με συγγενείς ανωμαλίες σε 81 ασθενείς (41%), χωρίς να ληφθούν υπόψη οι πολυμορφικές αλληλουχίες Copy Number Polymorphisms (CNP). Από τους 81 ασθενείς με παθολογικά CNVs συγγενείς ανωμαλίες χωρίς άλλα ευρήματα είχαν 20/81, συγγενείς ανωμαλίες με ΝΥ είχαν 57/81 και συγγενείς ανωμαλίες με ΝΥ και ΔΑΦ είχαν 4/81.

Η πλειοψηφία των 133 CNVs που εντοπίστηκαν συνολικά στους 81 ασθενείς ήταν μικροελλείμματα (89/133) με συχνότητα 67%, ενώ οι μικροδιπλασιασμοί ήταν σπανιότεροι (44/133) με συχνότητα 33%. Σε 47 ασθενείς με συγγενείς ανωμαλίες ο παθολογικός φαινότυπος συνδέεται με 1 CNV, σε 21 ασθενείς με 2 CNVs, ενώ σε 13 ασθενείς με 3 ή περισσότερα CNVs. Το μέγεθος των CNVs που εντοπίστηκε ποικίλλει από 8 Kb έως 22,5 Mb. Γνωστά σύνδρομα μικροελλειμμάτων και μικροδιπλασιασμών που έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία σε άτομα με ίδιο ή παρόμοιο κλινικό φαινότυπο εντοπίστηκαν σε συνολικά 62/81 ασθενείς.

Στις περιπτώσεις που οι χρωμοσωμικές ανακατατάξεις ήταν αγνώστου κλινικής σημασίας, προτάθηκε η εξέταση των γονεικών δειγμάτων ώστε να

διαπιστωθεί εάν ένας από τους δύο γονείς έφερε την συγκεκριμένη αναδιάταξη. Στις περιπτώσεις που διαπιστώθηκε πολυμορφική περιοχή δεν ζητήθηκε έλεγχος των γονεϊκών δειγμάτων.

Συγκεκριμένα σε 19/81 περιπτώσεις έγινε έλεγχος και των γονεϊκών δειγμάτων DNA με μικροσυστοιχίες ίδιας διακριτικής ευκρίνειας για τον προσδιορισμό του τρόπου κληρονόμησης και την αξιολόγηση των μη κλινικής σημασίας πολυμορφικών CNPs και διαπιστώθηκαν 4 CNVs μητρικής προέλευσης, 4 CNVs πατρικής προέλευσης και 1 CNV τόσο μητρικής όσο και πατρικής προέλευσης.

Αναλυτικά τα παθολογικά αποτελέσματα του μοριακού καρυοτύπου για τους 81 ασθενείς με πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες συνοψίζονται στους **πίνακες 4 και 5:**

Πίνακας 4: Ασθενείς με πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες και ένα παθολογικό CNV.

Ασθενής (n)	Φύλο/ ηλικία	Συγγενείς ανωμαλίες	Άλλα ευρήματα	Αποτελέσματα array-CGH	Γνωστό σύνδρομο	Σημαντικά γονίδια
1.	άρρεν/ 8 ετών	υπερωισχιστία, στένωση πνευμονικής, συστροφή εντέρου, κρυψορχία, ραιβοιποποδία, αρθρογρύπωση	καθυστερημένη μυελίνωση διεύρυνση υπαραχνοειδούς χώρου επιληψία	DEL 5q23.3-31.1 (11Mb) de novo	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 5q	<i>ALDH7A1, ACSL6, UBE2B, LMNB1, SAR1B, SLC22A5, FBN2</i>
2.	άρρεν/ 2 ετών	υποπλασία μεσολοβίου, υπερτελορισμός, προωτιαία επάρματα, χαμηλή πρόσφυση ώτων, μεγάλο φίλτρο, λεπτά χείλη, ανοιχτός βοτάλειος πόρος, κρυψορχία, κλινοδακτυλία 5 ^{ου} δακτύλου	NY, μικρό πέος	DEL 10q26.11-q26.3 (14.56 Mb)	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 10q	<i>FGFR2, ADAM8, TUBGCP2, PLEKHA1, HTRA1, DMBT1, ACADSB, HMX3, HMX2, UROS</i>

3.	θήλυ/ 7μηνών	υπερτελορισμός, καθίζηση ρινός, αποστρογγυλωμένο ακρορίνιο, χαμηλή πρόσφυση ώτων, υπερώιο- χείλεο σχιστία, ΚΟΠ	ΨΚΚ, σπασμοί, καθυστερημένη μυελίνωση, ΓΟΠ	DEL 4p16.3-p16.1 (7.39 Mb)	Σύνδρομο Wolf- Hirschhorn	<i>PDE6B, IDUA, RNF212, FGFR3, WHSC1</i>
4.	άρρεν/ 8ετών	μικροκεφαλία	ΨΚΚ, υποθυρεοειδισμός, εγκεφαλική παράλυση- ατροφία, διατραχή βάδισης, τρανσαμινασαιμία, ιστολογικές αλλοιώσεις μυός τύπου δυστροφιοπάθειας Becker	DUP Xp21 (571,45Kb)	Μυική δυστροφία Duchene/ Becker	<i>DMD</i>
5.	άρρεν/ 2,5 ετών	στραβισμός, μυωπία, μονήρης χειρομαντική γραμμή	ΨΚΚ, υποτονία, εγκεφαλική παράλυση	Dup Xp22.31 (320 Kb)	Σύνδρομο FG	<i>VCX3A, VCX2</i>
6.	άρρεν/ 2ετών	κρυψορχία	όγκος Wilms, ΨΚΚ, νυσταγμός	DEL 11p14.1-p13 (2.37Mb)	Σύνδρομο WAGR	<i>FSHB, WT1, PAX6</i>
7.	άρρεν/	πλαγιοκεφαλία,		DEL 11p15.1-p12	Σύνδρομο	<i>WT1</i>

	3 μηνών	νυσταγμός, ανιριδία, λευκοκορία, καταρράκτης, γλαύκωμα, μεσκολπική επικοινωνία, υποσπαδίας		(16.8Mb)	WAGR	
8.	θήλυ/ 15 ετών	προέχον μέτωπο, στραβισμός, υπερτελορισμός, καθίζηση βάσης ρινός, αποστρωγγωμένο ακρορίνιο, μακρύ φίλτρο, θολωτή υπερώα, ανωμαλίες οδόντων, μικροοδοντία, συνδακτυλία, υποπλαστικά μικρά νύχια	ΨΚΚ, οστική ατροφία, διάταση κοιλίων, περικοιλιακή λευκομαλακία	DEL 7q11.23 (29 Kb)	Σύνδρομο Williams	ELN
9.	θήλυ/ 16 μηνών	πλαγιοκεφαλία, επιτέδωση ινίου, τριγωνικό προσωπείο, στενό	ΨΚΚ, σπασμοί, υποτονία, υποθυρεοειδισμός, ΓΟΠ	DEL 7q11.23 (1.9Mb)	Σύνδρομο Williams	FKBP6,ELN, LIMK1,FZD9, BAZ1B, BCL7B, TBL2,STX1A, CLDN3, CLDN4, LAT2,RFC2, GTF2IRD1, GTF2I, NCF1

		μέτωπο με προπέτεια, λοξές προς τα άνω βλεφαρικές σχισμές, υπερτελορισμός, μικροπισθογναθία, εντύπωμα κάτω γνάθου, χαμηλή πρόσφυση αυχένα, στένωση πνευμονικής				
10.	θήλυ/ 1 έτους	μεγάλο προέχον μέτωπο, στενές βλεφαρικές σχισμές, στραβισμός, καθίζηση ρίζας ρινός, αποστρογγυλομένο ακρορίνιο, τοξωτό άνω χείλος, μικρογναθία, θολωτή υπερώα	ΨΚΚ, νυσταγμός, αναπτυξιακή καθυστέρηση, λεπτά μαλλιά, καθυστερημένη ανατολή οδόντων, υποχρωματικές περιοχές γónατος/ επιγαστρίου	DEL 4q12-q21.1 (22.5 Mb)	Σύνδρομο ελλείμματος 4q12q21	<i>EPHA5, SLC4A4, CHIC2, RASSF6, ADAMTS3, CDKL, PDGFRA, CENPC1, COX18 KIT, KDR, EREG, ENAM, AMBN, IL8, EXOC1, TGB1, KDR</i>
11.	θήλυ/ 1 έτους	μεγάλη πρόσθια πηγή, βλεφαρόπτωση, επίκανθος, μικροφθαλμία,	ΨΚΚ, υποτονία κορμού, υπερτονία άκρων	DEL 3p26.3-p25.3 (11.3Mb)	Σύνδρομο μικρό- ελλείμματος 3p26.3-p25.3	<i>CNTN4, IL5RAM, L1CAM, CRBN, SUMF, GRM7, ATP2B2, CAV3, SRGAP3, SLC6A11, CAMK1, MTMR14, OGG1, VHL, FANCD2, CRELD1, ITPR1</i>

		καθίζηση ρίζας ρινός, χαμηλή πρόσφυση ώτων, θολωτή υπερώα, εφύπνευση δακτύλων, μεσοκολπική επικοινωνία				
12.	θήλυ/ 3 ετών	μικροκεφαλία, τριγωνοκεφαλία, χαμηλή πρόσφυση τριχωτού αυχένος, στενές βλεφαρικές σχισμές, αμφιβληστροειδοπά θεια υποπλαστικό λοβίο ωτός με προέχουσα ανθέλικα, μικροπισθογναθία	ΨΚΚ, στερεοτυπίες, άναρθρες κραυγές, σπασμοί, υπερτονία, αναπτυξιακή καθυστέρηση, υπο- θυρεοειδισμός	DEL 3p25.3 (1.9Mb)	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 3p	MTMR14,OGG1, CAMK1,TADA3L, ARPC4,CIDEC, IL17RC,CRELD1, FANCD2,C3orf10, VHL,IRAK2,GHRL,SEC13, ATP2B2,SLC6A11, SLC6A1,HRH1,ATG7
13.	άρρεν/ 1 έτους	μεγάλο προέχον μέτωπο, μικρή μύτη, αποστρογγυλομένο ακρορίνιο, μακρύ φίλτρο, τοξωτό άνω χειλος, θολωτή	ΨΚΚ, σπασμοί, υπο- θυρεοειδισμός	DEL 22q11.21 (2.793Mb)	Σύνδρομο DiGeorge/ Velocardiofaci al syndrome	PEX26,TUBA8, USP18, DGCR6, PRODH, DGCR14, SLC25A1, CLTC1L, HIRA,CDC45L, CLDN, GP1BB, TBX1,TXNRD2, COMPT,ARVCF, ZDHHHC8, RTN4R, ZNF74, SERPIND1, SNAP29,CRKL, LZTR1, SLC74A, GGT2,SDF2L1, PPIL2,YPEL1,

		υπερώα, ανοιχτό στόμα, μικρογναθία, μεσοκολπική επικοινωνία, μεσοκοιλιακή επικοινωνία, ανοιχτό ωοειδές, κρυψορχία, κάμπτοδοακτυλία				MAPK1, TOP3B
14.	θήλυ/ 5 μηνών	μικροκεφαλία, μικροφθαλμία, ενόφθαλμος, επίκανθος, καταρράκτης, λοξή φορά βλεφαρικών σχισμών, χαμηλή πρόσφυση ωτών, καθίζηση ρίζας ρινός, θολωτή υπερώα, μικροστομία, τριγωνικό άνω χείλος, γλωσσόπτωση, μεσοκολπική επικοινωνία, ραιβοιποποδία	ΨΚΚ, υπο-θυρεοειδισμός, ανοσοανεπάρκεια, βραχυσωμία	DEL 22q11.21 (2.5Mb)	Σύνδρομο μικρό- ελλείμματος DiGeorge	COMT,DGCR8, PRODH,DGCR5, DGCR9, DGCR10, DGCR2, DGCR11, DGCR14, TSSK2, GSC2, SLC25A1, CLTCL1, HIRA, MRPL40, C22orf39, UFD1L, CDC45L, CLDN5, SEPT5, GP1BB, TBX1, GNB1L, C22orf29, TXNRD2, ARVCF, C22orf25, TRMT2A, RANBP1, ZDHHC8, RTN4R, DGCR6L, RIMBP3, ZNF74, SCARF2, KLHL22, MED15, POM121L4P, TMEM191A, PI4KA, SERPIND1, SNAP29, CRKL, AIFM3, LZTR1, THAP7, FLJ39582, MGC16703, P2RX6, SLC7A4

15.	θήλυ/ 3 ετών	μογγολοειδής φορά βλεφαρικών σχισμών, μπλε σκληροί, μικρά μάτια, χαμηλή πρόσφυση ωτών στένωση δεξιάς ρινικής χοάνης καθίζηση ρίζας ρινός, θολωτή υπερώα, λεπτά χείλη, μικροστομία μεσοκοιλιακή επικοινωνία, συγγενές εξάρθρημα ισχίου	βραχυσωμία, ανεπάρκεια GH	Del 22q11.21-q11.23 (1.86Mb)	Σύνδρομο μικρό- ελλείμματος distal DiGeorge	<i>HIC2P14, KAP2, RIMBP3B, RIMBP3C, UBE2L3, YDJC, CCDC116, SDF2L1, PPIL2, YPEL1, MAPK1, PPM1F, TOP3B, VPREB1, LOC96610, ZNF280B, ZNF280A, PRAME, LOC648691, POM121L1P, GGTLC2, RTDR1, GNAZ, RAB36, BCR</i>
16.	θήλυ/ 13 μηνών	στενές βλεφαρικές σχισμές, επίκανθος, προέχοντα ώτα με ανώμαλη ελίκωση, μικρό φίλτρο, μικροστομία, μικρογναθία, λεπτό άνω χείλος, τυφλό βοθρίο ιεροκοκκυγικής	υπασβεσταιμία	DEL 22q11.21 (2.52Mb)	Σύνδρομο Di George	<i>DGCR6, PRODH, DGCR5, DGCR9, DGCR10, DGCR2, DGCR11, DGCR14, TSSK2, GSC2, SLC25A1, CLTCL1, HIRA, MRPL40, C22orf39UFD1L, CDC45L, CLDN5, LOC150185, SEPT5, GP1BB, TBX1, GNB1L, C22orf29, TXNRD2, COMT, ARVCF, C22orf25, DGCR8, TRMT2A, RANBP1, ZDHHHC8, LOC150197, RTN4R,</i>

		χώρας				<i>DGCR6L,PI4KAP1,RIMBP3, ZNF74, SCARF2,KLHL22, MED15,POM121L4Plvnt, MEM191A,PI4KA SERPIND1, P2RX6,SLC7A4, SNAP29,CRKL, AIFM3, LZTR1, THAP7,FLJ39582,MGC16703, P2RX6P,LOC400891,MIR185, MIR1306</i>
17.	άρρεν/ 7 ετών	προβολή μετωπιαίας ραφής/ κρανιοσυνοστέωση, καθίζηση ρίζας ρινός, ανεσταμμένα πτερύγια, χαμηλή πρόσφυση ωτών υποπλασία ζυγωματικών, θολωτή υπερώα, ανωμαλίες οδόντων, συνδακτυλία	ΨΚΚ, σπασμοί, δυσχέρεια βάδισης	DEL 5q33.1 (366 Kb)	Σύνδρομο Treacher- Collins	<i>TCOF,CD74, RPS14, NDST1, MYOZ3, RBM22, DCTN4</i>
18.	θήλυ/ 2 μηνών	κολοβώματα ίριδας & αμφιβληστροειδούς αντιμογγολοειδής φορά βλεφάρων,πρωτιαί α συρίγγια-εκφύσεις,	τεράτωμα τραχήλου	DUP 22q11.1- q11.21 (1.6Mb)	Σύνδρομο Cat- eye	<i>XKR, GAB4,CCR1</i>

		μικροπισθογναθία, αβαθές φίλτρο, οριζόντιο εντύπωμα κάτω γνάθου				
19.	θήλυ/ 2ετών	μεσαία αναλαμπή, προέχοντα ζυγωματικά, μεγάλα αφεστώτα ώτα, ανώμαλη ελίκωση, παχύ κάτω χείλος, θολωτή υπερώα	ΨΚΚ, σπασμοί, υποτονία κορμού, υπερτονία άκρων	DEL 16q24.2- 24.3 (3Mb)	Σύνδρομο μικρό- ελλείμματος 16q	ANKRD1, ZNF778, CDH15
20.	θήλυ/ 2 ετών	μικροκεφαλία, επίκανθος, μικρή μύτη, καθίζηση ρίζας ρινός ανεστραμμένα πτερύγια, αναδίπλωση έλικας ώτων, υπερωιοσχιστία, μικρό χείλος, μικρογναθία, κάμπροδακτυλία	ΨΚΚ, Χαμηλό βάρος σώματος, υποτονία	DEL 6q21- q22.1 (2.03 Mb) De novo	Σύνδρομο μικρο- ελλείμματος 16q21-q22.1	CDH5,BEAN, TK2, CKLF, CMTM1, CMTM3,CMTM4, DYNC1LI2,CCDC79 AE1,CA7, PDP2, CDH16, RRAD, FAM96B,CES2, CES3, CES8, CBFb, C16orf70,B3GNT9, TRADD, FBXL8, HSF4, NOL3, KIAA0895L, EXOC3L,E2F4, ELMO3,LRRC29, TMEM208, FHOD1,SLC9A5, PLEKHG4,KCTD19,LRRC36, TPPP3,ZDHHHC1, HSD11B2,ATP6V0D1,AGRP,FAM65A, CTCF,RLTPR,ACD,PARD6A,C16orf48,C16orf 86,GFOD2, RANBP10,TSNAXIP1,CENPT,THAP11, NUTF2,EDC4,NRN1L,PSKH1,CTRL,PSMB10, LCAT,SLC12A4,DPEP3,

						<i>DPEP2, DDX28, DUS2L, NFATC3, hsa-mir328-</i>
21.	άρρεν/ 13 μηνών	ιδιάζον τριγωνικό προσωπείο, ευρύ μέτωπο, χαμηλά/ αφεστώτα ώτα με ανώμαλη ελίκωση, στενή/τριγωνική κάτω γνάθος, μικρογναθία, μικροστομία, βραχύς αυχένας, μεσοκοιλιακή επικοινωνία, στένωση αορτής,	ΨΚΚ	DEL 6p24.1-p22.3 (6.64Mb)	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 6p	<i>HIVEP1, EDN1, PHACTR1T, BC1D7, GFOD1, C6orf114,SIRT5, NOL7,RANBP9, CCDC90A,RNF18,CD83,JARID2, DTNBP1,MYLIP,GMPR,ATXN1, RBM24,CAP2,FAM8A1,NUP153, KIF13A,NHLRC1,TPMT,AOF1, DEK,RNF144B,hsa-mir-548a-1</i>
22.	άρρεν/ 10 ετών	μογγολοειδής φορά βλεφαρικών σχισμών, στενές μεσοβλεφάριες σχισμές, υπερτελορισμός, επιτέδωση ρινός, ανεστραμμένα πτερύγια, προέχον κάτω χείλος, ανοιχτό στόμα, μικροστομία,	φαρμακοανθεκτική επιληψία, NY, εγκεφαλοπάθεια	DEL 1q44 (1.64Mb) De novo	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 1q44	<i>PPPDE1,FAM36A, C1orf199,HNRNPU, EFCAB2, KIF26B, SMYD3</i>

		λεπτό άνω χείλος, χαμηλή πρόσφυση τριχωτού αυχένα, χέρι δίκην τρίαυνας, σκολίωση, λόρδωση				
23.	θήλυ/ 1 μηνός	μακροκεφαλία, αντιμογγολοειδής φορά βλεφαρικών σχισμών, μικρή/ ανασηκωμένη μύτη/ επίπεδη ρίζα, προβολή ανθέλικας/ υποπλαστική έλικα, μικροστομία, εντύπωμα κάτω γνάθου & κάτω χείλους, μικροπισθογναθία, μονήρης χειρομαντική γραμμή, καμπτοδακτυλία, βαθείς αύλακες/βραχεία δάκτυλα κάτω άκρων, εφύπτευση	θρομβοπενία	DEL 11q23.3- q25 (14.7Mb)	Σύνδρομο Jacobsen	<i>FLI1, ETS1, CHEK1, BARX2, JAM3,ADAMTS8,ADAMTS15,PANX3,FOXR ED1, KCNJ1,B3GAT1,BSX, NRGN, FEZ1, RICS, OPCML</i>

		2 ^{ου} -3 ^{ου} δακτύλου, στένωση πνευμονικής, ανοιχτό ωοειδές, μέτρια μεσοκοιλιακή επικοινωνία, ραιβουποποδία				
24.	θήλυ/ 2 ετών	μικροκεφαλία, μεγάλα ώτα, στενές βλεφαρικές σχισμές, καμπουρωτή μύτη	ΨΚΚ, υποτονία	DEL 22q13.32- q13.33 (2.26Mb)	Σύνδρομο Phelan McDermid	SHANK3
25.	άρρεν/ 5 ετών	μεγάλη πρόσθια πηγή, βλεφαρόπτωση, στραβισμός, ανώμαλα ώτα, ανεσταμμένα πτερύγια, χαμηλή πρόσφυση ώτων, καθίζηση ρίζας ρινός , θολωτή υπερώα, μακρύ φίλτρο, ανοιχτό ωοειδές, κρυψορχία, οστική ατροφία, εφίπτευση δακτύλων/ πλατύς	Υποτονία, ΨΚΚ, ΔΑΔ, υποθυρεοειδισμός, υποινωδογοναμία	DEL 1p31.2- p22.3 (18.44Mb) De novo	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 1p31.2- p22.3	LRRC7,LRRC40, ANKRD13C, HHLA3, CTH, SPATA1,CTBS, NEGR1, PTGER3, ZRANB2, LRRC53, LRRIQ3, SLC44A5, ACADM,TNN3K, CRYZ,TYW3, LHX8,RABGGTBASB17, PIGK, AK5, PTGFR, ZZZ3,ELTD1, USP33, FAM73A, NEXN,FUBP1, DNAJB4, GIPC2, ADHSP2, UX, SSX21P, LPAR3, MCOLN2, WDR53, MCOLN3, SYDE2, TTLL7, DNASE2B, BXDC5,GNG5, BCL10,DDAH1, CYR61, CL24A1

		μεγάλος δάκτυλος				
26.	θήλυ/ 11 μηνών	μακροσωμία, σαρκώδη ώτα	ΨΚΚ	DUP 5q35.2- q35.3 (75 Kb)	Σύνδρομο Sotos	NSP1
27.	θήλυ/ 20 μηνών	μικροκεφαλία, μεγάλο προέχον μέτωπο με μεσαία αναλαμπή, στενές βλεφαρικές σχισμές/ αντιμογγολοειδής φορά, μακρύ φίλτρο, τοξωτό άνω χείλος	δυστονία	DEL 1p35.33- q36.31 (680 Kb)	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 1p36	SKI, PEX10, ACTRT2, PLCH2, NOC2, AGRN, HES4, HES4, ISG15, TTLL10, TNFRSF4, UBE2J2, KLH17, CDC2L2, MXRA8, VWA1, GABRD, GABA
28.	θήλυ/ 2 ετών	μικροκεφαλία, τριγωνικό προσωπείο, πυκνά φρύδια, χαμηλή πρόσφυση ώτων, μεγάλη μύτη, θολωτή υπερώα	υποτονία, κοντό ανάστημα, ανεπάρκει GH, ΨΚΚ, υπερελαστικότητα αρθρώσεων	DEL 1p36.33- q36.31 (5.7Mb)	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 1p36	SKI, PEX10, NOC2, AGRN, ACTRT2, PLCH2,VWA1, GABRD, HES4, ISG15, TTLL10, TNFRSF4, UBE2J2, KLH17, CDC2L2, MXRA8
29.	θήλυ/ 2,5 ετών	μικροκεφαλία, μεσοκοιλιακή επικοινωνία	βαρηκοία, υποτονία, ΨΚΚ, πνευμονική υπέρταση, σπασμοί, ΓΟΠ	DEL 1p36.33- p36.32 (2.778Mb)	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 1p36	SKI, PEX10, NOC2L, AGRN, HES4, ISG15, TTLL10,TNFRSF4, UBE2J23, KLH17, VWA1, GABRD, GABA CDC2L2, MXRA8, ACTRT2, PLCH2
30.	θήλυ/ 10 μηνών	μεγάλο προέχον μέτωπο, μεσαία αναλαμπή,	ΨΚΚ, σπασμοί	DUP 7p22.2- p22.1 (2.6Mb)	Σύνδρομο μικρο- διπλασιασμού	FOXK1,RBAK, WIPI2, TRIAD3, MMD2,SLC29A4, PMS2,JTV1, EIF2AK1, PSCD3, RAC1,DAGLB, ZDHHC4, ZNF12,

		προέχοντα ζυγωματικά, αποστρογγυλομένο ακρορρίνιο, μακρύ φίλτρο, τοξωτό άνω χείλος, παχύ κάτω χείλος, θολωτή υπερώα, μικρογναθία, βραχύς αυχένας			7p22	ACTB
31.	θήλυ/ 18 μηνών	μικροκεφαλία, πλαγιοκεφαλία, στραβισμός, αντιμογγολοειδής φορά βλεφάρων, γλωσσόπτωση, μονήρης χειρομαντική γραμμή άμφω	ΨΚΚ, επιληψία, υποτονία	DEL 15q11.2- q13.1 (5.56Mb)	Σύνδρομο PW/AS	NDN,SNRPN,UBE3A
32.	θήλυ/ 6 μηνών	μεγάλες βλεφαρικές σχισμές προς τα άνω, μικροστομία, μικροπισθογναθία, θολωτή υπερώα	υποτονία, βρεφικοί σπασμοί, παχυσαρκία	DUP 15q11.2-q14 (17.0 Mb) De novo		ORAN4,GCP5, NIPA1,CYFIP1, NIPA1, MKRN3, MAGEL2, NDN, SNRPN, SNURF, ATPA10A, ATP10C, UBE3A, GABRB3, GABA, GABRG3, OCA2, HERC2, GOLGA8G, ABPA2, KLF13, CHRNA7-3, SCG5, CHRM5, SLC12A6, SPRED1
33.	άρρεν/	μεγάλο προέχον	ΨΚΚ	DEL 9q34.3 (611 Kb)	Σύνδρομο	EHMT1,TRAF2, C8G

	10 μηνών	μέτωπο/ μεσαία αναλαμπή, υπερκόγχιο οίδημα, στραβισμός, προέχοντα ζυγωματικά, μικρή μύτη, αποστρογγυλομένο ακρορίνιο, χαμηλή πρόσφυση ώτων, μακρύ φίλτρο, τοξωτό άνω χείλος, παχύ κάτω χείλος, θολωτή υπερώα, ανοιχτό-μεγάλο στόμα, βραχύς αυχένας			μικρο- ελλείμματος 9q	
34.	άρρεν/ 15 μηνών	χαμηλή πρόσφυση ωτών, μικρογναθία, στρογγυλό στόμα, θολωτή υπερώα, μεσοκοιλιακή επικοινωνία, καμπτοδακτυλία	ΨΚΚ, ανεπαρκής πρόσληψη βάρους, υπομυελίνωση	DEL 9q34.3 (780 Kb) mat	Σύνδρομο μικρο- ελλείμματος 9q	<i>EGFL7,EDF1,TRAF2, C8G, ABCA2, MAN1B1, GRIN1, SLC34A3, AGPAT2</i>
35.	θήλυ/ 18 ετών	στραβισμός, αιμαγγείωμα δεξιάς	ΔΑΔ, ΝΥ, παχυσαρκία, αρτηριακή υπέρταση,	DUP 17q21.31 (810Kb)	Σύνδρομο μικρο-	<i>MAPT, STH</i>

		κροταφικής περιοχής, αυχενικό πτερύγιο, μεσοκολπική επικοινωνία, χοριακοί και συνδεσμικοί σπίλοι κορμού	υπερτρίχωση, ραβδώσεις δέρματος	Mat &pat	διπλασιασμού 17q	
36.	άρρεν/ 15 ετών	μακροκεφαλία αντιμογγολοειδής φορά βλεφαρικών σχισμών, μακρύ φίλτρο, λεπτό άνω χείλος, μακρογναθία, εντύπωμα κάτω γνάθου	NY	DEL 17q21.31 (800 Kb)	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 17q21.31	<i>MAPT, STH,KIAA1267, LRRC37A, ARL17, ADP, LRRC37A2ARL17P1, ADP, NSF</i>
37.	άρρεν/ 2 ετών	μεγάλο προέχον μέτωπο/ μεσαία αναλαμπή, υποπλασία ζυγωματικών, καθίζηση ρινός, αποστρογγυλομένο ακρορίνιο, μακρύ φίλτρο, τοξωτό άνω χείλος, μικρογναθία,	πνευμονική υπέρταση, υποτονία, βραχύ έντερο, αναπτυξιακή καθυστερήση	DUP 1q21.1 (1.2Mb)	Σύνδρομο μικρο- διπλασιασμού 1q21.1	<i>PDE4DIP, SEC22B, BCL9, CHD1L, GJA5,FMOS</i>

		μεσοκολπική επικοινωνία, μεσοκοιλιακή επικοινωνία, κρυψορχία, ατρησία πρωκτού				
38.	άρρεν/ 7μηνών	τριγωνοκεφαλία, μικρό προέχων μέτωπο, στραβισμός, παχειά φρύδια, καθίζηση ρίζας ρινός, θολωτή υπερώα, έκτοπη θηλή, γλωσσόπτωση, κρυψορχία, ραιβουιποποδία	ΨΚΚ, βραχυσωμία, υπερτρίχωση μετώπου	DEL 2q37.1-q37.2 (2.3Mb) De novo	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 2q37	SH3BP4
39.	άρρεν/ 5 ετών	μικροκεφαλία, έντονο βλέμμα, προβάλλοντες οφθαλμοί, μακριές βλεφαρίδες, επίκανθος, μικρογναθία, θολωτή υπερώα, μυτερό πιγούνι	ΨΚΚ, σπασμοί, καθυστερήση ομιλίας, αυτισμός	DUP 14q24.2 (31 Kb)		SFRS5, SLC10A1
40.	θήλυ/ 5 ετών	υποσπαδίας	αρτηριακή υπέρταση,	DEL 1p36.13 (22 Kb)		CLCNKA

	15 ετών		άποιος διαβήτης, υποθυρεοειδισμός παχυσαρκία, δυσλεξία			
41.	άρρεν/ 2 ετών	Καμπουρωτή μύτη, σαρκώδη μικρά ώτα, δισχιδές όσχεο	υποτονία, υπερεκτασιμότητα αρθρώσεων	DEL 2q37.3 (4.22Mb)	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 2q37	<i>RAMP1, UBE2F, SCL, ESPNL, KLHL30,FAM132,ILICAP, HES6, PER2 ,TRAF31P1, ASB1,HDAC4, OR9S24P,MYEOV2,NDUFA10, OR6B2, OTOS, GPC1,AQP12, ANKMY1,DUSP2, AQP12B, KIF1A RNPEPL1,CAPN1,GPR35,SNED1, AGX,HDLBP, SEPT2, PPP1R7, MTERFD2,PASK,FARP2,ANO7, BOK,DTYMK, STK25,THAP4, ING5,ATG4B, D2HGDH,GAL3ST2,PDCC1, NEU4</i>
42.	άρρεν/ 7 ετών	σύνοφρυς, ανεστραμένα πτερύγια μύτης, επίπεδα χείλη, υπερώιοσχιστία, μεσοκολπική επικοινωνία, υποσπαδίας, κλινοδακτυλία άνω άκρων	ΨΚΚ, βαρηκοία αγωγιμότητας, ψυχιατρική συμπεριφορά	DEL Xp21.3 (28 Kb)	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος Xp21	<i>L1RAPL1</i>
43.	άρρεν/ 35 ετών	νεφρικές κύστεις, βουβωνοκήλη	χολόσταση, ηπατική ίνωση, δυσλιπιδαιμία	DEL 17q12 (2.43Mb)	Σύνδρομο RCAD	<i>TBC1D3B,CCL3L1, CCL3L3, CCL4L1, CCL4L,TBC1D3C,</i>

						<i>CCL3L1,TBC1D3H,AP1GBP1,DDX52, TBC1D3C,TBC1D3G,ZNHIT3,MYO19, PIGW,GGNBP2, ACACA,C17orf78, DHRS11, MRM1, LHX1,AATF, TADA2L,DUSP14, TBC1D3,TBC1D3F, HNF1B,LOC284100,TBC1D3E, TBC1D3D,PIP4K2B,CCDC49</i>
44.	άρρεν/ 3 ετών	τριγωνοκεφαλία, προβολή μέσου προσώπου, προβολή ρινός, μικροπισθογναθία	ΨΚΚ, υποτονία, βαρηκοία	DEL 22q12.3 (2.01Mb)		<i>MYH9,TMPRSS6, TRIOBP,SOX10, PLA2G6</i>
45.	θήλυ/ 6 ετών	μικροκεφαλία	ΝΥ, αυτισμός	DUP 3p26.2 (35 Kb)		<i>SUMF1,ITPR1</i>
46.	θήλυ/ 2 μηνών	στραβισμός, επίκανθος, καθίζηση ρίζας ρινός, εντύπωμα λοβίου ωτώς ανοιχτό στόμα, μικρογλωσσία, μικρογναθία εξόμφαλος	γιγαντισμός, ηπατοσπληνομεγαλία	DUP 12p12.2-p12.1 (286Kb)		<i>SLCO1B3,LST-3TM12, SLCO1B1</i>

47.	άρρεν/ 3 ετών	Μικροκεφαλία, τριγωνικό προσωπείο, θολωτή υπερώα, κρυψορχία	βραχυσωμία, βαρηκοία	DEL 12p12.2 (386Kb)		<i>SLCO1B3, SLCO1B1</i>
-----	------------------	--	----------------------	---------------------	--	-------------------------

Πίνακας 5: Ασθενείς με πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες και δύο ή περισσότερα παθολογικά CNVs.

Ασθενής (n)	Φύλο/ ηλικία	Συγγενείς ανωμαλίες	Άλλα ευρήματα	Αποτελέσματα array-CGH	Γνωστό σύνδρομο	Σημαντικά γονίδια
48.	άρρεν/ 2,5 ετών	μακροκεφαλία, μακροπροσωπία, δυσγενεσία μεσολοβίου, προπέτεια μετώπου, λοξή φορά βλεφαρικών σχισμών, ανεστραμμένα πτερύγια υπερτελορισμός, επίκανθος, καθίζηση ρινός, μικρή μύτη, μικρογναθία ανωμαλίες οδόντων, ΚΟΠ	υποτονία, ΨΚΚ	DEL 17q12 (1.097 Mb) DEL 7q36.1 (738 Kb) De novo	Σύνδρομο μικρο-ελλείματος 17q12 (RCAD) Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 7p36	<i>MGC4172, MRM1, LHX1, AATF, ACACA, TADA2L, DUSP14, HNF1B</i> <i>ABP1, KCNH, ASIC3, CDK5, SLC4A2, B3A2, SMARCD3, CSGLCA, FASTK, ASB10, ACCN3, ABCB8</i>
49.	άρρεν/ 1 μηνός	μεγάλη πρόσθια πηγή, προβολή μετώπου, υπερτελορισμός, καθίζηση ρίζας ρινός, χαμηλή πρόσφυση ώτων, διαταραχές ελίκωσης, θολωτή υπερώα, εφύπτειυση 2 ^{ου} δακτύλου άκρος ποδός, στένωση πνευμονικής,	υποτονία	DEL 5q35.3 (2.32Mb) De novo DUP 17q25.1-q25.3 (10.14Mb) de novo	Σύνδρομο μικρο-ελλείματος 5q35-qter	<i>ADAMT52, GRM6, LTC4S SQSTM1, FLT4, VEGFR3</i> <i>TSEN54, GALK1, ITGB4, USH1G, ACOX, PRCD, SEPT9, TMC6, COG1, DNAI, SLC25A19, SLC9A3R, GAA, FSCN2, SGSH</i>

		μεσοκολπική επικοινωνία		DEL Xp21 (340 Kb)		DMD
50.	θήλυ/ 6 μηνών	στένωση πνευμονικής		DEL 7q11.23 (1.41Mb) DEL 12q13.3 (449 Kb)	Σύνδρομο Williams	ELN
51.	άρρεν/ 2 ετών	μεγάλο προέχον μέτωπο, αποστρογγυλωμένο ακρορίνιο, μακρύ φίλτρο, τοξωτό άνω χείλος, παχύ κάτω χείλος, θολωτή υπερώα, μικρογναθία	ΨΚΚ, κοντό ανάστημα	DEL 22q11.21 (120 Kb) DUP 22q11.21 (240 Kb),	Σύνδρομο Di George Σύνδρομο Di George	DGCR6, DGCR5, DGCR9,DGCR10PRODH GGT2, HIC2
52.	άρρεν/ 7 μηνών	επίκανθος, μπλε σκληροί, αφεστώτα ώτα, εντύπωμα κάτω γνάθου, ομφαλοκήλη, έκτοπος νεφρός, κρυφορχία	ΨΚΚ, υποτονία, υπερελαστικό τητα αρθρώσεων	DEL 6q12 (74 Kb) Pat DUP 6q12- q13 (15.1Mb) De novo		EYS BAI3,LMBRD1,C6orf147,DPPA5, COL19A1,COL9A1,FAM135A, C6orf57,SMAP1B3GAT2,OGFRL1 C6orf155,RIMS1,KCNQ5, LOC100129128, C6orf150, KHDC1, C6orf221,OOEP,DDX4, MT01, EEF1A1, SLC17A5,

						<i>CD109,COL12A1,COX7A2, TMEM30A, FILIP1, SENP6, MYO6,IMPG1,BCKDHB, FAM46A HTR1B,IRAK1BP1PHIP, HMGN3, LCA5, SH3BGR2, ELOVL4, TTK</i>
53.	θήλυ/ 2 ετών	κρανιομετωπορινική δυσπλασία, μεγάλο προέχον μέτωπο, υπερτελορισμός, χαμηλά αφεστώτα ώτα με ανώμαλη ελίκωση, καθίζηση ρινός, μικρή μύτη με εντύπωμα, κοντό φίλτρο, θολωτή υπερώα, μικρογναθία, δίχωρη δεξιά κοιλία, υποπλαστικά μικρά νύχια, καμπτοδακτυλία	ΨΚΚ	DUP 9p24.3- p22.1 (19.01 Mb)		<i>C9orf66, DOCK8, KANK1 KANK1,DMRT1, C9orf46,CD274, C9orf68,PPAPDC2,INSL6, INSL4,C9orf70,SLC1A1DMRT3,D MRT2, SMARCA2, VLDLR, FLJ35024, CDC37L1, AK3 KCNV2,KIAA0020,RFX3, GLIS3 RCL1, JAK2, RLN2, RLN1,PDCD1LG2, KIAA1432, KIAA1432, ERMP1, MLANA, KIAA2026,RANBP6, IL33, TPD52L3, TPD52L3, UHRF2,GLDC, KDM4C,C9orf123PTPRD, TYRP1C 9orf150,MPDZ, NFIB, ZDHHC21,CER1, FREM1, LOC389705, C9orf93, BNC2, TTC39B, SNAPC3, PSIP1, CNTLN,SH3GL2, ADAMTSL1, FAM154A,RRAGA, HAUS6, SCARNA8,ADFP</i>

				DEL13q33.1-q34 (13.6Mb)		<i>NALCN, ITGBL1 FGF14, TPP2 C13orf39, FAM155A, ING1,ANKRD10, LOC643677, C13orf27, KDELC1, BIVM, ERCC5, LOC121952, SLC10A2, DAOA, EFNB2, ARGLU1, LIG4, ABHD13, TNFSF13B, MYO16,IRS2,COL4A1,COL4A2,R AB20, CARKD, CARS2, ARHGEF7,C13orf16, SOX1,C13orf28,TUBGCP3, C13orf35,ATP11A,MCF2L, F7, F10, PROZ, PCID2,CUL4A, LAMP1, GRTP1, ADPRHL1, DCUN1D2, TMCO3, TFDP1, ATP4B, GRK1,FLI44054 GAS6,FAM70B, RASA3, CDC16, UPF3A, ZNF828, hsa-mir-1267</i>
--	--	--	--	------------------------------------	--	---

54.	Θήλυ/ 4 μηνών	δεξιό αορτικό τόξο, έκτοπος βρόγχος, συστροφή εντέρου		DEL 1p36.33 (840 Kb)	Σύνδρομο μικρο-ελλείματος 1p36	<i>SAMD11, NOC2L, KLHL17, PLEKHN1, HES4, ISG15, AGRN, C1orf159, TTLL10, TNFRSF18, TNFRSF4, SDF4, B3GALT6, FAM132A, UBE2J2, LOC100128842, SCNN1D, ACAP3, PUSL1, CPSF3L, GLTPD1 TAS1R3, DVL1, MXRA8, AURKAIP1, CCNL2, LOC148413, MRPL20, LOC441869, TMEM88B VWA1, ATAD3C, SSU72 MIB2, ATAD3B, ATAD3A, C1orf70, SLC35E2, NADK, MMP23B, MMP23A, CDC2L1, LOC728661, MMP23A, CDC2L2, hsa-mir-200b, hsa-mir-200a, hsa-mir-429</i> <i>HIC2, PI4KAP2, RIMBP3B, RIMBP3C, UBE2L3, YDJC, CCDC116, SDF2L1, PPIL2, YPEL1, MAPK1, MAPK1, PPM1F, TOP3B, VPBEB1 LOC96610, ZNF280B, ZNF280A, PRAME, PRAME LOC648691, hsa-</i>
				Del22q11.21-q11.22 (1.2Mb)	Σύνδρομο Di George	

		δόντια, μυτερό πηγούνι, σφηνοειδής σπόνδυλος Θ2 , υπεράριθμη πλευρά, λεπτά οστά, σύγκληση πηχεοκαρπικής, εφύττευση 2 ^{ου} -3 ^{ου} δακτύλου		DUP 1p36.33 (16 Kb)		<i>CDC2L1, SLC35E2</i>
57.	θήλυ/ 13 ετών	στενό-μικρό μέτωπο, σύνοφρυς, υπερτελορισμός, προς τα άνω βλεφαρικές σχισμές, προέχοντα ζυγωματικά, χαμηλή πρόσφυση ώτων αποστρογγυλωμένο ακρορίνιο, ευρεία βάση ρινός, μικρογναθία, θολωτή υπερώα, υποπλασία μαζικού αδένα, βλεσποπλατυποδία	ΨΚΚ, χαμηλό ανάστημα παχυσαρκία	DUP 7p22.2-p22.1 (2.6Μβ) DEL 17q25.3 (61 Kb)	Σύνδρομο μικρο-ελείματος 7p22	<i>FOXK1,RBAK, WIPI2, TRIAD3, MMD2,SLC29A4, PMS2,JTV1, EIF2AK1,PSCD3, RAC1,DAGLB,ZDHHC4, ZNF12,ACTB PCYT2,THOC4, ANAPC11, NPB, PCYT2, SIRT7, MAFG</i>
58.	θήλυ/ 6 μηνών	μικροπισθογναθία, θολωτή υπερώα, ανοιχτό ωοειδές, μεσοκολπική επικοινωνία	ΨΚΚ	DEL 9q34.3 (3.12Mb) De novo DEL 3p13 (83 Kb) De novo	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 9q	<i>LHX3,NOTCH1, EHMT1 AGPAT2,SLC34A3,GRIN1, FOXP1</i>

		ακρορίνιο, τοξωτό άνω χειλος, θολωτή υπερωά, ανοιχτό μεγάλο στόμα, μικρογναθία, βραχύς αυχένας		DUP 13q13.2 (19 Kb)	Σύνδρομο μικρο-δυσπλασισμού 13q	NBEA
63.	θήλυ/ 6 μηνών	μικροκεφλία, συννοστέωση μετωπιαίας ραφής, μικρογναθία, θολωτή υπερωά, χαμηλή πρόσφυση ώτων/ επιτέδωση λοβού αριστερά, καμπτοδακτυλία	ΨΚΚ, σπασμοί	DUP 16p13.3 (8Kb) DUP 16p12.1 (593 Kb)	Σύνδρομο μικρο-ελλείματος 16p12.1	CACNA1H METTL9,IGSF6, OTOA,UQCRC2, EEF2K,POLR3E, CDR2
64.	άρρεν/ 40 ημερών	επίκανθος, κολοβώματα ίριδος/ χοριοειδούς/ οπτικού νεύρου, χαμηλή πρόσφυση ώτων, δυσπλαστικά ώτα με ανώμαλη ελίκωση, καθίζηση ακρορινίου, μικρογναθία, δίπτυχη αορτική βαλβίδα, σκαφοειδής θώρακας, υποπλαστικό όσχεο, κρυψορχία	ΨΚΚ, σπασμοί, μικρό πέος, αλωπεκία, αποφολιδωτικ ό εξάνθημα, πάρεση (αρ) προσωπικού, ανοσοανεπάρ κεια	DEL 6q21- q22.1 (3.5Mb) DEL 20p13 (688Kb)		MARCKS, HDAC2, HS3ST5, FRK RSPO4, PSMF1, SNPH, FKBP1A, NSFL1C, SIRPG, SIRPB1, SIRB1, SIRP-beta-1, CD172
65.	θήλυ/ 6 μηνών	μικροκεφαλία, προέχον	ΨΚΚ,	DEL 5p15.33		BDR9,TRIP13, SLC6A3, NDUFS6,

	7 ετών	μέτωπο, σύνοφρος, δυσπλαστικά ώτα	στερεοτυπίες, αυτισμός, διεύρυνση υπαραχνοειδο ύς χώρου και κουλιών	(1.01Mb) mat DEL12p13.31 (86 Kb) pat		NKD2, IRX4, SLC12A7, SLC6A19, TERT SLC2A3
66.	άρρεν/ 1 έτους	μακροκεφαλία, έντονο βλέμμα, καθίζηση ρινός, μικρογναθία, θολωτή υπερώα, υπερτροφία ούλων	Υποτονία, ΨΚΚ, διεύρυνση περιφερικών υπαραχνοειδ ών χώρων, λέπτυνση κεντρικού τμήματος σώματος μεσολοβίου	DEL 3p26.2 (149 Kb) DEL 19p13.3 (152 Kb) DEL 22q13.31 (80Kb)		SUMF1 SETMAR EFNA2, STK11, MIDN WNT7B
67.	θήλυ/ 14 ετών	στραβισμός, μυωπία, χαμηλή πρόσφυση ωτών, κοντό φίλτρο, θολωτή υπερώα	χαμηλό μήκος σώματος, ανεπάρκεια GH, ΨΚΚ, υπερτρίχωση	DEL 1p36.13 (16 Kb) DEL 8p23.1 (861Kb) DUP 16p13.3 (226 Kb)	Σύνδρομο Fryns	ARHGEF9 DEFB4, DEF107B, SPAG11A DEFB103BHE2, SPAG11B, DEFB104ADEF1, 06A, DEF105A, RAB11FIP3, SOLHPIGQ, RAB40C, WFIKKN1, RHOT-2, FBXL16, METRN

68.	θήλυ/ 10 μηνών	μικροκεφαλία, επίκανθος, αβαθείς οφθαλμοί, μικρή μύτη, προέχοντα ζυγωματικά, μικροστομία, θολωτή υπερώα	ΨΚΚ, υποτονία κορμού, υπερτονία άκρων, καθυστέρηση μυελίνωσης	DEL 3p21.31 (23 Kb) De novo DUP 8q21.1 (14 Kb) De novo DEL 10q25.2 (82 Kb) de novo DEL 15q21.1 (64 Kb) De novo	Σύνδρομο μικρο-δυσπλασισμού 8q21.1	<i>BSN</i> <i>THEM67</i> <i>VTI1A</i> <i>UNC13C</i>
69.	άρρεν/ 3 ετών	ραιβοτυποποδία, κλινοδακτυλία, εφίπτευση 2 ^{ου} -3 ^{ου} δακτύλου	υποτονία, νυσταγμός, αστάθεια βάδισης	DUP 6p22.2 (375 Kb) DUP 10q26.13 (389Kb) DUP Xq26.3-q27.1 (542Kb)		<i>NRSN1,DCDC2,MRS2</i> <i>GALNAG, OAT</i> <i>FGF13</i>
70.	θήλυ/ 15 μηνών	μεσοκοιλιακή επικοινωνία, προέχον μέτωπο, επίκανθος,	υποτονία, νυσταγμός, βραχυδακτυλί	DEL 1p36.33 (717 Kb)		<i>ISG15, AGRN, TTLL10,</i> <i>TNFRSF18TNFRSF4, SDF4 MIB2,</i>

		χαμηλά ώτα, καθίζηση ρινός, ανοιχτό στόμα, μικρογναθία, υποπλαστικές θηλές	α, διεύρυνση υπαρχνοειδ ών κοιλιών	DEL 3q27.1 (423 Kb)	Σύνδρομο μικρο-ελλείματος 3q27	CDC2L2, MMP23B B3GALT6,UBE2J2SCNN1D, CENTB5,CPSF3L, TAS1R3, DVL1, MXR8,AURKAIP1CCNL2, VWA1, CLCN2,POLR2H, THPO,CHR, EPHB3,MAGEF1
				DEL 4q21.22-q22.1 (5.6Mb)	Σύνδρομο μικρο-ελλείματος 4q21.22	HNRNPD,HNRPDL, JKTBP,ENOPH1, SCD5, SEC31A, COPS4, HEL308,MRPS18C, AGPAT9, NKX6-1,CDS1, SLC10A6 COQ2,MAPK10, PTPN13,
				DEL 16p13.3 (2.97Mb)		RGS11,ARHGDIGAXIN1,NME4, MRPL28, RAB11FIP3, DECR2, PIGQ, RAB4OC,WFKKN1, RHOT2,METRIN, SOLH, LMF1,TSC2, SSTR5, GNPTG, CLCN7, IGFALS, ABCA3, PKD1
71.	θήλυ, 9 μηνών	κρανιοσυνοστέωση		DEL 7p22.3-p22.2		FAM20C,PDGFA PRKAR1B,

		οβελιαίας ραφής, σκαφοκεφαλία		(2.98Mb)		<i>MICALL2,INTS1, MAFK,PSMG3, ELFN1,HETR2,UNC84A, THEM184A, MAD1,TFAMP1 ADAP1, COX19 GRP146, GPER FKSG48,ZFAND2A,UNCX, MAD1L1, CHST12, LFNG NUDT1, SNX8, IQCE, TTYH3 AMZ1, GNA12, CARD11</i>
				DEL 10q26.3 (1.76Mb)	Σύνδρομο μικρο-ελλείματος 10q	<i>PAOX, PRAP, GPR123,NKX6-2 ECHS1, ZNF511 CALY,TUBGCP2 ADAMVENTX, UTF1,KNDC1, PWW2B,LRRC27,INPP5A, JAKMIP3, STK32C, DPYSL4 BNIP3,PPP2R2D</i>
72.	Θήλυ/ 4 ετών	μυωπία, αστιγματισμός, αντιμογγολοειδής φορά των βλεφάρων, θολωτή υπερώα, κωνοειδής διαμόρφωση δακτύλων	ΨΚΚ, σπασμοί, υποτονία, παχυσαρκία	DEL 4p12 (210 Kb) DEL 5q31.3 (52 Kb)		<i>FRYL</i> <i>PCDHA1-A15</i>

				DEL 6q22.1-q22.31 (3.6Mb) DEL 16p13.31 (146 Kb) DEL 16p12.3 (20 Kb) DEL 20p12.2 (29 Kb)		<i>VGLL2, ROS1, NOMO3 GOPC, DCBLD1, NUS1,SLC35F1 PLN,ASF1A, MCM9,MAN1A1,</i> <i>NPIP</i> <i>XYLT1</i> <i>PAK7</i>
73.	θήλυ/ 2 ετών	μικροκεφαλία	ΨΚΚ	DEL 9p13.3 (590 Kb) mat DEL 21q22.3 (490 Kb) de novo DEL 22q12.3 (810 Kb) de novo		<i>ARID3A,WDR18 ABCA7, CNN2, NDUFS7, GAMT</i> <i>CSTB,TRAPPC10 DNMT3L</i> <i>RBM9, TXN2, CACNG2</i>

				DUP 10p12.33 (1.022Mb) de novo		CACNB2, ARL5B NSUN6
74.	άρρεν/ 18 μηνών	προέχον μέτωπο, μεγάλες βλεφαρικές σχισμές με μογγολοειδή φορά, επίκανθος, καθίζηση ρίζας ρινός	ΨΚΚ, υπερτονία	DELXq22.2-q22.3 (424 Kb) mat DEL Xq22.3 (424Kb) mat		IL1RAPL2 GUCY2F, NXT2
75.	άρρεν/ 7 ετών	σύνοφρυς, ανεστραμένα πτερύγια μύτης, επίπεδα χείλη, υπερώιοσχιστία, μεσοκολπική επικοινωνία, κλινοδακτυλία άνω άκρων, υποσπαδίας	ΨΚΚ, βαρικοία αγωγιμότητας, ψυχιατρική συμπεριφορά	DEL Xp21.3 (28 Kb)	Σύνδρομο μικρο-ελλείματος Xp21	L1RAPL1
76.	θήλυ/ 2 ετών	στραβισμός, θολωτή υπερώα, λείο φίλτρο, επίπεδο άνω χείλος, πεταλοειδής νεφρός	Υποτονία, ΨΚΚ, επιληψία	DUP 3q29 (480 Kb) pat DUP 3q29 (453 Kb) pat	Σύνδρομο μικρο-δυσπλασισμού 3q29	ACAP2,PPP1R2, APOD, MUC20, MUC4, hsa-mir- 570 DLG1, BDH1
77.	θήλυ/ 2 ετών	στενές βλεφαρικές	ΨΚΚ,	DEL 3q22.3 (35 Kb)		EPHB1

	15 ετών	σχισμές, συγκλίνων στραβισμός μικρωτία, έντονο φίλτρο, μικροπισθογναθία, μεγάλο στόμα, παχειά χείλη, συγκάψεις άκρων, ραιβοιποποδία	εγκεφαλοπάθ εια, υποτονία κορμού, υπερτονία άκρων, σπίλοι κορμού, χαμηλή IgE	De novo DEL 15q11.2 (9,6 Kb) De novo		SNRPN
78.	Θήλυ/ 5 ετών	προέχον μετωπιαίο οστούν, προς τα άνω βλεφαρίδες, επίκανθος, υπερτελορισμός, μυωπία, χαμηλή πρόσφυση ωτών, ευρεία βάση ρινός, κοντό φίλτρο, ανασηκωμένο άνω χείλος, παχύ κάτω χείλος, θολωτή υπερώα, ανωμαλίες οδόντων, στενή γνάθος, μεσοκολπική επικοινωνία, ανοιχτό ωοειδές, συνδακτυλία	ΨΚΚ, σπασμοί, υποπλασία μεσολοβίου	DEL 8q24.3 (4.26Mb) DEL 9q34.2-q34.3 (5.41Mb) DEL 10q26.3 (1.72Mb)	Σύνδρομο μικρο-ελλείμματος 8q24.3 Σύνδρομο μικρο-ελλείμματος 9q34.2 Σύνδρομο μικρο-ελλείμματος 10q26.3	PTK2,PTP4A3, SLC39A4,JRK, ARC,LYNX1, TOP1MT,SCR1B SLURP1, BAI1, PUF60, FOXH1, SCX,SCRT1, FAM83H RECQL4,PLEC1, CEL,SURF1, COL5A1OLFM1 LHX3,ADAMTS13NOTCH1,RXRA AGPAT2, PPP2R2D,BNIP3, C10orf125, GPR123, ECHS1 STK32C,JAKMIP3DPYSL4,PWWP 2B,INPP5A, C10orf91,NKX6- 2,VENTX, PAOX CALY,TUBGCP2, MTG1,KNDC1, ADAM8,ZNF511UTF1,PRAP1

79.	άρρεν/ 3 ετών	μικροκεφαλία, μεγάλες βλεφαρίδες, θολωτή υπερώα	ΨΚΚ, σπασμοί, σπαστική τετραπληγία, ρυθμικές κινήσεις γλώσσας, ατροφία σκώληκα / παρεγκεφαλιδ ι-κών ημισφαίριων διεύρυνση παρεγκεφαλο νω-τιαίας δεξαμενής, διεύρυνση πλάγιων κοιλιών	DEL 16p11.2 (1,28 Mb) De novo DUP Xp22.13 (57 Kb) de novo DEL Xp11.22 (13 Kb) De novo DEL Xq21.31 (13 Kb) De novo		<i>TP53TG3,SLC6A10PIGHV,IGH, SLC6A8</i> <i>CDKL5</i> <i>JARID1C</i> <i>PCDHX,PCDH11X</i>
80.	άρρεν/ 3 μηνών	αγενεσία μεσολοβίου, μικρά σαρκώδη ώτα, χαμηλή πρόσφυση ωτών, ανεστραμμένα πτερύγια, μικρή ανασηκωμένη μύτη, μικροπισθογναθία, εντύπωμα πώγωνα βουβωνοκήλη,	υδροκέφαλος	DUP 4q26 (40 Kb) DEL 10q21.3 (50 Kb) DUP12p13.31 (173 Kb)		<i>USP53, FABP2 LOC401152</i> <i>CTNNA3</i> <i>DDX12</i>

		κρυφορχία		DUP 12q24.31 (113Kb)		SFRS9, DYNLL1, COQ5, RNF10, GATC
				DEL 20p13 (40 Kb)		SIRPB1
81.	θήλυ, 7 ετών	μικροκεφαλία, χαμηλή πρόσφυση ώτων, καθίζηση ρινός, θολωτή υπερώα, προβολή άνω γνάθου, ανωμαλίες οδόντων	ΨΚΚ, υποτονία, χαλαρές αρθρώσεις	DEL 13q34 (319 Kb)		DCUN1D2, TMCO3,TFDP1,ATP4B ,GRK1,FLJ44054,GAS6,FAM70B, RASA3CDC16,UPF3A
				DEL 16q24.3 (50 Kb)	Σύνδρομο μικρο- ελλείματος 16q24.3	ANKRD1, SPG7

Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο Συγκριτικός Γενωμικός Υβριδισμός, ονομάζεται επίσης Μοριακός Καρυότυπος, πρωτοπεριγράφηκε το 1992 από τους Kallioniemi A και τους συνεργάτες του για την ανίχνευση χρωμοσωμικών αναδιατάξεων σε συμπαγείς όγκους με διακριτική ευκρίνεια της τάξης των των ~10Mb για το συμβατικό CGH και 3-5Mb για το HR-CGH (High Resolution-CGH). Είναι μία τεχνική που αναπτύχθηκε για την υψηλή ανάλυση του γονιδιώματος σε επίπεδο ελέγχου των πολυμορφισμών αριθμού αντιγράφων (CNVs). Συγκεκριμένα, η χρησιμότητά των a-CGH έγκειται στην αποκάλυψη και χαρτογράφηση γενωμικών ανακατατάξεων και σύγκριση ποσοτικών αλλαγών των αντιγράφων του DNA (Copy Number Variations (CNVs) οι οποίες απαντούν ως ελλείμματα, διπλασιασμοί, ή συνδυασμός ελλειμμάτων και διπλασιασμών που δεν ανιχνεύονται με τον συμβατικό καρυότυπο

Επιτρέπει την ολοκληρωμένη σάρωση εκατοντάδων διακριτών γενομικών θέσεων για την ανίχνευση διπλασιασμών ή ελλειμμάτων. Η ανάπτυξη και η κλινική εφαρμογή των a-CGH τα τελευταία χρόνια αποτέλεσε επανάσταση στην διαγνωστική προσέγγιση των ασθενών και διευκόλυνε πολύ τον προσδιορισμό της μοριακής βάσης πολλών γενετικών ασθενειών, οδηγώντας στην ταυτοποίηση νέων συνδρόμων. Αποτελεί ερευνητικό εργαλείο για τον προσδιορισμό γενομικών ανακατατάξεων αντικαθιστώντας τις κλασικές κυτταρογενετικές μεθόδους σε όλο και περισσότερα γενετικά εργαστήρια.

Οι χρωμοσωμικές ανευπλοειδίες (περίσσεια ή έλλειψη χρωμοσώματος) οι δομικές ανακατατάξεις (ελλείμματα, διπλασιασμοί, μεταθέσεις, ενθέσεις) και υπεράριθμοι χρωμοσωμικοί δείκτες (marker χρωμοσώματα) αποτελούν συχνή υποκείμενη αιτία συγγενών ανωμαλιών, δυσμορφιών, καθολικής αναπτυξιακής καθυστέρησης, αυτισμού, αποβολών και γενετικών συνδρόμων. (Shinawi M et al 2008).

Όσον αφορά τις συγγενείς ανωμαλίες που συνδυάζονται με νοητική υστέρηση οι De Vries BB et al το 2005 εντόπισαν με τη μεθοδολογία των

array CGH, CNVs σε ποσοστό 20-25% ασθενών που είχαν φυσιολογικό συμβατικό καρυότυπο, δηλαδή φάνηκε ότι το a-CGH έχει υπερτριπλάσια διαγνωστική δυνατότητα σε σχέση με τον καρυότυπο. Οι προγενέστερες αυτών μελέτες με array-CGH σε ασθενείς με χρωμοσωμικούς φαινοτύπους συγγενών ανωμαλιών και φυσιολογικό συμβατικό καρυότυπο προτείνουν διαγνωστική απόδοση της νέας αυτής τεχνολογίας που κυμαίνεται από 10-15% για de novo χρωμοσωμικές ανακατατάξεις CNVs.

Οι Menten et al το 2006 μελέτησαν με μοριακό καρυότυπο 140 ασθενείς με πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες και νοητική υστέρηση που είχαν φυσιολογικό συμβατικό καρυότυπο και εντόπισαν υπομικροσκοπικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες σε 28/140 ασθενείς (20%). Συγκεκριμένα ανιχνεύθηκαν 18 ελλείμματα, 7 διπλασιασμοί και 3 μη ισοζυγισμένες μεταθέσεις εκ των οποίων οι 19 ανακατατάξεις αιτιολογούσαν τον κλινικό φαινότυπο. Επιπλέον, δύο ασθενείς είχαν δομική χρωμοσωμική ανωμαλία σε μωσαϊκισμό, ένας από τους οποίους είχε μονοσωμία 7 σε μόλις 8% των κυττάρων. Καταλήγουν πως η μέθοδος του μοριακού καρυότυπου θα πρέπει να θεωρείται ουσιαστική στη γενετική ανάλυση των ασθενών με συγγενείς ανωμαλίες και νοητική υστέρηση.

Το 2010 οι Miller et al, επιβεβαιώνουν ότι σε σχέση με τον συμβατικό καρυότυπο η μεθοδολογία του μοριακού καρυότυπου προσφέρει πολύ υψηλότερη διαγνωστική απόδοση (15% -20%) για γενετικούς ελέγχους ατόμων με πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες ή/και ανεξήγητη νοητική υστέρηση ή/και διαταρχές φάσματος αυτισμού, κυρίως λόγω της υψηλότερης ευαισθησίας για υπομικροσκοπικά ελλείμματα και διπλασιασμούς. Σχετικά με τους μικρομωσαϊκισμούς σχολιάζουν ότι ενώ γενικά δεν ανιχνεύονται από συστοιχίες, εντούτοις επειδή αποτελούν σχετικά σπάνιες αιτίες ανώμαλων φαινοτύπων σε αυτόν τον πληθυσμό (<1%), δεν αποτελούν σοβαρό λόγο που μειώνει την αξία της εξέτασης. Καταλήγουν πως η ανάλυση με συμβατικό καρυότυπο θα πρέπει να περιορίζεται αποκλειστικά για ασθενείς με προφανή χρωμοσωμικά σύνδρομα (π.χ. σύνδρομο Down), οικογενειακό

ιστορικό ισοζυγισμένης χρωμοσωμικής αναδιάταξης ή ιστορικό πολλαπλών αποβολών.

Πρόσφατα, οι Zilina et al το 2014, διεκπεραίωσαν 1191 αναλύσεις με τη μέθοδο των μικροσυστοιχιών σε πληθυσμό που περιλάμβανε: ασθενείς με πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες, νοητική υστέρηση και διαταραχές στο αυτιστικό φάσμα (90%), μέλη της οικογένειας των ασθενών (5%) και έμβρυα που παραπέμφθηκαν (5%). Ευρήματα ανιχνεύθηκαν σε 298 ασθενείς (25%). Συνολικά ο αριθμός των CNVs ήταν 351 (1-3/ασθενή): 147 (42%) ελλείμματα, 106 (30%) διπλασιασμοί, 89 (25%) περιοχές απώλειας ετεροζυγωτίας (LCSH) και 9 (3%) ανευπλοειδίες. Από το σύνολο των ευρημάτων, 143 (41%) χαρακτηρίστηκαν παθολογικά, 143 (41%) η κλινική σημασία παρέμεινε άγνωστη, ενώ 61 (18%) χαρακτηρίζονται καλοήγη. Ευρήματα συμβατά με τον κλινικό φαινότυπο του ασθενούς ανιχνεύθηκαν σε 126 (11%) ασθενείς. Ωστόσο, η αναλογία CNVs άγνωστης κλινικής σημασίας ήταν αρκετά υψηλή (41% όλων των ευρημάτων). Οι συγγραφείς καταλήγουν στο συμπέρασμα πως η δυνατότητα να ανιχνεύονται χρωμοσωμικές ανωμαλίες έχει υπερβεί την ικανότητά μας να κατανοήσουμε το ρόλο τους στη νόσο. Έτσι, η ερμηνεία των ευρημάτων παραμένει ένα μάλλον δύσκολο έργο που απαιτεί στενή συνεργασία μεταξύ των κλινικών γενετιστών, των κυτταρογενετιστών και των μοριακών βιολόγων.

Λίγο αργότερα, οι Vianna G.S. et al το 2015 μελέτησαν με την μεθοδολογία του μοριακού καρυοτύπου 200 ασθενείς με νοητική υστέρηση ή/και συγγενείς ανωμαλίες που θα μπορούσαν να αποδοθούν σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Σε 43/200 (21,5%) των ασθενών, και ειδικότερα σε 25/98 (25.5%) άρρενες και σε 22/102 (21.57%) θήλεα ανιχνεύτηκαν 47 παθολογικά CNVs. Τα 33 από αυτά θεωρήθηκαν κλινικά σημαντικά, επιτυγχάνοντας διάγνωση σε ποσοστό 16,5%. Τα μεγέθη των CNVs είχαν εύρος από 102 Kb σε 24Mb στα ελλείμματα και από 115 Kb σε 140Mb στους διπλασιασμούς. Σε 10/47 (21.3%) των ασθενών, οι χρωμοσωμικές ανακατατάξεις περιελάμβαναν το Χ χρωμόσωμα. 39 ασθενείς είχαν μόνο μία χρωμοσωμική ανακατάταξη ενώ 2 συνδυασμένες χρωμοσωμικές ανωμαλίες

ανιχνεύτηκαν σε 4 ασθενείς. Δέκα στα 47 CNVs (21.3%) ήταν >5Mb σε μέγεθος. 15 ασθενείς είχαν CNVs που σχετίζονται με γνωστά σύνδρομα. Η συγκεκριμένη μελέτη επισημαίνει την σημασία των υπομικροσκοπικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών στην αιτιολογία της νοητικής υστέρησης ή/και συγγενών ανωμαλιών και προτείνει την αντικατάσταση του συμβατικού καρυότυπου με array-CGH ως πρώτο διαγνωστικό εργαλείο σε ασθενείς με συγγενείς ανωμαλίες ή /και νοητική υστέρηση.

Μεταγενέστερα οι Pratte-Santos R et al, το 2016 σε μία αναδρομική μελέτη (2012-2014), περιέλαβαν 39 ασθενείς με μοριακό καρυότυπο που παρουσίαζαν συγγενείς ανωμαλίες, δυσμορφικά χαρακτηριστικά, νοητική υστέρηση και φυσιολογικό κλασικό καρυότυπο. Συμπέραναν ότι είκοσι έξι (66,7%) ασθενείς είχαν φυσιολογικά αποτελέσματα και 13 (33,3%) είχαν χρωμοσωμικές ανακατατάξεις εκ των οποίων οι 6 (15,4%) ήταν παθολογικά CNVs, οι άλλες 6 ήταν άγνωστης κλινική σημασίας και η 1 (2,5%) ήταν πολυμορφική περιοχή. Συμπεραίνουν πως τα μικροελλείμματα εμφανίζονται συχνότερα από τους μικροδιπλασιασμούς και ότι οι τελευταίοι προκαλούν ηπιότερο φαινότυπο, ενώ συστήνουν τον μοριακό καρυότυπο ως διαγνωστικό εργαλείο σε άτομα με συγγενείς ανωμαλίες, δυσμορφικά χαρακτηριστικά και νοητική υστέρηση.

Στην παρούσα μελέτη τα αποτελέσματα που προκύπτουν ενισχύουν την διαγνωστική απόδοση του μοριακού καρυότυπου καταδεικνύοντας συγχρόνως την ετερογένεια στα μοριακά ευρήματα σε 197 ασθενείς με πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες ή και ΝΥ/ΔΑΦ. Η ερμηνεία των παθολογικών CNVs που κληρονομούνται από τον έναν από τους δύο φυσιολογικούς γονείς πρέπει να είναι επιφυλακτική, καθώς πολλές φορές η κληρονομικότητα χαρακτηρίζονται από ατελή διεισδυτικότητα που οδηγεί σε διαφορετική κλινική εικόνα σε άτομα με όμοιες χρωμοσωμικές ανακατατάξεις.

Γενική παρατήρηση από τη συγκέντρωση των ευρημάτων της παρούσας μελέτης είναι ότι τα ελλείμματα σχετίζονται με σοβαρότερο φαινότυπο συγκριτικά με τους μικροδιπλασιασμούς και ότι τα μεγαλύτερου μεγέθους CNVs έχουν σοβαρότερες επιπτώσεις στον κλινικό φαινότυπο

εφόσον περιλαμβάνονται περισσότερα γονίδια κρίσιμης σημασίας (Fanciulli et al 2009).

Στη συνέχεια ταξινομούνται αρχικά ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών με διάφορες πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες και ακολούθως διαχωρίζεται η ομάδα ασθενών που είχαν συγγενείς καρδιοπάθειες με ή χωρίς άλλες συγγενείς ανωμαλίες.

Δ1. Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών με διάφορες πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες όπου ανιχνεύτηκαν γνωστά σύνδρομα που σχετίζονται με τον κλινικό φαινότυπο

Γνωστά σύνδρομα μικροελλειμμάτων και μικροδιπλασιασμών που έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία εντοπίστηκαν σε συνολικά 61/197 ασθενείς (27/61 αρρενα και 34/61 θήλεα), ηλικίας από 1 μηνός έως 35 ετών.

Σύνδρομο μικροελλείμματος/μικροδιπλασιασμού 1p36

Το σύνδρομο μικροελλείμματος/μικροδιπλασιασμού 1p36 (OMIM 607872) εντοπίστηκε σε 5 ασθενείς (n= 27, 28, 29, 54, 55) που είχαν ευπλοειδικό καρυότυπο όπως έδειξε προηγούμενος έλεγχος.

Το σύνδρομο μικροελλείμματος/ μικροδιπλασιασμού 1p36 αποτελεί ένα από τα συχνότερα αναγνωρισμένα με την μεθοδολογία του μοριακού καρυοτύπου σύνδρομα, με επίπτωση 1/5000 γεννήσεις και αναφέρεται ότι προσβάλλει περισσότερο τα κορίτσια από τα αγόρια (Battaglia et al 2008).

Τα κύρια κλινικά στοιχεία του συνδρόμου μικροελλείμματος 1p36 είναι αναπτυξιακή καθυστέρηση, νοητική υστέρηση, υποτονία (100%) και ακολουθούν σπασμοί (75%) και συγγενείς καρδιοπάθειες (40%), ενώ επίσης πολύ συχνά είναι η μικροκεφαλία, προβλήματα ακοής και συγγενείς

ανωμαλίες από τα άκρα. Όσον αφορά τον μικροδιπλασιασμό 1p36, στις φαινοτυπικές εκδηλώσεις περιλαμβάνονται νοητική υστέρηση, σπασμοί, συγγενής καταρράκτης, ατρησία ρινικών χοανών και ποικιλία δυσμορφιών από το πρόσωπο, όπως ευρείες βλεφαρικές σχισμές, ευρεία βάση μύτης, μακροστομία, ανωμαλίες ώτων, ανωμαλίες οδόντων (Giannikou K et al 2012). Στην παρούσα μελέτη από τους 4/5 ασθενείς διαπιστώθηκε μικροέλλειμμα 1p36 (n=27, 28, 29, 54) ενώ σε 1/5 ασθενείς διαπιστώθηκε μικροδιπλασιασμός 1p36 (n=55). Σε 2/5 από τους ασθενείς βρέθηκαν επιπλέον χρωμοσωμικές αναδιατάξεις που πιθανόν να συμπληρώνουν τον κλινικό φαινότυπο, όπως del 22q11.2-q11.22 (n=54) και del 22q13.33 (n=55).

Η συσχέτιση γονότυπου-φαινότυπου σε ασθενείς με ανακατατάξεις 1p36 είναι δύσκολη λόγω φαινοτυπικής ετερογένειας μεταξύ των ασθενών που έχουν διαφορετικού μεγέθους ανακατατάξεις. Γενικά οι φαινότυποι σε σοβαρούς σε μέγεθος μικροδιπλασιασμούς είναι ηπιότεροι συγκρινόμενοι με φαινότυπους που προκαλούνται από μικροελλείμματα στην ίδια περιοχή.

Οι δικοί μας ασθενείς έχουν ένα ευρύ φαινοτυπικό φάσμα και είναι ενδιαφέρον ότι φέρουν από τις μικρότερες σε μέγεθος ανακατατάξεις που έχουν καταγραφεί ενώ περιλαμβάνουν την σημαντική περιοχή του κλασικού συνδρόμου μικροελλείματος/ μικροδιπλασιασμού 1p36.

Αναφέρεται ότι η απλοανεπάρκεια σε γειτονικά αλλά λειτουργικώς μη συσχετιζόμενα γονίδια μπορεί να είναι υπεύθυνη για τις φαινοτυπικές εκδηλώσεις ή/και την φαινοτυπική ποικιλομορφία (positional effect). Υπάρχει όμως η πιθανότητα η ποικίλη εκφραστικότητα και η μειωμένη διεισδυτικότητα του συνδρόμου μικροελλείματος/μικροδιπλασιασμού 1p36 να εξαρτάται, εκτός από το σημείο τομής και από επιγενετικούς ή/ και άλλους τροποποιητικούς παράγοντες.

Ένα από τα υποψήφια αιτιολογικά γονίδια του συνδρόμου είναι το γονίδιο *SKI* το οποίο έχει συσχετιστεί με διατακτική μυοκαρδιοπάθεια και άλλες δομικές συγγενείς καρδιοπάθειες που απαντώνται σε 29% και 73% των ασθενών με μικροέλλειμμα 1p36 αντίστοιχα. Επιπλέον η απλοανεπάρκεια αυτού του γονιδίου ίσως συσχετίζεται με νευροαναπτυξιακές διαταραχές και

δυσμορφικά χαρακτηριστικά. Άλλο σημαντικό γονίδιο είναι το *GABRD* με σημαντικό ρόλο ειδικά σε σπασμούς που σχετίζονται με μερική μονοσωμία 1p36.

Από τους 5 ασθενείς μας οι 2/5 είχαν συγγενείς καρδιοπάθειες, οι 3/5 νευροαναπτυξιακή καθυστέρηση, ο 1/5 σπασμούς ενώ κανένας δεν είχε ιστορικό νευροβλαστώματος που έχει συσχετιστεί με το σύνδρομο μικροελλείμματος 1p36.

Σύνδρομο Kleefstra

Άλλο σύνδρομο πολλαπλών συγγενών ανωμαλιών που εντοπίστηκε σε 4 ασθενείς μας (n= 33, 34, 58, 59) με τη τεχνολογία του συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού (array-CGH) είναι το σύνδρομο Kleefstra.

Το σύνδρομο Kleefstra (9q subtelomeric deletion syndrome) οφείλεται είτε σε υπομικροσκοπικό έλλειμμα της περιοχής 9q34.4 ή σε μετάλλαξη του γονιδίου euchromatin histone methyltransferase 1 (*EHMT1*), με αποτέλεσμα την απλοανεπάρκειά του. Έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα 85 ασθενείς, η πλειονότητα των οποίων (85%) είχε μικροέλλειμμα 9q34.4 (Willemsen M.H et al).

Οι 4 ασθενείς μας με σύνδρομο Kleefstra (n= 33, 34, 58, 59) είχαν παραπεμφθεί για γενετική εκτίμηση στο Ιατρείο Κλινικής Γενετικής του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής, λόγω πολλαπλών συγγενών ανωμαλιών, αναπτυξιακής/ νοητικής υστέρησης, ή/ και δυσμορφικών στοιχείων, ενώ προηγούμενος έλεγχος είχε δείξει φυσιολογικό καρυότυπο. Το διάμεσο μικροέλλειμμα 9q34.4 που διαπιστώθηκε (2 de novo και 1 μητρικής προέλευσης), είχε μέγεθος από 0.6Mb έως 3.12Mb.

Ένα από τα κύρια γονίδια που θεωρούνται υπεύθυνα για τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με το σύνδρομο είναι το *EHMT1* (παράγοντας καταστολής της μεταγραφής με σημαντικό ρόλο στο κυτταρικό κύκλο), που ενοπίστηκε σε 3 από τους 4 ασθενείς (n=33,34,59). Άλλα γονίδια του

συνδρόμου Kleefstra είναι το γονίδιο *LHX3* (μεταγραφικός παράγοντας απαραίτητος για την ανάπτυξη της υπόφυσης) και το γονίδιο *NOTCH1*, που εντοπίστηκαν σε 1 ασθενή (n=58) και το οποίο εμπλέκεται στα αρχικά σηματοδοτικά μονοπάτια της ανάπτυξης. Σε δύο ακόμη ασθενείς εντοπίστηκαν άλλα σημαντικά γονίδια στην ίδια περιοχή, όπως το *AGPAT2* (n=34, 58). Άλλες επιπρόσθετες παθογενετικές ανακατατάξεις που εντοπίστηκαν σε 2 ασθενείς (n=58, 59) μπορεί να συμβάλλουν στον σοβαρότερο φαινότυπό τους, δρώντας ως επιπρόσθετοι τροποποιητικοί παράγοντες των κλινικών εκδηλώσεων.

Σύνδρομο μικροελλείμματος 3p

Το σύνδρομο μικροελλείμματος 3p που περιλαμβάνει το έλλειμμα της περιοχής 3p25-p26 είναι ένα σπάνιο χρωμοσωμικό σύνδρομο αναγνωρισμένο με την τεχνολογία array CGH και σχετίζεται με δυσμορφικά χαρακτηριστικά, μικροκεφαλία, ψυχοκινητική καθυστέρηση και αναπτυξιακή καθυστέρηση. Το ελάχιστο έλλειμμα που προκαλεί την νόσο είναι μεγέθους 1,5 Mb και υπάρχει ισχυρή συσχέτιση της σοβαρότητας της νόσου με το μέγεθος του ελλείμματος, καθώς ο φαινότυπος μπορεί να ποικίλει από φυσιολογικός έως σοβαρός. Επιπρόσθετες παθολογικές ανακατατάξεις ίσως συμβάλλουν στην σοβαρότητα του σύνθετου φαινοτύπου τους (Nevado J et al 2014).

Από την μελέτη μας προέκυψε η διάγνωση του συνδρόμου 3p σε δύο ασθενείς (n=11, 12) που είχαν ψυχοκινητική καθυστέρηση, ποικίλες συγγενείς ανωμαλίες και δυσμορφικά χαρακτηριστικά και φυσιολογικό καρυότυπο σε προηγούμενο έλεγχο.

Στους ασθενείς μας το μικροέλλειμμα 3p25-p26 κυμαίνεται σε μέγεθος από 1.9Mb έως 11.3Mb και περιελάμβανε τα γονίδια *CRBN*, *CNTN4*, *CHL1*, *LRRN1* and *SRGAP3*. Το γονίδιο *CHL1* εδράζεται στην περιοχή 3p26.3, κοντά στα γονίδια *CRBN* και *CNTN4* και λόγω της μεγάλης έκφρασής του στον

εγκέφαλο θεωρείται ως το κύριο γονίδιο για την πρόκληση μη ειδικής νοητικής υστέρησης.

Σύνδρομο μικροελλείμματος/μικροδιπλασιασμού 17q21.31

Σε τρεις άλλους ασθενείς μας που είχαν ελάχιστονες συγγενείς ανωμαλίες, νοητική υστέρηση και φυσιολογικό κλασικό καρυότυπο, η μοριακή ανάλυση με array-CGH διέγνωσε CNV στην περιοχή 17q21.31 και συγκεκριμένα σε 2 ασθενείς μικροέλλειμμα (n=36, 60) και σε 1 ασθενή μικροδιπλασιασμό 17q21.31 (n=35). Η τελευταία περίπτωση του μικροδιπλασιασμού 17q21.31 αποτελούσε την 7^η γνωστή αναφορά στη διεθνή βιβλιογραφία και περιλαμβάνεται στη σχετική δημοσίευση (Kisiou-Tzeli et al 2011), ενώ έκτοτε έχει περιγραφεί ακόμη μία περίπτωση μικροδιπλασιασμού 17q21.31 (Natacci et al 2016).

Στην περιοχή 17q21.31 εντοπίζονται τουλάχιστον έξι κρίσιμα για το φαινότυπο γονίδια, με σημαντικότερα τα *STH*, *MAPT* και *KANSL1*. Η επίπτωση του συνδρόμου μικροελλείμματος 17q21.31 εκτιμάται σε 1:16000 και οι κύριες φαινοτυπικές εκδηλώσεις είναι συγγενείς ανωμαλίες (καρδιάς, νεφρών, σκελετού), δυσμορφίες προσώπου, ΝΥ ποικίλου βαθμού και διαταραχές αυτιστικού φάσματος (Ciaccio et al 2016). Ο φαινότυπος που σχετίζεται με μικροδιπλασιασμούς 17q21.31 φαίνεται να είναι ηπιότερος σε σχέση με τα σύνδρομα μικροελλείμματος 17q21.31 (Mc Cormack A et al 2014).

Από τους ασθενείς μας ο πρώτος (n=60) με del 17q21.31 (580Kb) γεννήθηκε με φυσιολογικό τοκετό μετά από ανεπίπλεκη κύηση 38 εβδομάδων. Η περιγεννητική περίοδος ήταν ομαλή. Κατά την γέννηση είχε βάρος 3500g (50^η ΕΘ), μήκος σώματος 52cm (75^η ΕΘ) και περίμετρο κεφαλής 35cm (50^η ΕΘ). Η σωματική και ψυχοκινητική εξέλιξη ήταν φυσιολογική μέχρι την ηλικία των 7 μηνών, ενώ στη συνέχεια καθυστέρησε αφού κάθησε χωρίς υποστήριξη 10 μηνών και περπάτησε 17 μηνών, ενώ σε ηλικία 3-4 ετών διαγνώστηκαν διαταραχές του φάσματος αυτισμού. Σε ηλικία

των 7 ετών δεν είχε προφορικό λόγο, εμφάνισε στερεοτυπίες, ήταν υπερκινητικός και απομονωμένος. Ο ακουολογικός έλεγχος ήταν φυσιολογικός, όπως και ο καρυότυπος (46,XY) καθώς ο μοριακός έλεγχος για το σύνδρομο εύθραυστου-X. Η MRI εγκεφάλου αποκάλυψε εστίες γλοίωσης/καθυστερημένης μυελίνωσης στη λευκή ουσία όπισθεν και άνωθεν των ινιακών κεράτων των πλαγίων κοιλιών καθώς και μικρή αραχνοειδή κύστη αριστερού κροταφικού βόθρου. Στο ΗΕΓ διαπιστώθηκαν εκφορτίσεις αιχμηρών κυμάτων εστιακού τύπου αριστερού κροταφικού λοβού. Παρά την απουσία κλινικών κρίσεων επιληψίας, πιθανολογήθηκε το σύνδρομο Landau-Kleffner για το οποίο υπεβλήθη σε αγωγή με Lamotricine για 6 μήνες, χωρίς όμως αποτέλεσμα στην παραγωγή λόγου. Στον φαινότυπο παρατηρήθηκαν στενές βλεφαρικές σχισμές με αντιμογγολοειδή φορά, λεπτό άνω χείλος, μεγάλα προέχοντα ώτα και έντονο φίλτρο.

Ο δεύτερος ασθενής μας (n=36) με del 17q21.31-q21.32 (810kb) γεννήθηκε με φυσιολογικό τοκετό μετά από ανεπίπλεκτη τελειόμηνη κύηση, με βάρος 3450g (50^η ΕΘ), μήκος σώματος 52cm (75^η ΕΘ) και περίμετρο κεφαλής 37,5cm (75^η ΕΘ). Η ψυχοκινητική εξέλιξη ήταν ομαλή μέχρι την ηλικία των 18 μηνών, με σταδιακή καθυστέρηση μετέπειτα. Η MRI εγκεφάλου, ο ακουολογικός έλεγχος, ο μοριακός έλεγχος για το σύνδρομο εύθραυστου-X καθώς και ο καρυότυπος (46,XY), ήταν φυσιολογικά. Σε ηλικία 15 ετών παρατηρήθηκε μέτρια ΝΥ (νοητικό πηλίκο 67), μακροκεφαλία με περίμετρο κεφαλής 57cm (97^η ΕΘ) και ιδιότυπος φαινότυπος: στενές βλεφαρικές σχισμές με αντιμογγολοειδή φορά, μακρύ φίλτρο, λεπτό άνω χείλος, μακρογναθία και οριζόντιο έντονο εντύπωμα κάτω γνάθου.

Η τρίτη ασθενής (n=35) με μητρικής προέλευσης dup 17q21.31-q21.32 (810kb) γεννήθηκε με καισαρική τομή λόγω υπέρτασης της μητέρας, μετά από κύηση διάρκειας 40 εβδομάδων, με βάρος σώματος 2500g (10^η ΕΘ), μήκος 48cm (25^η ΕΘ), περίμετρο κεφαλής 33cm (10^η ΕΘ) και φυσιολογικό Apgar Score. Σε ηλικία 10 μηνών διαγνώστηκε μικρή μεσοκολπική επικοινωνία με ροή από δεξιά προς τα αριστερά Qp/Qs:1,2 και διαφυγή από τη μιτροειδή βαλβίδα. Στην ηλικία 3 ετών διαγνώστηκαν σοβαρά προβλήματα

συμπεριφοράς εκσεσημασμένη παχυσαρκία και υπέρταση. Κατά τη διάρκεια επανειλημμένων εισαγωγών στο νοσοκομείο αποκλείστηκε μεταβολική, ενδοκρινολογική ή άλλη συστηματική νόσος. Τα αποτελέσματα CT/MRI εγκεφάλου, ΗΕΓ και υπερηχογραφικού ελέγχου του ουροποιητικού ήταν φυσιολογικά. Ο ενδελεχής αιματολογικός, βιοχημικός, ενδοκρινολογικός, οφθαλμολογικός και ακουσολογικός έλεγχος δεν αποκάλυψαν παθολογικά ευρήματα. Ο καρυότυπος ήταν φυσιολογικός (46,XX) και η μοριακή ανάλυση με FISH για το σύνδρομο Prader-Willi αρνητική. Στην ηλικία των 10 ετών εμφάνισε εμμηναρχή, είχε σωματομετρικά στοιχεία στην 90-97^η ΕΘ και λόγω επιδείνωσης των προβλημάτων συμπεριφοράς και εκρήξεων θυμού ετέθη σε Risperidone. Στην ηλικία των 18 ετών κατά τη νευρολογική εξέταση επισημάνθηκαν βάδισμα ευρείας βάσης, με δυσχέρεια επί ευθείας γραμμής, καθώς και διατήρηση του αριστερού κάτω άκρου σε έξω στροφή. Οι παρεγκεφαλιδικές δοκιμασίες έδειξαν ήπια αταξία. Διατηρούσε μερικώς τον προσανατολισμό σε χώρο/ χρόνο, ο λόγος της ήταν φτωχός σε περιεχόμενο, ενώ παρά την έγκαιρη λογοθεραπεία/εργοθεραπεία, δεν ήταν ικανή να διαβάζει και να γράφει ικανοποιητικά. Η MRI εγκεφάλου ανέδειξε μικρή κύστη κωναρίου, διαμέτρου 1.5cm, χωρίς πιεστικά φαινόμενα στο τετράδυμο πέταλο. Η ασθενής δεν ανέφερε ναυτία ή κεφαλαλγία και αποκλείστηκαν: υποφυσιακή ανεπάρκεια/διαταραχή, άποιος διαβήτης και διαταραχές όρασης. Επίσης ο έλεγχος ήταν αρνητικός για νεόπλασμα εμβρυικής προέλευσης (β-HGH, aFP).

Κλινική γενετική εξέταση, έγινε για πρώτη φορά σε ηλικία 18 ετών. Εμφάνιζε παχυσαρκία, επίπεδο αιμαγγείωμα δεξιάς κροταφικής χώρας, ήπια εξωφορία αριστερά, κοντή μύτη με προέχον ακρορρίνιο, λείο φίλτρο, μικρογναθία και καθολική ήπια υπερτρίχωση στο κορμό.

Η περίπτωση αυτή μικροδιπλασιασμού διαφέρει από τις προηγούμενες περιπτώσεις της βιβλιογραφίας επειδή έχει σοβαρή παχυσαρκία, υπερτρίχωση και εκρήξεις θυμού. Είναι ενδιαφέρον ότι η μητέρα που έχει τον ίδιο μικροδιπλασιασμό χωρίς άλλα φαινοτυπικά ευρήματα έχει διπολική διαταραχή υπό θεραπεία ενώ ο αδερφός της ασθενούς που δεν έχει ελεγχθεί

με μοριακό καρυότυπο έχει διαγνωσθεί με σχιζοφρένεια καταδεικνύοντας την ποκίλη εκφραστικότητα του συνδρόμου.

Τα αποτελέσματα μας από την μελέτη του γονιδιακού περιεχομένου της περιοχής CNV 17q21.31 στους ανωτέρω 3 ασθενείς επιβεβαιώνουν κατ'αρχήν ότι το γονίδιο *MAPT* είναι υπεύθυνο για τις μείζονες φαινοτυπικές εκδηλώσεις του συνδρόμου. Επίσης επιβεβαιώνεται η ποικιλομορφία του μικροδιπλασιασμού 17q21.31 ενώ η συνύπαρξη και δεύτερου CNV σε έναν ασθενή μας με del Xq28 (n=60) καταδεικνύει ότι επιπρόσθετες ανακατατάξεις μπορούν να συντελέσουν σε πιο σοβαρή φαινοτυπική εκφραση.

Σύνδρομο Jacobsen

Άλλο σύνδρομο που εντοπίστηκε σε νεογνό θήλυ (n=23) είναι το σύνδρομο Jacobsen. Στην ασθενή μας η χρωμοσωμική ανάλυση έδειξε de novo έλλειμμα στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 11 [46,XXdel(11)(q23.3→qter)], που χαρακτηρίζει το σύνδρομο Jacobsen, ενώ με την εφαρμογή του μοριακού καρυοτύπου, καθορίστηκε με ακρίβεια το μέγεθος του ελλείμματος (14,7Mb) και το γονιδιακό περιεχόμενο. Η μοριακή βάση του συνδρόμου έγκειται σε έλλειμμα στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος μεγέθους 7-20Mb. Τα σημεία θραύσης εντοπίζονται στην άπω περιοχή της ζώνης 11q23.3 [del(11)(q23→qter)], ενώ μεγαλύτερα ελλείμματα φαίνεται ότι οδηγούν σε θάνατο στην εμβρυϊκή περίοδο.

Το σύνδρομο Jacobsen (OMIM 147791) συνιστά μια καλά περιγεγραμμένη κλινική οντότητα και παρατηρείται με συχνότητα 1:100,000 γεννήσεις, διπλάσια στα θήλεα σε σχέση με τα αρρενα. Για πρώτη φορά περιγράφηκε το 1973 από τους Jacobsen et al σε οικογένεια πολλά μέλη της οποίας έφεραν μη ισοζυγισμένη μετάθεση 11;21 κληρονομούμενη από το γονέα-φορέα ισοζυγισμένης μετάθεσης (Jacobsen et al, 1973).

Μέχρι σήμερα, περισσότερες από 200 περιπτώσεις του συνδρόμου Jacobsen έχουν καταγραφεί διεθνώς. Αν και παρατηρείται σημαντική ετερογένεια, συνήθη κλινικά ευρήματα αποτελούν η τριγωνοκεφαλία,

δύσμορφα χαρακτηριστικά προσώπου (όπως τηλέκανθος, υπερτελορισμός, επίκανθος, θολωτή υπερώα, ευρεία/καθίζηση βάσης ρινός, μικρογναθία, δυσπλαστικά ώτα), βραχύς αυχένας, ανατομικές καρδιακές ανωμαλίες, ψυχοκινητική υστέρηση και υπολειπόμενη ανάπτυξη, ενώ μπορεί να συνυπάρχει από τη νεογνική περίοδο θρομβοπενία λόγω λειτουργικής διαταραχής αιμοπεταλίων, γνωστή και ως Paris-Trousseau σύνδρομο.

Η ασθενής της μελέτης με το σύνδρομο Jacobsen είχε ως στοιχεία παραπομπής θρομβοπενία, ιδιόμορφα χαρακτηριστικά προσώπου, καρδιαγγειακές ανωμαλίες και πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες άνω και κάτω άκρων (Λεζέ και άλλοι 2012). Αναλυτικότερα πρόκειται για το δεύτερο παιδί υγιών φαινοτυπικά γονέων καυκάσιας φυλής (μητέρα 36 ετών και πατέρα 40 ετών). Γεννήθηκε μετά από κύηση διάρκειας 38 εβδομάδων με καισαρική τομή λόγω ισχιακής προβολής. Τα σωματομετρικά στοιχεία κατά τη γέννηση ήταν βάρος 3350g (50^η ΕΘ), μήκος σώματος 48,5cm (50^η ΕΘ) και περίμετρος κεφαλής 37,5cm (97^η ΕΘ). Στη νεογνική περίοδο και συγκεκριμένα σε ηλικία 8 ημερών διεκομίσθη από το μαιευτήριο σε μονάδα νεογνών (MENN) λόγω εργαστηριακά διαπιστωμένης θρομβοπενίας (PLTs: 81.000/κκχ).

Κατά την νοσηλεία της στη MENN, η κλινική γενετική εκτίμηση ανέδειξε πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες: μακροκεφαλία, ευρεία βάση ρινός και καθίζηση αυτής, μικρές βλεφαρικές σχισμές, θολωτή υπερώα, ανώμαλη ελίκωση πτερυγίων ώτων άμφω, κλινοδακτυλία 5^{ου} δακτύλου άνω άκρων άμφω με συνοδό διόγκωση των εγγύς φαλαγγικών αρθρώσεων, βραχεία και οίδηματώδη κάτω άκρα, ραιβοϊπποποδία, δυσκαμψία ποδοκνημικής άρθρωσης και τέλος εφίππευση δακτύλων άκρου ποδός άμφω (3^{ου}-4^{ου} αριστερά και 4^{ου}-5^{ου} δεξιά).

Ο καρδιολογικός υπερηχογραφικός έλεγχος ανέδειξε διάταση δεξιών καρδιακών κοιλοτήτων, ανοικτό ωοειδές και ήπια στένωση αριστερής πνευμονικής. Κατά το καθετηριασμό καρδιάς μοναδικά ευρήματα ήταν η παρουσία αζύγου φλέβας (φυσιολογική παραλλαγή) και μετρίως αυξημένες πιέσεις πνευμονικής κυκλοφορίας.

Η οφθαλμολογική εξέταση-βυθοσκόπηση ήταν αρνητική για παθολογικά ευρήματα. Ο υπερηχογραφικός έλεγχος NOK δεν ανέδειξε συγγενή ανωμαλία και ο έλεγχος συγγενών λοιμώξεων απέβη αρνητικός. Ο έλεγχος της πηκτικότητας αίματος προς διερεύνηση της θρομβοπενίας έδειξε PLT 81,000, PT:14.10, PTT:55.08, INR:1.22, d-dimers: 2.96, ινωδογόνο:2.12.

Ο υπερηχογραφικός έλεγχος εγκεφάλου ανέδειξε ασυμμετρία κοιλιών, πιθανή λέπτυνση μεσολοβίου και υποεπενδυματική κύστη διαμέτρου 0.95cm καθώς και επασβέστωση στην πορεία των φακο- και θαλαμοραβδωτών αρτηριών. Σε διερεύνηση με MRI εγκεφάλου διαπιστώθηκε απουσία μυελίνωσης σε εν τω βάθει δομές, όπως στα πρόσθια σκέλη της έσω κάψας, στο ραχιαίο τμήμα της γέφυρας και στη μέλαινα ουσία, ενώ επίσης απεικονίζονταν μερικές υποφλοιώδεις κύστες στους μετωπιαίους λοβούς και μία μεγαλύτερη στην περιοχή των βασικών γαγγλίων αριστερά, που χαρακτηρίστηκαν ως συμβατά με λευκοεγκεφαλοπάθεια (υπομυελίνωση).

Η ανάλυση array-CGH έδειξε έλλειμμα μεγέθους 14.7Mb, στην περιοχή 11q23.3-q25 μεταξύ των θέσεων 119.7 και 134.43Mb όπου περιέχονται πολλά γονίδια (*FLI1*, *ETS1*, *CHEK1*, *BARX2*, *JAM3*, *ADAMTS8*, *ADAMTS15*, *PANX3*, *FOXRED1*, *KCNJ1*, *B3GAT1*, *BSX*, *NRGN*, *FEZ1*, *RICS*, *OPCML*) που εξηγούν τον σύνθετο φαινότυπό της. Όσον αφορά το γονίδιο *FLI1* τόσο in vitro όσο και in vivo στοιχεία αναδεικνύουν τον καθοριστικό του ρόλο στη διαφοροποίηση των μεγακαρυοκυττάρων και την διαλληλική έκφραση σε στάδια μεγακαρυοποίησης.

Cat-Eye σύνδρομο

Το γνωστό κυτταρογενετικό σύνδρομο Cat-Eye (CES) εντοπίστηκε σε κορίτσι 9 μηνών (n=18). Πρόκειται για κορίτσι, που γεννήθηκε με φυσιολογικό τοκετό μετά από ανεπίπλεκτη κύηση 39 εβδομάδων. Η περιγεννητική περίοδος ήταν ομαλή και είχε βάρος γέννησης 3160g (50^η ΕΘ), μήκος σώματος 51 (50^η ΕΘ) και περίμετρο κεφαλής 36cm (90^η ΕΘ). Το παιδί

παραπέμφθηκε για γενετική εκτίμηση σε ηλικία 2 μηνών λόγω αμφοτερόπλευρων προωτιαίων επαρμάτων, κολοβωμάτων ίριδας, μικροφθαλμίας και ψηλαφητής τραχηλικής μάζας στη μεσαία γραμμή. Το βρέφος παρουσίαζε χαμηλή πρόσφυση ωτών, επίκανθο, ευρεία βάση της ρινός, οπισθομικρογναθία, χαμηλή πρόσφυση βλεφαρικών σχισμών, βραχύ φίλτρο. Η οφθαλμολογική εκτίμηση αποκάλυψε κολοβώματα ίριδας, αμφιβληστροειδούς και χοριοειδούς αμφοτερόπλευρα. Ο ακουσολογικός, καρδιολογικός και υπερηχογραφικός έλεγχος κοιλίας και εγκεφάλου ήταν φυσιολογικά. Σε ηλικία 9 μηνών είχε φυσιολογική σωματική και ψυχοκινητική ανάπτυξη και παραπέμφθηκε για υπερηχογράφημα του τραχήλου που αποκάλυψε μάζα 2,4cm x 1,61cm x 2.05cm με ετερογένεια η οποία αφαιρέθηκε χειρουργικά.

Η αρχική εξέταση με καρυότυπο ανέδειξε σε μωσαικό υπεράριθμο marker χρωμόσωμα σε ποσοστό 93%: 47,XX+marker (93%)/46,XX (7%). Ακολούθησε έλεγχος με FISH και διαπιστώθηκε υπεράριθμο χρωμόσωμα 22 (de novo). Στη συνέχεια με την μεθοδολογία του μοριακού καρυοτύπου προσδιορίστηκε το μέγεθος και τα σημεία θραύσης: dup 22q11.1q11.21; size:1.6 Mb; breakpoints: 15,438,946-17,041,773; hg18 του υπεράριθμου χρωμοσώματος 22. Η περιοχή περιέχει 21 γονίδια, όπου περιλαμβάνονται 6 OMIM γονίδια: *ATP6V1E1*, *BID*, *CECR2*, *CCT8L2*, *PEX26*, *SLC25A18*, *psiTPTE22*, *XKR3*, *CECR8*, *GAB4*, *CECR7*, *IL17RA*, *CECR6*, *CECR5*, *CECR1*, *BCL2L13*, *MICAL3*, *C22orf37*, *TUBA8*, *USP18*.

Στην διπλασιασμένη περιοχή περιλαμβάνεται επίσης 1 microRNA:has-mir648. Όσον αφορά το γονίδιο *BID*, αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα στη συμμετοχή της νοητικής υστέρηση των CES ασθενών (Tzetis M et al 2012), ενώ για το γονίδιο *CECR1* αναφέρεται σημαντική συμμετοχή του σε ανωμαλίες προσώπου και καρδιάς, αν και η δική μας ασθενής δεν είχε καρδιαγγειακό πρόβλημα.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην περίπτωσή μας έχει ότι μετά την αφαίρεση και την ιστολογική εξέταση της τραχηλικής μάζας διαπιστώθηκε πως πρόκειται για ώριμο εξωγοναδικό τεράτωμα, εύρημα που δεν έχει περιγραφεί

προηγούμενως σε συνδυασμό με το CES. Το τεράτωμα τραχήλου αντιπροσωπεύει το 3-5% όλων των τερατωμάτων και είναι μία σπάνια εκδήλωση αναπνευστικής δυσχέρειας. Στον έλεγχο ιστού από το τεράτωμα με τον μοριακό καρυότυπο δεν βρέθηκε ο διπλασιασμός που χαρακτηρίζει το CES, αλλά οι εξής άλλες 3 χρωμοσωμικές ανακατατάξεις: del Xp22.3 (108,864-2788,689; 2.7 Mb hg18), dup Yp11.2 (6688,491-7340,982; 0.65 Mb, hg18), και dup Yq11.2q11.23 (12,570,85327,177,133; 14.61 Mb, hg18). Σύμφωνα με τα ανωτέρω υποδεικνύεται ότι στον ιστό του τερατώματος ο καρυότυπος είναι άρρενος τύπου αποτελώντας τη δεύτερη καταγραφή ώριμου εξωγοναδικού τερατώματος με Y χρωμόσωμα σε θήλυ νεογνό (46,XX) (Tzetzis M et al, 2012). Πιθανολογούμε ότι προέρχεται από διζυγωτικό δίδυμο αντίθετου φύλου (fetus in fetu). Το fetus-in fetu είναι μία σπάνια εκδήλωση με επίπτωση 1/500,000 γεννήσεις και έχουν περιγραφεί μόνο 200 περιπτώσεις διεθνώς.

Άλλα σύνδρομα

Σύνδρομα που αποτελούν συχνά ευρήματα στον διαγνωστικό μοριακό καρυότυπο με αναγνωρισμένη κλινική εικόνα στην πλειονότητα των περιπτώσεων και που εντοπίστηκαν σε ασθενείς μας είναι: το σύνδρομο Williams σε 3 ασθενείς (n=8,9,50), το σύνδρομο WAGR σε 2 ασθενείς (n=6, 7) ενώ σε 5 ασθενείς ανιχνεύθηκε μικροέλλειμμα στην περιοχή 22q11.21 που σχετίζεται με το σύνδρομο DiGeorge (n=13, 14,15,16, 51).

Δ2. Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών με συγγενείς καρδιοπάθειες ή και άλλες συγγενείς ανωμαλίες όπου ανιχνεύθηκαν γνωστά σύνδρομα

Από τους 197 συνολικά ασθενείς που έγινε έλεγχος με μοριακό καρυότυπο, οι 55 είχαν συγγενή καρδιοπάθεια (ΣΚ) και μια τουλάχιστον επιπρόσθετη ένδειξη χρωμοσωμικού φαινότυπου: α) ιδιόμορφο προσωπείο, β) άλλες μεμονωμένες ή πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες (ΠΣΑ), γ) ποικίλου βαθμού νοητική υστέρηση (ΝΥ), ή μαθησιακές δυσκολίες, δ) νευρολογική συνδρομή (Πίνακες 6 Και 7).

Οι Thienpont B και συν το 2007 είχαν μελετήσει για πρώτη φορά 60 ασθενείς με ΣΚ και άλλες συγγενείς ανωμαλίες που είχαν φυσιολογικό κλασικό καρυότυπο και εντόπισαν CNVs στο 30% των περιπτώσεων. Στην μελέτη τους, σε 17% των ασθενών, ορισμένα CNVs βρίσκονταν σε γνωστές γενομικές περιοχές όπου εδράζονται σημαντικά γονίδια για την ανάπτυξη της καρδιάς, όπως *NKX2.5* και *NOTCH1*, αν και στις περισσότερες περιοχές εντοπίστηκαν άλλα γονίδια που δεν συσχετίζονται με ΣΚ.

Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν οι Richards AA και συν το 2008 όταν διερεύνησαν 40 άτομα (20 με μεμονωμένη ΣΚ και 20 με επιπλέον συγγενείς ανωμαλίες ή/ και αναπτυξιακή καθυστέρηση). Σε 5 από τα 20 παιδιά με ΣΚ με επιπρόσθετες συγγενείς ανωμαλίες ανιχνεύτηκαν CNVs (25%), ενώ σε κανένα από τα υπόλοιπα 20 παιδιά με μεμονωμένη ΣΚ δεν εντοπίστηκαν CNVs.

Στην παρούσα μελέτη από τους 55 ασθενείς με ΣΚ ο μοριακός καρυότυπος έδειξε σημαντικές γενομικές ανακατατάξεις (CNVs) σε 37 ασθενείς (67%). Ορισμένοι ασθενείς είχαν περισσότερα του ενός CNVs και συνολικά εντοπίστηκαν 77 ελλείμματα και 22 διπλασιασμοί, μεγέθους από 0.008 Mb έως 19.01 Mb. Στον πίνακα 7 αναφέρονται αναλυτικά σε κάθε ασθενή τα CNVs με την χρωμοσωμική θέση, το μέγεθος και τα σημαντικά γονίδια που σχετίζονται με καρδιοπάθειες (Syrμου A et al, 2013).

Σε 5 ασθενείς επεκτάθηκε ο έλεγχος με την ίδια μεθοδολογία στους γονείς τους και διαπιστώθηκε ότι η γενομική ανακατάταξη ήταν μητρικής

προέλευσης σε δύο περιπτώσεις και de novo στις υπόλοιπες 3 (Πίνακας 7) (n=1, 2, 3, 31, 33).

Σε 29/37 ασθενείς (78%) που είχαν σημαντικές γενομικές ανακατατάξεις CNVs, η ΣΚ αποδόθηκε σε γονίδια που εντοπίζονται στις συγκεκριμένες γενομικές περιοχές που συσχετίζονται με καρδιοπάθειες (*DVL1, CHRD, DISP1, ETS1, KCNJ5, SCN3B, WNT7B, SCO2, ELN, GATA5, COL4A1, ADAMTS1, ADAMTS5, TBX1, DGCR8, KCTD13, TBX6, EMILIN2, MRCL2, MRCL3, MYOM1, LPIN2, LAMA1, CIDEA, KCNG2, TOP3B, TOP3B2, HIC2, CACNA1B, EHMT1, BAG3, NKX1-2, RBFOX1, EDN1, DTNBP1, MYLIP, KCNT1, NOTCH1, MAML1, FLT4, PRKAG3, WNT6, CYP27A1, NEXN, KCNQ1, ADAMTS13, CTNNA3, CACNB2, IGLL3, SLC29A*) (Πίνακας 7). Στους υπόλοιπους 8/37 ασθενείς, στα CNVs που εντοπίστηκαν, δεν περιλαμβάνονταν γνωστά γονίδια που συσχετίζονται με καρδιοπάθεια. (Πίνακας 7).

Μερικά από τα γνωστά σύνδρομα μικρο-ελλειμμάτων και μικρο-διπλασιασμών που εντοπίστηκαν στους ασθενείς μας είναι τα εξής: Di George (3) (εικόνα 8) (n=13, 16, 22), μικροέλλειμμα 1p36 (3) (n=1, 9, 10), υποτελομεριδιακός μικροδιπλασιασμός 9q (3) (εικόνα 9) (n=23, 28, 34), Williams (2) (εικόνα 10) (n=7, 20), CHARGE (1) (n=8), μικροδιπλασιασμός 17q21-31 (1) (n=31) και Jacobsen (1) (εικόνα 11) (n=4).

Η ασθενής με το σύνδρομο Jacobsen (n=4, πίνακας 7, εικόνα 11) είχε διάταση δεξιών καρδιακών κοιλοτήτων, ανοικτό ωοειδές και στένωση περιφερικής πνευμονικής. Στο μικροέλλειμμα μεγέθους 14.7 Mb στην περιοχή 11q23.3-q25 (de novo), που εντοπίστηκε στην ασθενή, περιέχονται γονίδια που συσχετίζονται με καρδιοπάθεια όπως *KCNJ1, SCN3B* και *ETS1*. Το γονίδιο *ETS1*, της οικογένειας των ETS, όπως βρέθηκε σε πειραματικό μοντέλο σε ποντίκια (Ye et al 2010), εκφράζεται στο ενδοκάρδιο και στη νευρική ακρολοφία κατά την πρώιμη διάπλαση της καρδιάς και όταν είναι σε απλοανεπάρκεια ερμηνεύει μερικώς το καρδιολογικό φάσμα του συνδρόμου Jacobsen, όπου περιλαμβάνει και το κλινικό σύνδρομο μικρών αριστερών καρδιακών κοιλοτήτων.

Σε άλλη ασθενή (n=9, πίνακας 7), με δίπτυχη αορτική βαλβίδα, μεσοκοιλιακή επικοινωνία, δεξιό αορτικό τόξο και μονήρη ομφαλική αρτηρία, διαπιστώθηκαν τρία σημαντικά CNVs: α) μικροέλλειμμα μεγέθους 0.08 Mb στην περιοχή 1p36.33 (de novo), β) έλλειμμα μεγέθους 1.164 Mb στην περιοχή 22q11.21-q11.22 (de novo) και γ) έλλειμμα στην περιοχή 20q13.3 μεγέθους 0.098Mb. Τα βασικότερα για την καρδιοπάθεια της ασθενούς γονίδια στα ανωτέρω CNVs θεωρούνται τα *DVL1*, *HIC2*, *TOP3B* και *GATA5* ενώ το ιδιάζον προσωπείο της ασθενούς και οι άλλες πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες αποδίδονται στο συνδυασμό άλλων πολλών παθολογικών γονιδίων των CNVs της.

Ο συνολικός κλινικός φαινότυπος σε ορισμένους ασθενείς θεωρείται ως αποτέλεσμα συνδυασμού περισσότερων του ενός CNVs. Ενώ μεταξύ των ασθενών με πολλαπλά CNVs σε 9/37 περιπτώσεις εντοπίστηκαν μη αναμενόμενες γενομικές ανακατατάξεις σε σχέση με τον κλινικό φαινότυπο της καρδιοπάθειας. Συγκεκριμένα μεταξύ των άλλων ευρημάτων σε έναν ασθενή με μεσοκοιλιακή επικοινωνία και ανοιχτό ωοειδές τρήμα (n=34) διαπιστώθηκε CNV που περιελάμβανε το γονίδιο *KCNQ1* που σχετίζεται με σύνδρομο Long QT ενώ σε δεύτερο ασθενή (n=37) με στένωση αορτικής βαλβίδας διαπιστώθηκε CNV που περιελάμβανε το γονίδιο *CACNB2* που ενέχεται στο σύνδρομο Brugada (Barc J et al 2011, Cordeiro JM et al 2009).

Ακόμη σε επτά άλλες περιπτώσεις (n= 4, 9, 18, 23, 28, 36, 37) εντοπίστηκαν CNVs που συσχετίζονται με διαυλοπάθειες ενώ οι ασθενείς είχαν είχαν διαφορετικό κλινικό φαινότυπο συγγενούς καρδιοπάθειας (Klaver EC et al 2011). Σε κάθε περίπτωση η προσυμπτωματική εντόπιση των ανωτέρων σοβαρών καρδιολογικών νοσημάτων που έχουν απώτερες επιπλοκές συμβάλλει στο σχεδιασμό ιατρικής αντιμετώπισης και στην έγκαιρη παροχή κατάλληλης γενετικής συμβουλευτικής.

Η παρούσα καταγραφή των ασθενών μας με ΣΚ καταδεικνύει ότι CNVs ανιχνεύονται σε σημαντικό αριθμό ασθενών με το ποσοστό μας να αγγίζει το 53% όταν οι συγγενείς καρδιοπάθειες συνδυάζονται με άλλες συγγενείς ανωμαλίες ή νοητική υστέρηση. Τα ευρηματά μας αυτά είναι σε συμφωνία με

την πρόσφατη παρόμοια μελέτη των Xiao-li Wu et al 2017 σε 104 παιδιά με συγγενείς καρδιοπάθειες με ή χωρίς άλλες πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες ή νοητική/ αναπτυξιακή καθυστέρηση. Συγκεκριμένα από τους 21/104 ασθενείς τους που εκτός από συγγενείς καρδιοπάθειες είχαν επιπρόσθετα πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες τα ποσοστά ανίχνευσης παθολογικών CNVs ήταν 23%, ενώ από τους 19/104 ασθενείς τους που εκτός από συγγενείς καρδιοπάθειες είχαν και ΝΥ τα ποσοστά παθολογικών CNVs ήταν 63%.

Οι συγγραφείς καταλήγουν στο συμπέρασμα πως ο μοριακός καρυότυπος μπορεί να βελτιώσει την αιτιολογική διάγνωση των παιδιών με συγγενείς καρδιοπάθειες και τον προτείνουν ως πρώτο διαγνωστικό μέσο κυρίως όταν συνδυάζεται με νοητική/αναπτυξιακή καθυστέρηση.

Πίνακας 6 Οι Συγγενείς Καρδιοπάθειες (≥1) στους ασθενείς της μελέτης που είχαν παθολογικά CNVs

ΚΑΡΔΙΟΠΑΘΕΙΑ	ΑΣΘΕΝΕΙΣ (No)
ΜΕΣΟΚΟΛΠΙΚΗ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑ	1,6,7,11,12,13,14,16,19,21,22,31,34,35,36
ΜΕΣΟΚΟΙΛΙΑΚΗ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑ	2,10,15,16,17,27,28
ΩΘΕΙΔΕΣ ΤΡΗΜΑ	4,7,16,24,32,34
ΣΤΕΝΩΣΗ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ	4,20,24,29
ΒΑΛΒΙΔΟΠΑΘΕΙΕΣ	5,8,9,18,25,30,37
ΣΤΕΝΩΣΗ ΙΣΘΜΟΥ ΑΟΡΤΗΣ	26,27,33
ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΜΙΤΡΟΕΙΔΟΥΣ ΚΑΙ ΤΡΙΓΛΩΧΙΝΑΣ	3,23
ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ	10
ΔΙΧΩΡΗ ΔΕΞΙΑ ΚΟΙΛΙΑ	12
ΣΥΜΦΟΡΗΤΙΚΗ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ	12
ΔΕΞΙ ΑΟΡΤΙΚΟ ΤΟΞΟ	9
ΔΙΑΤΑΣΗ ΑΟΡΤΗΣ	7
ΑΝΕΥΡΥΣΜΑ ΜΕΣΟΚΟΛΠΙΚΟΥ ΔΙΑΦΡΑΓΜΑΤΟΣ	23
ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΑΟΡΤΗΣ	23

Πίνακας 7 Υπομικροσκοπικές ανακατατάξεις (CNVs) σε ασθενείς με Συγγενή Καρδιοπάθεια

Ασθενής	Φαινότυπος	CNVs: Χρωμοσωμική θέση & Μέγεθος (Mb)*	Τρόπος κληρονόμησης	Γνωστό σύνδρομο	Σημαντικά γονίδια καρδιοπάθειας*
1	ΣΚ, ΙΠ, ΠΣΑ	Del 1p36.33(0.717 Mb), Del 3q27.1(0.423Mb), Del 4q21.22q22.1(5.6Mb), Del 16p13.3(2.97Mb)	<i>de novo</i>	Σύνδρομο μικρο-ελλείμματος 1p36.33	<i>DVL1, CHRD</i>
2	ΣΚ, ΠΣΑ, ΝΥ	Dup 1q41(0.37Mb), Del Xp11.3(0.042 Mb), Del Xq21.31(0.118 Mb)	<i>de novo</i>		<i>DISP1</i>
3	ΣΚ, ΝΥ, ΠΣΑ, Ε	Del 16p13.13(0.304Mb)			
4	ΣΚ, ΝΥ, ΠΣΑ, ΙΠ	Del 11q23.3-q25(14.7))	<i>de novo</i>	Σύνδρομο Jacobsen	<i>ETS1, KCNJ5, SCN3B</i>
5	ΣΚ, ΙΠ, ΠΣΑ, Υ	Del 22q13.31q13.33(5.8Mb)			<i>WNT7B, SCO2</i>
6	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ, ΠΣΑ	Del 2q37.3(0.162Mb), Del 10p13(1.03Mb)			
7	ΣΚ, ΝΥ, ΠΣΑ	Del 7q11.21 (0.413Mb)		Σύνδρομο Williams	<i>ELN</i>
8	ΣΚ, ΠΣΑ	Del 2q35 (0.145Mb) Del 7q21.11 (0.021Mb) Del 8p22 (0.74Mb) Del 15q22.31 (0.77Mb) Del 20q13.2 (0.031Mb) Del 22q11.23 (0.25Mb) Del Xp22.12 (0.053Mb)	pat pat & mat pat de novo pat pat de novo	CHARGE	<i>IGLL3</i>
9	ΣΚ, ΙΠ, ΠΣΑ	Del 1p36.33 (0.084Mb) Del 4p16.3 (0.037Mb) Del 8q11.21 (0.04Mb) Del 20q13.3 (0.098Mb) Del 22q11.21-q11.22 (1.164Mb)		Σύνδρομο μικρο-ελλείμματος 1p36.33	<i>DVL1, GATA5, HIC2, TOP3B</i>
10	ΣΚ, ΙΠ, ΠΣΑ, ΝΥ, Υ, Ε	Del 1p36.33-p36.32 (2.778Mb) Dup 21q2-q21.3 (0.58Mb)		Σύνδρομο μικρο-ελλείμματος 1p36.33	<i>DVL1</i>
11	ΣΚ, ΠΣΑ	Del 1p34.2 (0.016Mb) Dup 3p25.2 (0.061Mb) Del 3q27.2 (0.008Mb) Del 15q22.2 (0.014Mb) Dup Xp22.32 (0.1Mb) Dup Xq12 (0.026)			
12	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ ΠΣΑ	Dup 9p24.3-p22.1 (19.09Mb) Del 13q33.1-q34 (13.6Mb)			<i>COL4A1</i>
13	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ, ΠΣΑ, Υ	Del 22q11.21 (2.5Mb)		Σύνδρομο DiGeorge	<i>TBX1, DGCR8</i>

14	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ, ΠΣΑ, Υ	Del 2q13 (0.118Mb) Dup 15q11.2-q13.1 (7.47Mb)			
15	ΣΚ, ΝΥ, ΠΣΑ	Dup 20p12.2 (0.219Mb) Dup 21q21.3 (0.095Mb)			ADAMTS1, ADAMTS5
16	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ, ΠΣΑ, Ε	Del 22q11.21 (2.793Mb)		Σύνδρομο DiGeorge	TBX1, DGCR8
17	ΣΚ, ΙΠ, ΠΣΑ, Υ	Dup 3q13.32 (0.074Mb) Del 10q 26.3 (0.043Mb) Dup16p12.1 (0.023Mb)			

18	ΣΚ, ΠΣΑ, ΝΥ	Del 16p11.2 (0.53Mb)			KCTD13, TBX6
19	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ, ΠΣΑ	Del Xp21.3 (0.028Mb)			
20	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ, Ε, Υ	Del 7q11.23 (1.9Mb)		Σύνδρομο Williams	ELN
21	ΣΚ, ΙΠ, ΠΣΑ, Υ	Dup 18p11.32-p11.21 (14.72Mb) Dup18q21.32 (0.768Mb) Del 18q21.32-q23 (19.76Mb)			EMILIN2, MRCL2, MRCL3, MYOM1, LPIN2, LAMA1, CIDEA, KCNG2
22	ΣΚ, ΙΠ, ΠΣΑ	Del 22q11.21-11.23 (1.86Mb)		Σύνδρομο Distal DiGeorge	TOP3B, TOP3B2, HIC2
23	ΣΚ, ΙΠ, ΠΣΑ	Del2p25.3 (1.1Mb) Del 9q34.3 (0.798Mb) Dup 12p11.1 (0.615Mb) Del 15q15.1 (0.099Mb) Del 16p13.3 (0.436Mb) Del 22q13.32 (0.074Mb) Dup 16p13.3 (0.028Mb)		υποτελομεριδι ακός μικρο- διπλασιασμός 9q	CACNA1B, EHMT1
24	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ, ΠΣΑ	Del 3p11.1 (0.088Mb) Del 4p16.3 (0.112Mb) Del 8p21.3 (0.064Mb) Del 10q26.11-q26.3 (14.55Mb) Del Xp 21.3 (0.156Mb) Dup Xq27.1 (0.068Mb) Del Xq28 (1.98Mb)			BAG3, NKX1-2
25	ΣΚ, ΝΥ,ΠΣΑ	Del 5p13.33 (0.139Mb) Del 5p14.3-p14.2 (0.84Mb) Del 7p22.1 (1.7Mb) Del 9p13.1 (0.75Mb)			
26	ΣΚ, ΙΠ, ΠΣΑ, Υ	Del 16p13.2 (0.093Mb)			RBFOX1
27	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ, ΠΣΑ	Del 6p24.1-p22.3 (6.64Mb)			EDN1, DTNBP1, MYLIP
28	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ	Del 3p13 (0.083Mb) Del 9q34.3 (3.12Mb) Dup 18q23 (0.834Mb)		υποτελομεριδι ακός μικρο- διπλασιασμός 9q	KCNT1, NOTCH1

29	ΣΚ, ΝΥ, ΠΣΑ	Del 5q35.3 (2.32Mb) Dup17q25.1-q25.3 (10.14Mb) Del Xp21.1 (0.034Mb)			MAML1, FLT4
30	ΣΚ, ΝΥ, ΠΣΑ	Dup 2q35 (0.134Mb) Dup 6q22.31 (0.958Mb)			PRKAG3, WNT6, CYP27A1
31	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ, ΠΣΑ	Dup 17q21.31	mat	Σύνδρομο μικροδιπλασια σμού 17q21.31	
32	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ ΠΣΑ, Υ	Del 1p31.2-p22.3 (18.44Mb)			NEXN
33	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ, ΠΣΑ	Del 3p14.1(0.65Mb) Del 7p22.3 (0.68Mb) Del 7q34(0.9Mb) Del 9q34.3(0.78Mb) Del 11p15.5(0.98Mb) Del 17q25.3(0.53Mb) Del 19p13.3 (0.75Mb)	de novo mat mat mat mat mat		KCNQ1
34	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ, ΠΣΑ	Del 8q24.3(4.26Mb) Del 9q34.2q34.3(5.41Mb) Del 10q26.3(1.72Mb)		υποτελομεριδι ακός μικρο- διπλασιασμός 9q	ADAMTS13, NOTCH1, EHMT1
35	ΣΚ, ΠΣΑ	Del 10q21.3(0.108Mb) Del Xq21.1(1.83Mb)			CTNNA3
36	ΣΚ, ΙΠ, ΝΥ	Del 10q21.3 (0.041Mb)			CTNNA3
37	ΣΚ, ΙΠ, ΠΣΑ	Dup10p12.33(1.022) Del21q22.3(0.49) Del22q12.3(0.81)			CACNB2

- *UCSC database (<http://genome.ucsc.edu/>), UCSC Genome Browser, human genome build 18;
- *Agilent 244K arrays with average resolution 8.9Kb

ΣΚ: Συγγενής Καρδιοπάθεια

ΠΣΑ:πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες

ΙΠ: ιδιόμορφο προσώπείο

ΝΥ: νοητική υστέρηση

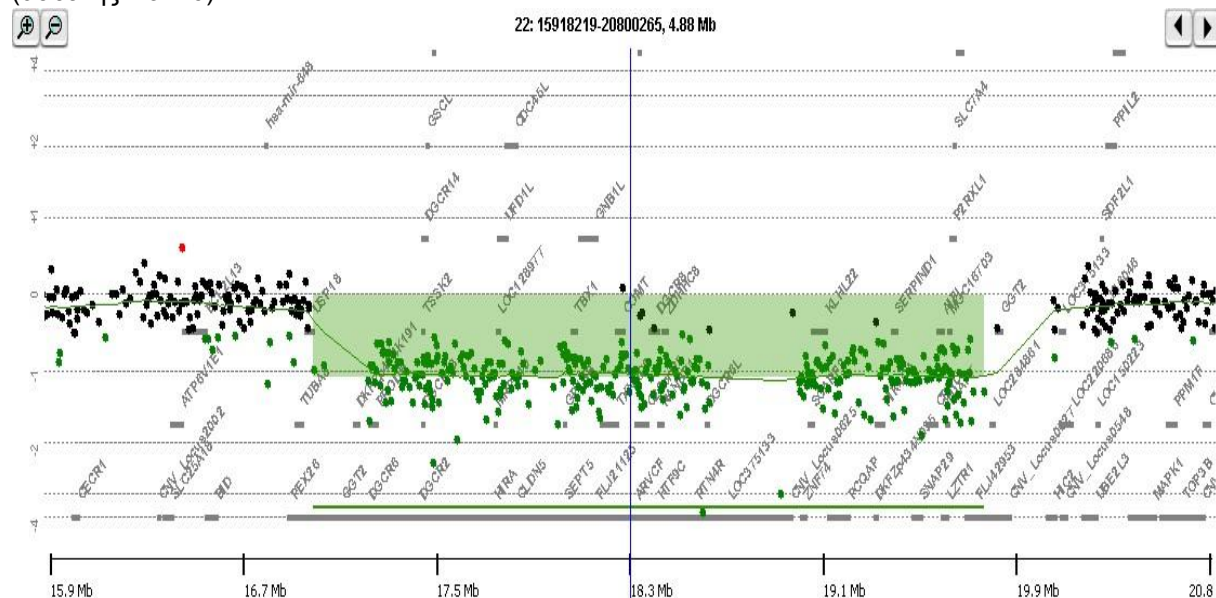
Υ : υποτονία

Ε:επιληψία

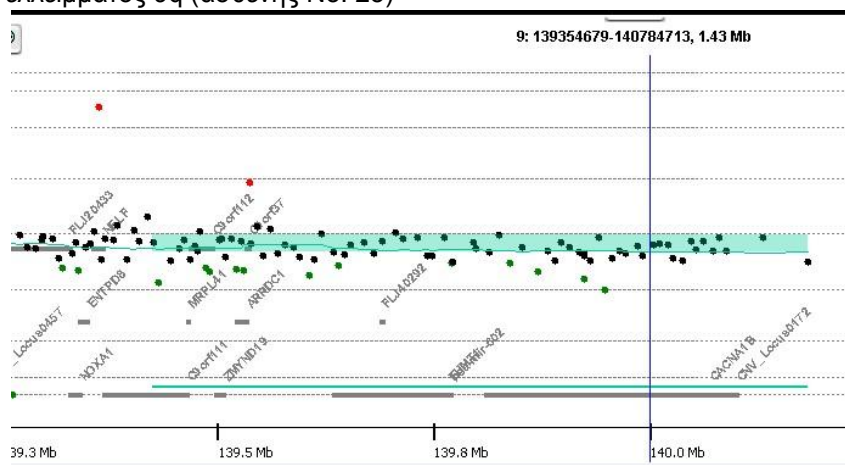
pat: πατρικής προέλευσης

mat : μητρικής προέλευσης

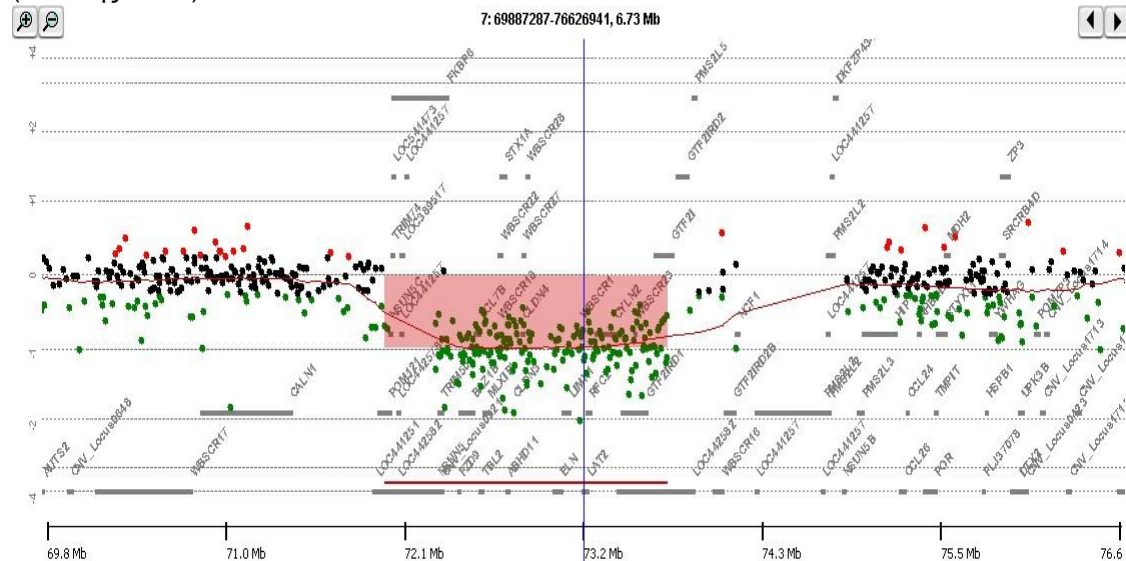
Εικόνα 8: Έλλειμμα στη χρωμοσωμική περιοχή 22q11.21 (2.793Mb), σύνδρομο DiGeorge (ασθενής No. 16)



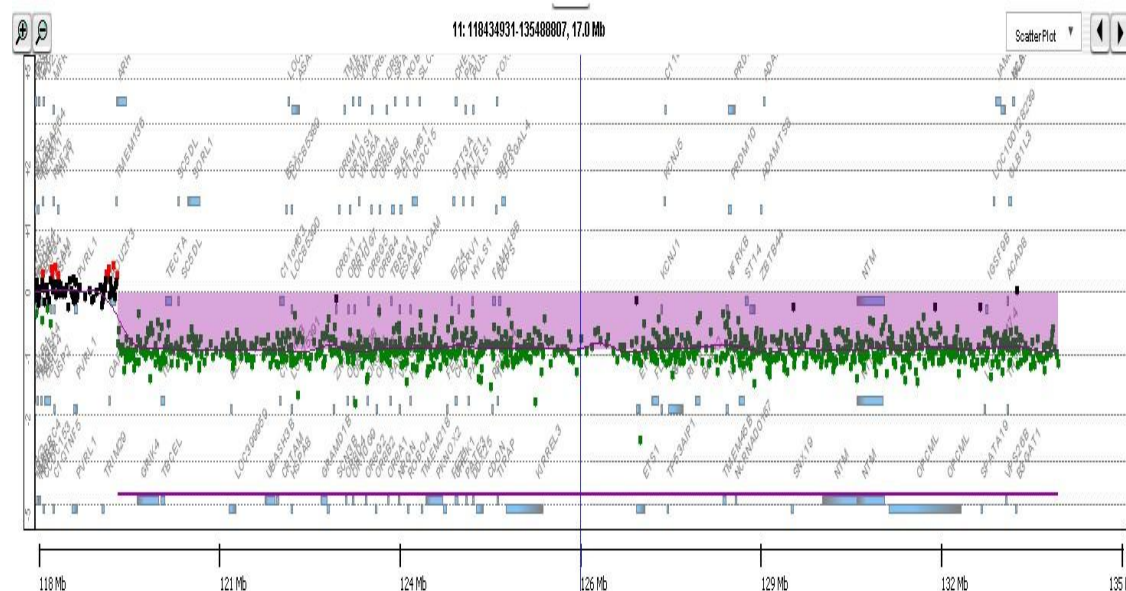
Εικόνα 9 Έλλειμμα στη χρωμοσωμική περιοχή 9q34.3 (0.798Mb), υποτελομεριδιακό σύνδρομο ελλείμματος 9q (ασθενής No. 23)



Εικόνα 10: Έλλειμμα στη χρωμοσωμική περιοχή 7q11.23 (0.413Mb), σύνδρομο Williams (ασθενής No. 7)



Εικόνα 11: Έλλειμμα στη χρωμοσωμική περιοχή 11q23.3-q25 (14.7Mb), σύνδρομο Jacobsen (ασθενής No. 4)



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εισαγωγή των μικροσυστοιχειών συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού (array CGH) στην κλινική πρακτική αυξάνει τις δυνατότητες για βελτίωση του ποσοστού της διάγνωσης συγγενών ανωμαλιών που οδηγούν σε φυσική και λειτουργική ανωμαλία. Το κύριο πλεονέκτημα των a-CGH είναι η ικανότητα να ανιχνεύουν οποιαδήποτε ποσοτική αλλαγή στο DNA όπως ανευπλοειδίες, αλλά και μικροελλείμματα και μικροδιπλασιασμούς, με αναλυτική ευχέρεια κατά πολύ ισχυρότερη (10-10000) από τον συμβατικό καρυότυπο, ανάλογα με το μέγεθος του στόχου, την κάλυψη και τη πυκνότητα των ανιχνευτών που χρησιμοποιούνται. Η τεχνολογία του μοριακού καρυότυπου παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στον προσδιορισμό των ακριβών ορίων όσο και στη ταυτοποίηση και προσέλευση των marker χρωμοσωμάτων. Σήμερα αποτελεί παράδειγμα μιας τεχνολογίας που έχει ραγδαία συμμετοχή στην κλινική πράξη αντικαθιστώντας σταδιακά τον συμβατικό καρυότυπο.

Από την παρούσα μελέτη προκύπτει ότι ο έλεγχος με array CGH είναι ανεκτίμητης διαγνωστικής σημασίας για άτομα με συγγενείς ανωμαλίες γενικότερα, καθώς εντοπίστηκαν παθολογικά ευρήματα (CNVs) μη εμφανή στον κλασικό καρυότυπο τα οποία συσχετίζονται με συγγενείς ανωμαλίες σε 81 από τους 197 ασθενείς (ποσοστό 41%). Τα οφέλη για τους ασθενείς είναι πολλαπλά τόσο για τον καθορισμό της πρόγνωσης και της συστηματικής μακροχρόνιας στοχευμένης παρακολούθησης, όσο και για τη δυνατότητα χορήγησης ολοκληρωμένης γενετικής συμβουλευτικής στην οικογένεια.

Η κλινική μετάφραση των αποτελεσμάτων παραμένει μία πρόκληση, ειδικά όταν πρόκειται για νέα σπάνια CNVs αβέβαιης κλινικής σημασίας. Με τη συνεχή όμως αναφορά των μοριακών και φαινοτυπικών ευρημάτων που σε μελέτες παιδιών με συγγενείς ανωμαλίες αποδίδονται σε μικροελλείμματα και μικροδιπλασιασμούς αναγνωρίζονται ολοένα περισσότερα νέα σύνδρομα επιτυγχάνεται συσχέτιση φαινότυπου- γονότυπου. Όσο περισσότερα

διαγνωστικά εργαστήρια χρησιμοποιούν την τεχνική του συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού τόσο θα συσσωρεύονται στις διεθνείς βάσεις δεδομένων οι πληροφορίες που συσχετίζουν τον κλινικό φαινότυπο με νέες ή σπάνιες υποмикροσκοπικές ανακατατάξεις καθώς και ειδικά γονίδια υπεύθυνα για τις κλινικές εκδηλώσεις. Εκ παραλλήλου η εντόπιση γενομικών ανακατατάξεων αναμένεται ότι θα οδηγήσει στην διαλεύκανση περαιτέρω των παθογενετικών μηχανισμών για τις συγγενείς ανωμαλίες.

Συμπερασματικά, η γενικευμένη εφαρμογή της νέας τεχνολογίας του συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού array-CGH συμβάλλει στον εντοπισμό υποмикροσκοπικών ανακατατάξεων σε ασθενείς με πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες ή/και αναπτυξιακή ή/και νοητική υστέρηση, στην βελτιστοποίηση της συσχέτισης γονοτύπου- φαινοτύπου και στην ομαδοποίηση ασθενών με παρόμοια CNVs και παρόμοιους φαινοτύπους, ώστε να ταυτοποιηθούν νέα σύνδρομα και να οδηγηθούμε σε πιο ακριβείς προγνωστικές και θεραπευτικές παρεμβάσεις.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Albanese CT, Harrison MR. Surgical treatment for fetal disease. The state of the art. *Ann N Y Acad Sci.* 1998 Jun 18;847:74-85

Baird PA, Anderson TW, Newcombe HB, Lowry RB. Genetic disorders in children and young adults: a population study. *Am J Hum Genet.* 1988;42(5):677-93

Barc J, Briec F, Schmitt S, et al. Screening for Number Variation in Genes Associated with the Long QT Syndrome, *Journal of the American College of Cardiology* 2011;57(1):40-47

Battaglia A, Hoyme HE, Dallapiccola B, Zackai E, Hudgins L, McDonald-McGinn D, Bahi-Buisson N, Romano C, Williams CA, Brailey LL, Zuberi SM, Carey JC. Further delineation of deletion 1p36 syndrome in 60 patients: a recognizable phenotype and common cause of developmental delay and mental retardation. *Pediatrics.* 2008; 121(2):404-10

Bedard JE, Haaning AM, Ware SM. Identification of a novel ZIC3 isoform and mutation screening in patients with heterotaxy and congenital heart disease. *PLoS One.* 2011;6(8):e23755

Botto LD, Mulinare J, Yang Q, Liu Y, Erickson JD. Autosomal trisomy and maternal use of multivitamin supplements .*Am J Med Genet A.* 2004;125A(2):113-6

Brady PD, Vermeesch JR. Genomic microarrays: a technology overview. *Prenat Diagn.* 2012 ;32(4):336-43

Brent RL. Teratology in the 20th century environmental causes of congenital malformations in humans and how they were established. *Neurotoxicol Teratol.* 2004;26(1):1-12

Bromiker R, Glam-Baruch M, Gofin R, Hammerman C, Amitai Y. Association of parental consanguinity with congenital malformations among Arab newborns in Jerusalem. *Clin Genet.* 2004;66(1):63-6

Carrera JM, Torrents M, Mortera C, Cusí V, Muñoz A. Routine prenatal ultrasound screening for fetal abnormalities: 22 years' experience. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1995;5(3):174-9

Ciaccio C, Dordoni C, Ritelli M, Colombi M. Koolen-de Vries Syndrome: Clinical Report of an Adult and Literature Review. *Cytogenet Genome Res.* 2016;150(1):4045

Cleary-Goldman J, Malone FD, Vidaver J, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Saade GR, Eddleman KA, Klugman S, Dugoff L, Timor-Tritsch IE, Craigo SD, Carr SR, Wolfe HM, Bianchi DW, D'Alton M; FASTER Consortium. Impact of maternal age on obstetric outcome. *Obstet Gynecol.* 2005;105:983-90

Cleves MA, Hobbs CA, Collins HB, Andrews N, Smith LN, Robbins JM. Folic acid use by women receiving routine gynecologic care. *Obstet Gynecol.* 2004;103(4):746-53

Cooney CA, Dave AA, Wolff GL. Maternal methyl supplements in mice affect epigenetic variation and DNA methylation of offspring. *J Nutr.* 2002;132(8 Suppl):2393S-2400S

Cordeiro JM, Marieb M, Pfeiffer R, et al. Accelerated inactivation of the L-type calcium current due to a mutation in CACNB2b underlies Brugada syndrome. *Mol Cell Cardiol.* 2009 May;46(5):695-703

Crotwell PL, Hoyme HE. Advances in whole-genome genetic testing: from chromosomes to microarrays.CurrProblPediatrAdolesc Health Care. 2012;42(3):47-73

Crow JF. Two centuries of genetics: a view from halftime.Annu Rev Genomics Hum Genet. 2000;1:21-40

Czeizel AE. Periconceptional folic acid and multivitamin supplementation for the prevention of neural tube defects and other congenital abnormalities.Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. 2009;85(4):260-8.

Davidson R&G &Zeesman S. Genetic aspects in Maternal-Fetal Toxicology, A Clinician's guide, 2nd ed. 1990, Koren, G., Ed., Marcel Dekker, New York. chap. 23

De Galan-Roosen AE, Kuijpers JC, Meershoek AP, van Velzen D. Contribution of congenital malformations to perinatal mortality. A 10 years prospective regional study in The Netherlands. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1998 Sep;80(1):55-61

de Vries BB, Pfundt R, Leisink M, Koolen DA, Vissers LE, Janssen IM, ReijmersdalSv, Nillesen WM, Huys EH, LeeuwNd, Smeets D, Sistermans EA, Feuth T, van Ravenswaaij-Arts CM, van Kessel AG, Schoenmakers EF, Brunner HG, Veltman JA. Diagnostic genome profiling in mental retardation. Am J Hum Genet. 2005;77(4):606-16

Dolk H. Epidemiologic approaches to identifying environmental causes of birth defects.Am J Med Genet C Semin Med Genet. 2004;125C(1):4-11

Edelmann L, Hirschhorn K. Clinical utility of array CGH for the detection of chromosomal imbalances associated with mental retardation and multiple congenital anomalies.Ann N Y Acad Sci. 2009;1151:157-66

Fanciulli M, Petretto E, Aitman TJ. Gene copy number variation and common human disease. *Clin Genet*. 2010;77(3):201-13

Farhi A, Reichman B, Boyko V, Mashiach S, Hourvitz A, Margalioth EJ, Levran D, Calderon I, Orvieto R, Ellenbogen A, Meyerovitch J, Ron-El R, Lerner-Geva L. Congenital malformations in infants conceived following assisted reproductive technology in comparison with spontaneously conceived infants. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2013;26(12):1171-9

Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet*. 2006;7(2):85-97

Flint J, Knight S. The use of telomere probes to investigate submicroscopic rearrangements associated with mental retardation. *Curr Opin Genet Dev*. 2003;13(3):310-6

Garne E, Loane M, Dolk H, Barisic I, Addor MC, Arriola L, Bakker M, Calzolari E, Matias Dias C, Doray B, Gatt M, Melve KK, Nelen V, O'Mahony M, Pierini A, Randrianaivo-Ranjatoelina H, Rankin J, Rissmann A, Tucker D, Verellun-Dumoulin C, Wiesel A. Spectrum of congenital anomalies in pregnancies with pregestational diabetes. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2012;94(3):134-40

Ghazi HA, Spielberger C, Källén B. Delivery outcome after infertility--a registry study. *Fertil Steril*. 1991;55(4):726-32

Giannikou K, Fryssira H, Oikonomakis V, Syrmou A, Kosma K, Tzetis M, Kitsiou-Tzeli S, Kanavakis E. Further delineation of novel 1p36 rearrangements by arrayCGH analysis: narrowing the breakpoints and clarifying the "extended" phenotype. *Gene*. 2012;506(2):360-8

Goldberg JD Routine screening for fetal anomalies expectations. *ObstetGynecolClin North Am*. 2004 Mar;31(1):35-50

Gonçalves LF, Jeanty P, Piper JM. The accuracy of prenatal ultrasonography in detecting congenital anomalies. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;171(6):1606-12

Grandjean H, Larroque D, Levi S. The performance of routine ultrasonographic screening of pregnancies in the Eurofetus Study. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181(2):446-54

Hansen M, Kurinczuk JJ, de Klerk N, Burton P, Bower C. Assisted reproductive technology and major birth defects in Western Australia. *Obstet Gynecol.* 2012;120(4):852-63

Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, Webb S. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med.* 2002;346(10):725-30

Harrison MR. Surgically correctable fetal disease. *Am J Surg.* 2000;180(5):335-42

Hassold T, Hunt P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet.* 2001;2(4):280-91

Heinonen OP, Slone D, Monson RR, Hook EB, Shapiro S. Cardiovascular birth defects and antenatal exposure to female sex hormones. *N Engl J Med.* 1977;296(2):67-70

Horn LC, Langner A, Stiehl P, Wittekind C, Faber R. Identification of the causes of intrauterine death during 310 consecutive autopsies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;15;113(2):134-8

Lafrate AJ, Feuk L, Rivera MN, Listewnik ML, Donahoe PK, Qi Y, Scherer SW, Lee C. Detection of large-scale variation in the human genome. *Nat Genet.* 2004;36(9):949-51

Jacobsen P, Hauge M, Henningsen K, Hobolth N, Mikkelsen M, Philip J. An (11;21) translocation in four generations with chromosome 11 abnormalities in the offspring. A clinical, cytogenetical, and gene marker study. Hum Hered. 1973;23(6):568-85

James Robins. Congenital anomalies surveillance 2011-2012 review of data relating to congenital anomalies detected in NHS GG@C between 1st April 2011 and 31st March 2012

Jones KL, Johnson KA, Dick LM, Felix RJ, Kao KK, Chambers CD. Pregnancy outcomes after first trimester exposure to phentermine/fenfluramine. Teratology. 2002;65(3):125-30

Källén B¹, Finnström O, Lindam A, Nilsson E, Nygren KG, Otterblad Olausson P. Trends in delivery and neonatal outcome after in vitro fertilization in Sweden: data for 25 years. Hum Reprod. 2010;25(4):1026-34

Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, Pinkel D. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. Science. 1992;258(5083):818-21

Kalter H. Congenital malformations: an inquiry into classification and nomenclature. J Med Genet. 1998;35(8):661-5

Kalter H. Teratology in the 20th century: environmental causes of congenital malformations in humans and how they were established. Neurotoxicol Teratol. 2003;25(2):131-282

Kang JU, Koo SH. Clinical implementation of chromosomal microarray technology in prenatal diagnosis. (Review). Mol Med Rep. 2012;6(6):1219-22

Kazaura M, Lie RT, Skjaerven R. Paternal age and the risk of birth defects in Norway. Ann Epidemiol. 2004;14(8):566-70

Keren B, Le Caignec C. Oligonucleotide microarrays in constitutional genetic diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn.* 2011;11(5):521-32

Khoury MJ, James LM, Lynberg MC. Quantitative analysis of associations between birth defects and suspected human teratogens. *Am J Med Genet.* 1991;40(4):500-5

Kingston HM. ABC of clinical genetics. Dysmorphology and teratogenesis. *BMJ.* 1989;298(6682):1235-9

Kitsiou-Tzeli Sophia, Frysira Helen, Giannikou Krinio, Syrmou Areti, Kosma Konstantina, Kakourou Georgia, Leze Eleni, Kanavakis Emmanuel, Tzetis Maria. Microdeletion and microduplication 17q21.31 plus an additional CNV, in patients with intellectual disability, identified by array-CGH. *Gene.* 2012;15;492(1):319-324.

Klaver EC, Versluijs GM, Wilders R. Cardiac ion channel mutations in the sudden infant death syndrome, *Int J Cardiol.* 2011;152(2):162-70

Lancaster PA. Health registers for congenital malformations and in vitro fertilization. *Clin Reprod Fertil.* 1986;4(1):27-37

Leslie EJ and Marazita ML. Genetics of Cleft Lip and Cleft Palate. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2013; 163(4): 246–258.

Levi S. Ultrasound in prenatal diagnosis: polemics around routine ultrasound screening for second trimester fetal malformations. *Prenat Diagn.* 2002;22(4):285-95

Li SJ, Ford N, Meister K, Bodurtha J. Increased risk of birth defects among children from multiple births. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2003;67(10):879-85

Lian ZH, Zack MM, Erickson JD. Paternal age and the occurrence of birth defects. *Am J Hum Genet.* 1986;39(5):648-60

Liang JS, Shimojima K, Yamamoto T. Application of array-based comparative genome hybridization in children with developmental delay or mental retardation. *Pediatr Neonatol.* 2008;49(6):213-7

Mao R, Pevsner J. The use of genomic microarrays to study chromosomal abnormalities in mental retardation. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2005;11(4):279-85

March of Dimes Birth Defects (2004); Available from: URL: <http://www.modimes.org>

Mastroiacovo P, Castilla EE, Arpino C, Botting B, Cocchi G, Goujard J, Marinacci C, Merlob P, Métneki J, Mutchinick O, Ritvanen A, Rosano A. Congenital malformations in twins: an international study. *Am J Med Genet.* 1999;83(2):117-24

Mattina T, Simona Perrotta C, Grossfeld P. Jacobsen syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2009; 4:9

Mc Cormack A, Taylor J, TeWeehi L, R. Love D, George A. A Case of 17q21.31 Microduplication and 7q31.33 Microdeletion, Associated with Developmental Delay, Microcephaly, and Mild Dysmorphic Features Case Rep Genet. 2014; 658570

Méhes K. Association of supernumerary nipples with other anomalies. *JPediatr.* 1983;102(1):161

Menten B, Maas N, Thienpont B, Buysse K, Vandesompele J, Melotte C, de Ravel T, Van Vooren S, Balikova I, Backx L, Janssens S, De Paepe A, De Moor B, Moreau Y, Marynen P, Fryns J-P, Mortier G, Devriendt K, Speleman F, and Vermeesch J R. Emerging patterns of cryptic chromosomal

imbalance in patients with idiopathic mental retardation and multiple congenital anomalies: a new series of 140 patients and review of published reports. *J Med Genet.* 2006 Aug; 43(8): 625–633

Merlob P, Sapir O, Sulkes J, Fisch B. The prevalence of major congenital malformations during two periods of time, 1986-1994 and 1995-2002 in newborns conceived by assisted reproduction technology. *Eur J Med Genet.* 2005;48(1):5-11

Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, Church DM, Crolla JA, Eichler EE, Epstein CJ, Faucett WA, Feuk L, Friedman JM, Hamosh A, Jackson L, Kaminsky EB, Kok K, Krantz ID, Kuhn RM, Lee C, Ostell JM, Rosenberg C, Scherer SW, Spinner NB, Stavropoulos DJ, Tepperberg JH, Thorland EC, Vermeesch JR, Waggoner DJ, Watson

MS, Martin CL, Ledbetter DH. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet.* 2010 May 14;86(5):749-64

Ming JE, Geiger E, James AC, Cipraro KL, Nimmakayalu M, Zhang Y, Huang A, Vaddi M, Rappaport E, Zackai EH, Shaikh TH. Rapid detection of submicroscopic chromosomal rearrangements in children with multiple congenital anomalies using high density oligonucleotide arrays. *Hum Mutat.* 2006;27(5):467-73

Miyake N, Shimokawa O, Harada N, Sosonkina N, Okubo A, Kawara H, Okamoto N, Kurosawa K, Kawame H, Iwakoshi M, Kosho T, Fukushima Y, Makita Y, Yokoyama Y, Yamagata T, Kato M, Hiraki Y, Nomura M, Yoshiura K, Kishino T, Ohta T, Mizuguchi T, Niikawa N, Matsumoto N. BAC array CGH reveals genomic aberrations in idiopathic mental retardation. *Am J Med Genet A.* 2006;140(3):205-11

Moeschler JB. Medical genetics diagnostic evaluation of the child with global developmental delay or intellectual disability. *Curr Opin Neurol*. 2008;21(2):117-22

Morin VI, Mondor M, Wilson RD. Knowledge on periconceptional use of folic acid in women of British Columbia. *Fetal Diagn Ther*. 2001;16(2):111-5

Myers MF, Li S, Correa-Villaseñor A, Li Z, Moore CA, Hong SX, Berry RJ. Folic acid supplementation and risk for imperforate anus in China. China-US Collaborative Project for Neural Tube Defect Prevention. *Am J Epidemiol*. 2001;154(11):1051-6

Nabulsi MM, Tamim H, Sabbagh M, Obeid MY, Yunis KA, Bitar FF. Parental consanguinity and congenital heart malformations in a developing country. *Am J Med Genet A*. 2003;116A(4):342-7

Natacci F, Alfei E, Tararà L, D'Arrigo S, Zuffardi O, Gentilin B, Pantaleoni C. Chromosome 17q21.31 duplication syndrome: Description of a new familiar case and further delineation of the clinical spectrum. *Eur J Paediatr Neurol*. 2016 Jan;20(1):183-7

Nevado J, Mergener R, Palomares-Bralo M, Regina Souza K, Vallespín E, Mena R, Martínez-Glez V, Ángeles Mori M, Santos F, García-Miñaur S, García-Santiago F, Mansilla E, Fernández L, Luisa de Torres M, Riegel M, Lapunzina P. New microdeletion and microduplication syndromes: A comprehensive review. *Genet Mol Biol*. 2014; 37(1 Suppl): 210–219

Oakley GP Jr. Birth defects epidemiology and surveillance. *Prog Clin Biol Res*. 1985;163A:71-90

Oddy WH, De Klerk NH, Miller M, Payne J, Bower C. Association of maternal prepregnancy weight with birth defects: evidence from a case-control study in Western Australia. *Aust NZ J Obstet Gynaecol*. 2009;49(1):11-5

Oikonomakis V, Kosma K, Mitrakos A, Sofocleous C, Pervanidou P, Syrmou A, Pampanos A, Psoni S, Fryssira H, Kanavakis E, Kitsiou-Tzeli S, Tzetis M. Recurrent copy number variations as risk factors for autism spectrum disorders: analysis of the clinical implications. Clin Genet. 2016;89(6):708-18

Onyskowova Z, Dolezal A, Jedlicka V. The frequency and character of malformations in multiple birth. Teratology. 1971;4:496-497

Pai GS, Thomas GH, Mahoney W, Migeon BR. Complex chromosome rearrangements. Report of a new case and literature review. Clin Genet. 1980;18(6):436-44

Patsalis PC. Complex chromosomal rearrangements. Genet Couns. 2007;18(1):5769

Pellestor F, Andréo B, Anahory T, Hamamah S. The occurrence of aneuploidy in human: lessons from the cytogenetic studies of human oocytes. Eur J Med Genet. 2006;49(2):103-16

Pratte-Santos R, Ribeiro KH, Santos TA, Cintra TS. Analysis of chromosomal abnormalities by CGH-array in patients with dysmorphic and intellectual disability with normal karyotype. Einstein (Sao Paulo). 2016;14(1):30-4

Queisser-Luft A, Stolz G, Wiesel A, Schlaefer K, Spranger J. Malformations in newborn: results based on 30,940 infants and fetuses from the Mainz congenital birth defect monitoring system (1990-1998). Arch Gynecol Obstet. 2002;266(3):1637

Ray JG, Singh G, Burrows RF. Evidence for suboptimal use of periconceptional folic acid supplements globally. BJOG. 2004;111(5):399-408

Rosano A, Botto LD, Botting B, Mastroiacovo P. Infant mortality and congenital anomalies from 1950 to 1994: an international perspective. J Epidemiol Community Health. 2000;54(9):660-6

Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shaperro MH, Carson AR, Chen W, Cho EK, Dallaire S, Freeman JL, González JR, Gratacòs M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodward C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME. Global variation in copy number in the human genome. *Nature*. 2006;444(7118):444-54

Richards AA, Garg V. Genetics of Congenital Heart Disease, *Current Cardiology Reviews* 2010;6:91-97

Rooms L, Reyniers E, Kooy RF. Subtelomeric rearrangements in the mentally retarded: a comparison of detection methods. *Hum Mutat*. 2005;25(6):513-24
Rustico MA, Baietti MG, Coviello D, Orlandi E, Nicolini U. Managing twins discordant for fetal anomaly. *Prenat Diagn*. 2005;25(9):766-71

Schwärzler P, Holden D, Nielsen S, Hahlin M, Sladkevicius P, Bourne TH. The conservative management of first trimester miscarriages and the use of colour Doppler sonography for patient selection. *Hum Reprod*. 1999;14(5):1341-5

Sebat J, Lakshmi B, Troge J, Alexander J, Young J, Lundin P, Månér S, Massa H, Walker M, Chi M, Navin N, Lucito R, Healy J, Hicks J, Ye K, Reiner A, Gilliam TC, Trask B, Patterson N, Zetterberg A, Wigler M. Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science*. 2004;305(5683):525-8

Shaikh TH. Oligonucleotide arrays for high-resolution analysis of copy number alteration in mental retardation/multiple congenital anomalies. *Genet Med*. 2007;9(9):617-25

Shaw-Smith C, Redon R, Rickman L, Rio M, Willatt L, Fiegler H, Firth H, Sanlaville D, Winter R, Colleaux L, Bobrow M, Carter NP. Microarray based comparative genomic hybridisation (array-CGH) detects submicroscopic

chromosomal deletions and duplications in patients with learning disability/mental retardation and dysmorphic features.J Med Genet. 2004;41(4):241-8

Shepard TH, Fantel AG, Mirkes PE. Megadoses of vitamin A.Teratology. 1986;34(3):366

Shevell T, Malone FD, Vidaver J, Porter TF, Luthy DA, Comstock CH, Hankins GD, Eddleman K, Dolan S, Dugoff L, Craigo S, Timor IE, Carr SR, Wolfe HM, Bianchi DW, D'Alton ME. Assisted reproductive technology and pregnancy outcome.Obstet Gynecol. 2005;106(5 Pt 1):1039-45

Shinawi M, Cheung SW. The array CGH and its clinical applications. Drug Discov Today. 2008;13(17-18):760-70

Silver RI, Rodriguez R, Chang TS, Gearhart JP.In vitro fertilization is associated with an increased risk of hypospadias.J Urol. 1999;161(6):1954-7

Souka AP, Nicolaides KH. Diagnosis of fetal abnormalities at the 10-14-week scan.Ultrasound Obstet Gynecol. 1997;10(6):429-42

Staebler M, Donner C, Van Regemorter N, Duprez L, De Maertelaer V, Devreker F, Avni F. Should determination of the karyotype be systematic for all malformations detected by obstetrical ultrasound?PrenatDiagn. 2005;25(7):567-73

Stankiewicz P, Beaudet AL. Use of array CGH in the evaluation of dysmorphology, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation.CurrOpin Genet Dev. 2007;17(3):182-92

Stefos T, Plachouras N, Sotiriadis A, Papadimitriou D, Almoussa N, Navrozoglou I, Lolis D. Routine obstetrical ultrasound at 18-22 weeks: our experience on 7,236 fetuses.J Matern Fetal Med. 1999;8(2):64-9

Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP. Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. *Hum Reprod*. 2002;17(2):446-51

Stoll C, Clementi M. Prenatal diagnosis of dysmorphic syndromes by routine fetal ultrasound examination across Europe. Euroscan study group. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003;21(6):543-51

Stothard KJ, Tennant PW, Bell R, Rankin J. Maternal overweight and obesity and the risk of congenital anomalies: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2009;301(6):636-50

Symou Areti, Tzetis Maria, Kitsiou-Tzeli Sophia, Fryssira Helen, Kosma Konstantina, Oikonomakis Vassilis, Giannikou Krinio, Makrythanasis Periklis, Kanavakis Emmanuel. Array Comparative Genomic Hybridization (array-CGH) as a clinical diagnostic tool in syndromic and nonsyndromic congenital heart disease. *Pediatr Res*. 2013; 73(6):772-776.

Tabor A, Zdravkovic M, Perslev A, Møller LK, Pedersen BL. Screening for congenital malformations by ultrasonography in the general population of pregnant women: factors affecting the efficacy. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2003;82(12):1092-8

Taipale P, Ammälä M, Salonen R, Hiilesmaa V. Two-stage ultrasonography in screening for fetal anomalies at 13-14 and 18-22 weeks of gestation. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2004;83(12):1141-6

Tandulwadkar S, Lodha P, Kharb V. Congenital malformations and assisted reproductive technique: Where is assisted reproductive technique taking us? *J Hum Reprod Sci*. 2012;5(3):244-7

Tennstedt C, Hufnagl P, Chaoui R, Körner H, Dietel M. Fetal autopsy: a review of recent developments. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001;99(1):66-71

The EUROCAT website; Available from: URL: <http://www.eurocat.ulster.ac.uk./pubdata>

Thiempont B, Mentès L, de Ravel T, et al. Submicroscopic chromosomal imbalances detected by array-CGH are a frequent cause of congenital heart defects in selected patients. *Eur Heart J* 2007;(22):2778-84

Tzetzis Maria, Stefanaki Kalliopi, Symou Areti, Kosma Konstantina, Giannikou Krinio, Oikonomakis Vasilis, Choulakis Michael, Kolialexi Aggeliki, Makrythanassis Periklis, Sofia Kitsiou-Tzeli. An unusual case of dup 22q11.1q11.21, cat-eye syndrome phenotype and extragonadal mature teratoma: Review of the literature. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2012; 94(7):561-566.

Van Loon K, Besseghir K, Eshkol A. *Fertil Steril*. Neural tube defects after infertility treatment: a review. 1992;58(5):875-84

Van Ommen GJ. Frequency of new copy number variation in humans. *Nat Genet*. 2005;37(4):333-4

Veltman JA. Genomic microarrays in clinical diagnosis. *Curr Opin Pediatr*. 2006;18(6):598-603

Veltman JA, de Vries BB. Whole-genome array comparative genome hybridization: the preferred diagnostic choice in postnatal clinical cytogenetics. *J Mol Diagn*. 2007;9(2):277

Veltman JA, Schoenmakers EF, Eussen BH, Janssen I, Merckx G, van Cleef B, van Ravenswaaij CM, Brunner HG, Smeets D, van Kessel AG. High-throughput analysis of subtelomeric chromosome rearrangements by use of array-based comparative genomic hybridization. *Am J Hum Genet*. 2002;70(5):1269-76

Vianna GS, Medeiros PF, Alves AF, Silva TO, Jehee FS. Array-CGH analysis in patients with intellectual disability and/or congenital malformations in Brazil. *Genet Mol Res*. 2016;15(1)

Vissers LE, de Vries BB, Osoegawa K, Janssen IM, Feuth T, Choy CO, Straatman H, van der Vliet W, Huys EH, van Rijk A, Smeets D, van Ravenswaaij-Arts CM, Knoers NV, van der Burgt I, de Jong PJ, Brunner HG, van Kessel AG, Schoenmakers EF, Veltman JA. Array-based comparative genomic hybridization for the genomewide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *Am J Hum Genet*. 2003;73(6):1261-70

Waldrop MF, Bell RQ, McLaughlin B, Halverson CF Jr. Newborn minor physical anomalies predict short attention span, peer aggression, and impulsivity at age 3. *Science*. 1978;199(4328):563-5

Warkany J. Etiology of congenital malformations. *Adv Pediatr*. 1947;2:1-63
Waterland RA, Jirtle RL. Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. *Mol Cell Biol*. 2003;23(15):5293-300

Watkins ML, Rasmussen SA, Honein MA, Botto LD, Moore CA. Maternal obesity and risk for birth defects. *Pediatrics*. 2003;111(5 Pt 2):1152-8

Willemsen M.H, Vulto-van Silfhout A.T, Nillesen W.M, Wissink-Lindhout W.M, van Bokhoven H, Philip N, Berry-Kravis E.M, Kini U, van Ravenswaaij-Arts C.M.A, Delle Chiaie B, Innes A.M.M, Houge G, Kosonen K, Cremer M, Fannemel, Stray-Pedersen A, Reardon J, Ignatius T, Lachlan K, Mircher C, Helder van den Enden P.T.J.M, Mastebroek M, Cohn-Hokke P.E, Yntema H.G, Drunat S, Kleefstra T. Update on Kleefstra Syndrome. *Mol Syndromol*. 2012; 2(3-5): 202–212

Xiao-li Wu, Ru Li, Fang Fu, Min Pan, Jin Han, Xin Yang, Yong-ling Zhang, Fa-tao Li, Can Liao. Chromosome microarray analysis in the investigation of children with congenital heart disease *BMC Pediatr*. 2017; 17: 117

Ye M, Coldren C, Liang X, Mattina T, Goldmuntz E, Benson DW, Ivy D, Perryman MB, Garrett-Sinha LA, Grossfeld P Deletion of ETS-1, a gene in the Jacobsen syndrome critical region, causes ventricular septal defects and abnormal ventricular morphology in mice. Hum Mol Genet. 2010; 19(4):648-56

Zhu JL, Madsen KM, Vestergaard M, Olesen AV, Basso O, Olsen J. Paternal age and congenital malformations. Hum Reprod. 2005;20(11):3173-7

Žilina O, Teek R, Tammur P, Kuuse K, Yakoreva M, Vaidla E, Mölter-Väär T, Reimand T, Kurg A, Õunap K. Chromosomal microarray analysis as a first-tier clinical diagnostic test: Estonian experience. Mol Genet Genomic Med. 2014 Mar; 2(2): 166–175.

Zoppi MA, Ibba RM, Axiana C, Floris M, Manca F, Monni G. Absence of fetal nasal bone and aneuploidies at first-trimester nuchal translucency screening in unselected pregnancies. Prenat Diagn. 2003;23(6):496-500

Καραβιτάκης Μ, Φρυσίρα Ε. Επιπολασμός, αιτιολογία και ταξινόμηση των συγγενών ανωμαλιών. Δελτ Α' Παιδιατρ Κλιν Πανεπ Αθηνών 56, 2009;33-4 Κίτσιου-Τζέλη Σοφία. «Συγγενείς Ανωμαλίες και Τερατογόνοι Παράγοντες».

Ιατρικές Εκδόσεις «ΖΗΤΑ», Αθήνα, 1992, 322 σελίδες

Λεζέ Ε, Τζέτη Μ, Κοσμά Κ, Σύρμου Α, Γιαννίκου Κ, Οικονομάκης Β, Κουβίδη Ε, Νίκα Α, Καπετανάκης Ι, Καναβάκης Ε, Κίτσιου-Τζέλη Σ. Η μοριακή διερεύνηση του συνδρόμου Jacobsen με την εφαρμογή συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού (array CGH) Παιδιατρική 3-4 (75):108-115, 2012

