

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ειρήνη Τσούτσου-Γερογιάννη

2015

**Κλινικοεργαστηριακή διερεύνηση
παιδιών με μικροκεφαλία**



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

(Διευθύντρια: Σοφία Κίτσιου-Τζέλη)

Κλινικοεργαστηριακή διερεύνηση παιδιών με μικροκεφαλία

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ειρήνη Τσούτσου-Γερογιάννη

ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2015

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Ελένη Φρυσίρα: Αν. Καθηγήτρια Κλινικής Γενετικής , ΕΚΠΑ

Εμμανουήλ Καναβάκης: Καθηγητής Γενετικής, ΕΚΠΑ

Δημήτριος Ζαφειρίου: Καθηγητής Παιδιατρικής Νευρολογίας, ΑΠΘ

ΤΟΠΟΣ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

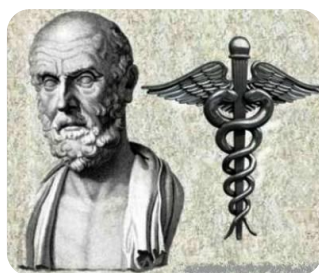
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΠΑΙΔΩΝ Η «ΑΓΙΑ ΣΟΦΙΑ»

*Στους γονείς μου
Δημήτρη και Ρούλα*

*Στο σύζυγό μου Γιάννη
και τα παιδιά μου Έκτορα και Ηλέκτρα*

Ιπποκράτους Όρκος



Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἴστορας ποιούμενος, ἐπιτελέα ποιήσῃς κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὄρκον τόνδε καὶ ξυγγραφὴν τήνδε.

Ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρῆζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ ωυτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρῆζωσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ξυγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοισί τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί.

Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξειν.

Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑψηγήσομαι ξυμβουλίην τοιήνδε. Ὅμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἀγνώως δὲ καὶ ὀσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμὴν.

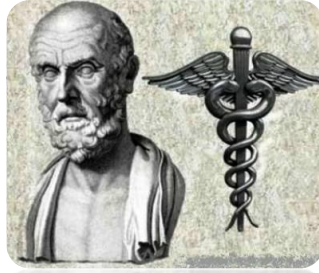
Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε.

Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίας, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμαίων καὶ ἀνδρώων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων.

Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπηίης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἂ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρήτα ἠγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα.

Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ ξυγγέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιорκοῦντι, τάναντία τουτέων.

Όρκος του Ιπποκράτη



Ορκίζομαι στο θεό Απόλλωνα τον ιατρό και στο θεό Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και επικαλούμενος τη μαρτυρία όλων των θεών ότι θα εκτελέσω κατά τη δύναμη και την κρίση μου τον όρκο αυτόν και τη συμφωνία αυτή.

Να θεωρώ τον διδάσκαλό μου της ιατρικής τέχνης ίσο με τους γονείς μου και την κοινωνία του βίου μου. Και όταν χρειάζεται χρήματα να μοιράζομαι μαζί του τα δικά μου. Να θεωρώ την οικογένειά του αδέρφια μου και να τους διδάσκω αυτήν την τέχνη αν θέλουν να την μάθουν χωρίς δίδακτρα ή άλλη συμφωνία.

Να μεταδίδω τους κανόνες ηθικής, την προφορική διδασκαλία και όλες τις άλλες ιατρικές γνώσεις στους γιους μου, στους γιους του δασκάλου μου και στους εγγεγραμμένους μαθητές που πήραν τον ιατρικό όρκο, αλλά σε κανέναν άλλο.

Θα χρησιμοποιώ τη θεραπεία για να βοηθήσω τους ασθενείς κατά τη δύναμη και την κρίση μου, αλλά ποτέ για να βλάψω ή να αδικήσω.

Ούτε θα δίνω θανατηφόρο φάρμακο σε κάποιον που θα μου το ζητήσει, ούτε θα του κάνω μια τέτοια υπόδειξη. Παρομοίως, δεν θα εμπιστευτώ σε έγκυο μέσο που προκαλεί έκτρωση. Θα διατηρώ αγνή και άσπιλη και τη ζωή και την τέχνη μου.

Δεν θα χρησιμοποιώ νυστέρι ούτε σε αυτούς που πάσχουν από λιθίαση, αλλά θα παραχωρώ την εργασία αυτή στους ειδικούς της τέχνης.

Σε όσα σπίτια πηγαίνω, θα μπαίνω για να βοηθήσω τους ασθενείς και θα απέχω από οποιαδήποτε εσκεμμένη βλάβη και φθορά, και ιδίως από γενετήσιες πράξεις με άνδρες και γυναίκες, ελεύθερους και δούλους.

Και όσα τυχόν βλέπω ή ακούω κατά τη διάρκεια της θεραπείας ή και πέρα από τις επαγγελματικές μου ασχολίες στην καθημερινή μου ζωή, αυτά που δεν πρέπει να μαθευτούν παραέξω δεν θα τα κοινοποιώ, θεωρώντας τα θέματα αυτά μυστικά.

Αν τηρώ τον όρκο αυτό και δεν τον παραβώ, ας χαίρω πάντοτε υπολήψεως ανάμεσα στους ανθρώπους για τη ζωή και για την τέχνη μου. Αν όμως τον παραβώ και επιορκήσω, ας πάθω τα αντίθετα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	σελ.8
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	σελ.9
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	σελ.16
SUMMARY.....	σελ.18
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	σελ.21
1.1. Ορισμός-κατάταξη μικροκεφαλιών.....	σελ.21
1.2. Γενετικά αίτια μικροκεφαλίας	
Α. Συνδρομική μικροκεφαλία	σελ.23
i. Σύνδρομα που οφείλονται σε αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες και σε δομικές ανωμαλίες μεγέθους >5-10Mb.....	σελ.23
ii. Σύνδρομα που οφείλονται σε μικροελλείμματα ή μικροδιπλασιασμούς.....	σελ.33
iii.Σύνδρομα που κληρονομούνται με τον αυτοσωμικό επικρατητικό ή υπολειπόμενο χαρακτήρα	σελ.42
iv. Σύνδρομα που κληρονομούνται με τον φυλοσύνδετο επικρατητικό ή υπολειπόμενο χαρακτήρα.....	σελ.52
Β. Μεμονωμένη μικροκεφαλία	
i. Μικροκεφαλία κληρονομούμενη με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο (MCPH) ή επικρατητικό χαρακτήρα.....	σελ. 56
Γ. Δυσπλασίες-δυσραφίεςεγκεφάλου.....	σελ.60
Δ. Πρωτοπαθής κρανιοσυνοστέωση	σελ. 61
Ε. Αναμία Fanconi	σελ.62
ΣΤ Μεταβολικά Νοσήματα.....	σελ.64

3. Περιβαλλοντικά (δευτεροπαθή) αίτια μικροκεφαλίας

- A. Αίτια που επιδρούν ενδομήτρια (προγεννητικά).....σελ.65
- B. Περιγεννητικά αίτια δευτεροπαθούς μικροκεφαλίας.....σελ.66
- Γ. Μεταγεννητικά αίτια δευτεροπαθούς μικροκεφαλίας.....σελ.66

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	σελ.68
3. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	σελ.69
3.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ.....	σελ.69
3.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	σελ.72
3.2.1 Περιγραφή της μεθόδου του γενωμικού συγκριτικού υβριδισμού (array-CGH).....	σελ.73
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
4.1 Κατάταξη ασθενών.....	σελ.86
4.2 Κλινικά και μοριακά ευρήματα στους ασθενείς όπου εφαρμόστηκε η τεχνική του συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού (array-CGH).....	
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	
5.1 Μοριακά ευρήματα.....	σελ.120
5.2 Συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου.....	σελ.128
5.3 Περιπτώσεις ασθενών με συνδρομική μικροκεφαλία και παθολογικά CNVs στα array-CGH.....	σελ.131
5.4 Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών με φαινότυπο συνδρομικής μικροκεφαλίας και φυσιολογικά ευρήματα στα array-CGH.....	σελ.141
5.5 Συσχέτιση γονοτύπου-MRI ευρημάτων.....	σελ.146
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	σελ.158
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	σελ.160

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα πρωταρχικά και κύρια να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Κλινικής Γενετικής Κα Έλενα Φρουσίρα για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου και την τιμή που μου έκανε με την ανάθεση και την επίβλεψη της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Θα ήθελα επίσης να την ευχαριστήσω για την αμέριστη συμπαράσταση, καθοδήγηση και γνώσεις που μου παρείχε όχι μόνο καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης και συγγραφής της διατριβής, αλλά και ως σήμερα.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και στα άλλα δύο μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής, τον Καθηγητή Ιατρικής Γενετικής και πρώην Διευθυντή του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής Κο Εμμανουήλ Καναβάκη και τον Κο Δημήτριο Ζαφειρίου, Καθηγητή Παιδιατρικής Νευρολογίας και Αναπτυξιολογίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης για την πολύτιμη βοήθειά τους κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Ιδιαίτερη εκτίμηση και ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στην επιστημονική υπεύθυνη της μεθοδολογίας του γενωμικού συγκριτικού υβριδισμού (array-CGH), Επίκουρη Καθηγήτρια Γενετικής, Κα Μαρία Τζέτη για την πολύτιμη βοήθειά της όσον αφορά την καθοδήγηση και τις γνώσεις που μου παρείχε σχετικά με την ανάλυση και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της μεθοδολογίας των array-CGH.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερος και τους βιολόγους Κρινιώ Γιαννίκου και Βασίλη Οικονομάκη για την άριστη συνεργασία καθ' όλη τη διάρκεια της διδακτορικής διατριβής.

Δεν θα ήθελα να παραλείψω ευχαριστίες στα υπόλοιπα μέλη της 7 μελούς συμβουλευτικής επιτροπής, Κα Σοφία Κίτσιου-Τζέλη, Κα Νένη Περβανίδου και Κα Λωρέττα Θωμαΐδου για την αποδοχή της πρόσκλησής μου ως μέλη της 7 μελούς συμβουλευτικής επιτροπής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την συμπαράστασή της όλα αυτά τα χρόνια και ειδικότερα τους γονείς μου, οι οποίοι μου μετέδωσαν την αγάπη για τη μάθηση και αποτελούν πρότυπο για μένα σε όλα τα επίπεδα.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνομα	Ειρήνη
Επώνυμο	Τσούτσου
Διεύθυνση	Λευκών Ορέων 88 Χαλάνδρι, Τ.Κ: 15235 Αθήνα
Email	irenets78@hotmail.com
Τηλέφωνο	+30 6944835411
Ημερομηνία Γεννήσεως	13 Ιουλίου 1978
Οικογενειακή κατάσταση	Έγγαμος, δύο παιδιά
Εθνικότητα	Ελληνική
Τόπος Γέννησης	Αθήνα
Ξένες Γλώσσες	Αγγλικά

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΤΙΤΛΟΙ ΣΠΟΥΔΩΝ

Δευτεροβάθμια εκπαίδευση	1996	Αποφοίτηση Λυκείου Βαθμός: 19/20
Τριτοβάθμια Εκπαίδευση	1997 - 2003	Πανεπιστήμιο Κρήτης Ιατρική Σχολή
Ιατρική Εκπαίδευση	2003	Πτυχίο Ιατρικής Βαθμός: 7,11 (Λίαν Καλώς)
Μεταπτυχιακή Εκπαίδευση	2009	Μεταπτυχιακός Τίτλος Σπουδών Master στη Μοριακή Ιατρική Βαθμός: 8,37
	2013	Τίτλος Ειδικότητας Παιδιατρικής

	Σε εξέλιξη	Διδακτορική Διατριβή PhD στην Ιατρική Γενετική
Υποτροφία	2006	Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών για το Μεταπτυχιακό πρόγραμμα στη Μοριακή Ιατρική

ΘΕΣΕΙΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

29/12/2008 – Σήμερα	Υποψήφιος Διδάκτορας στην Ιατρική Γενετική <i>Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Χωρέμιο Ερευνητικό Κέντρο</i>
02/04/2014 – 05/08/2014	Εξειδίκευση στην Παιδιατρική Γαστρεντερολογία <i>Manchester Children's Hospital, Central Manchester University Hospitals NHS Foundation Trust, Ηνωμένο Βασίλειο</i>
07/08/2013 – 24/03/2014	Επικουρική Επιμελήτρια στην Παιδιατρική <i>Ασκληπιείο Βούλας, Αθήνα</i>
15/03/2012 – 08/07/2012	Ειδικευόμενη ιατρός στην Παιδιατρική <i>Α' Πανεπιστημιακή Παιδιατρική Κλινική Ιπποκράτειο Γεν. Νοσοκομείο Θεσ/νίκης</i>
28/12/2005 – 10/04/2009	Μεταπτυχιακή Φοιτήτρια στη Μοριακή Ιατρική <i>Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών</i>
06/05/2007 – 06/02/2008	Εθελοντική Εργασία στην Παιδιατρική <i>Παιδιατρικό Νοσοκομείο Πεντέλης</i>

08/03/2004 - 07/03/2005

Αγροτικός Ιατρός

Κεντρο Υγείας Σπηλίου, Ρέθυμνο, Κρήτη

08/12/2003 - 07/03/2004

3μηνη εκπαίδευση στα πλαίσια της υποχρεωτικής Υπηρεσίας Υπαίθρου

Γενικό Νοσοκομείο Ρεθύμνου

ΜΕΛΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΤΑΙΡΙΩΝ

- European Society of Human Genetics (ESHG)
- Ελληνική Εταιρεία Ιατρικής Γενετικής (ΕΕΙΓ)
- Παιδιατρική Εταιρία Βορείου Ελλάδος (ΠΕΒΕ)
- Ιατρικός Σύλλογος Ηνωμένου Βασιλείου (GMC) No: 6124640

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΑ ΙΑΤΡΙΚΑ ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

- **Workshop in Dysmorphology 1, 2**
European Society of Human Genetics (ESHG)
The European Human Genetics Conference 2013, Paris, France, 11/06/2013
- **Manchester Dysmorphology Training Course**
University of Manchester
Department of Clinical Genetics, Manchester, UK, 25/04/2013
- **Advanced Paediatric Life Support (APLS) recertification**
Advanced Life Support Group (ALSG), Αθήνα 28/04/2013
- **Advanced Paediatric Life Support (APLS) provider**
Advanced Life Support Group (ALSG), Αθήνα 12/12/2004

ΕΡΕΥΝΑ

- Εκπόνηση διδακτορικής διατριβής με θέμα:

«Κλινική και εργαστηριακή διερεύνηση παιδιών με μικροκεφαλία»

Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Χωρέμιο Ερευνητικό Κέντρο

- Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευση στη Μοριακή Ιατρική με κατεύθυνση Μοριακή Διαγνωστική με θέμα:

«Μοριακή ανίχνευση των μεταλλάξεων FH Capetown, FH Greece 3, FH Cyprus, FH Cyprus 2, FH Lebanese, FH Dutch στο γονίδιο του υποδοχέα της LDL σε ασθενείς με φαινότυπο οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας. Εύρεση εκκινήτων για εφαρμογή της μεθόδου στο γονίδιο του υποδοχέα της LDL (LDLR)»

Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

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

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

Eur J Paediatr Neurol. 2013 May;17(3):316-20. doi: 10.1016/j.ejpn.2012.12.004. Epub 2013 Jan 24.

PMID: 23352671 [PubMed - indexed for MEDLINE]

- **CMV-related immune thrombocytopenic purpura or CMV-induced thrombocytopenia?**

Papagianni A, Economou M, Tsoutsou E, Athanassiou-Metaxa M.

Br J Haematol. 2010 May;149(3):454-5. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.08064.x. Epub 2010 Jan 20.
PMID: 20096016 [PubMed - indexed for MEDLINE]

➤ **Iridocyclitis in a Female Patient with a Variant of Turner Syndrome.**

Sofocleous Christalena, Tsoutsou Eirini, Fafoula Olga, Maritsi Despina and Fryssira Helen
J Genet Syndr Gene Ther 4:196. doi: 10.4172/2157-7412.1000196

➤ **Medullary nephrocalcinosis in infants**

N. Printza, S. Batzios, M. Bantouraki, V C hatzidimitriou, A. Tsiga, E. Douliallaki , M. Ilunga , E. Tsoutsou, A. Ververi, F. Papachristou
Pediatr Nephrol (2011) 26: 1591 -1731

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ

Σε Διεθνή Συνέδρια

➤ **High resolution array Comparative Genomic Hybridization (array-CGH) in syndromic microcephaly: clinical interpretation and genotype-phenotype correlation**

European Conference of Human Genetics 2014, Milan, Italy

➤ **A new case of interstitial microdeletion of 16q21-q22.1 identified by Array-CGH**

22nd European Meeting on Dysmorphology, 2011

➤ **Periorbital and orbital cellulitis in children: A single center experience.**

E. Farmaki, E.Tsoutsou, N.Nedelkopoulou, M. Dimitriadou, G. Pardalos, M. Athanassiou-Metaxa.
First Department of Paediatrics, Hippokrateion General Hospital, Aristotle, University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece
28th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases. Nice, France, 2010

- **Characterization of the Low Density Lipoprotein Receptor Gene (LDLR) mutations in Greek families with Familial Hypercholesterolemia.**

V. Mollari, N. Mavroidis, E.Laios, E. Koniari, A. Nikola, E. Tsoutsou, A. Skouma, E. Drogari

Laboratory of Metabolic Diseases, Choremio Research center. Aghia Sofia Children's Hospital, Athens, Greece

International Symposium on Atherosclerosis. Boston, USA, 2009

- **Mutation Screening of autosomal dominant Hypercholesterolemia in Greece.**

E.Laios, E. Koniari, E. Tsoutsou, N. Skouma, E. Drogari

Laboratory of Metabolic Diseases, Choremio Research center. Aghia Sofia Children's Hospital, Athens, Greece

77th Congress of the European Atherosclerosis Society. Istanbul, Turkey, 2008

Ελληνικά Συνέδρια

- **Orbital complications of rhinosinusitis in children: 4 year experience of a single center.**

E. Farmaki, N.Nedelkopoulou, E.Tsoutsou, E. Maratou, A. Anastasiou, G. Pardalos, M. Athanassiou-Metaxa.

First Department of Paediatrics, Hippokrateion General Hospital, Aristotle, University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

48th Panhellenic Paediatric Congress. Mykonos, Greece.

- **Familial Hypercholesterolemia in Greece – New mutations in Greek population.**

V. Mollari, P. Progiar, E. Tsoutsou, A. Skouma, E. Drogari

Laboratory of Metabolic Diseases, Choremio Research center. Aghia Sofia Children's Hospital, Athens, Greece

12th Panhellenic Congress of Atherosclerosis and Vascular Diseases. Athens, Greece.

- **Round Pneumonia in children. A diagnostic challenge.**

R. Valeri, A. Kleisarchaki, M. Mpantouraki, E.Tsoutsou, E. Doulianaki, E. Tsepketzi, N. Gompakis.
 First Department of Paediatrics, Hippokrateion General Hospital, Aristotle, University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece
 47th Panhellenic Paediatric Congress. Chania, Greece.

- **Study of the new gene PCSK9, responsible for familial Hypercholesterolemia in Greek Population (Pilot study).**

E. Koniari, V. Mollari, E.Laios, A. Nikola, E. Tsoutsou, A. Skouma, E. Drogari
 Laboratory of Metabolic Diseases, Choremio Research center. Aghia Sofia Children's Hospital, Athens, Greece
 Panhellenic Medical Congress. Athens, Greece

- **The four most common mutations of LDL receptor in Greek families with familial Hypercholesterolemia.**

V. Mollari, N. Mavroidis, E.Laios, E. Koniari, A. Nikola, E. Tsoutsou, A. Tsaroumi, A. Skouma, E. Drogari
 Laboratory of Metabolic Diseases, Choremio Research center. Aghia Sofia Children's Hospital, Athens, Greece
 5th Annual Congress on Atherosclerosis.

- **Study of 6 mutations of LDL receptor in patients with familial Hypercholesterolemia phenotype.**

E. Tsoutsou, E.Laios, E. Koniari, E. Drogari
 Laboratory of Metabolic Diseases, Choremio Research center. Aghia Sofia Children's Hospital, Athens, Greece
 46th Panhellenic Paediatric Congress. Corfu, Greece

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΜΙΚΡΟΚΕΦΑΛΙΑ

Ως μικροκεφαλία ορίζεται η κατάσταση η οποία χαρακτηρίζεται από περίμετρο κεφαλής μικρότερη των δύο σταθερών αποκλίσεων από τη μέση τιμή ή μικρότερη από την 3^η εκατοστιαία θέση (ΕΘ) ανάλογα με την ηλικία και το φύλο του ασθενούς. Είναι αποτέλεσμα της πρώιμης σύγκλεισης των κρανιακών ραφών λόγω ελαττωμένης νευρογένεσης.

Η μικροκεφαλία μπορεί να είναι είτε μεμονωμένη, είτε να συνυπάρχει με άλλες νευρολογικές καταστάσεις, εξωτερικά ιδιόμορφα μορφολογικά χαρακτηριστικά και/ή πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες, γνωστή ως συνδρομική μικροκεφαλία. Αν και πολλές περιπτώσεις μπορούν να αναγνωριστούν και να ταξινομηθούν με βάση των χαρακτηριστικό τους φαινότυπο, κάποιες άλλες απαιτούν περαιτέρω διερεύνηση. Η παρούσα διδακτορική διατριβή περιγράφει την κλινική και εργαστηριακή διερεύνηση των ασθενών με μικροκεφαλία που προσήλθαν στα εξωτερικά ιατρεία της Κλινικής Γενετικής του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών από τον Δεκέμβριο του 2009 έως Ιούνιο του 2014 και την εφαρμογή της μεθόδου γενωμικού συγκριτικού υβριδισμού (array-CGH) στις αδιάγνωστες περιπτώσεις, με σκοπό την αναγνώριση παθολογικών μικροελλειμμάτων και μικροδιπλασιασμών. Από τους 203 ασθενείς με συνδρομική μικροκεφαλία που προσήλθαν στα εξωτερικά ιατρεία της Κλινικής Γενετικής, η μέθοδος array-CGH εφαρμόστηκε σε 60 αδιάγνωστες περιπτώσεις, μετά από γραπτή συγκατάθεση των γονέων. Σε όλες τις περιπτώσεις, τόσο ο απλός καρυότυπος όσο και άλλα απαραίτητα ανά περίπτωση γενετικά test, ήταν προηγουμένως αρνητικά. Χρησιμοποιήθηκαν υψηλής ανάλυσης 4x180K και 1x244K Agilent arrays με >170.000 και >236.000 ολιγονουκλεοτιδικούς ανιχνευτές αντίστοιχα και με μέση ανάλυση 7-13Kb.

Από τους 60 ασθενείς στους οποίους εφαρμόστηκε η μέθοδος array-CGH, παθολογικά CNVs (copy number variations) (παραλλαγές αριθμού αντιγράφων) μεγέθους από 0.008Mb έως 34Mb, αναγνωρίστηκαν σε 38. Σε 21 από τους 38

ασθενείς με παθολογικά array-CGH, περισσότερες από μία χρωμοσωμικές αναδιατάξεις συνέβαλλαν στη κλινική έκφραση του φαινοτύπου. Τελικά, στο σύνολο των 38 ασθενών, αναγνωρίστηκαν 41 μικροελλείμματα και 18 μικροδιπλασιασμοί.

Από τα συνολικά αποτελέσματα προκύπτει ότι σε 37 από τους 38 ασθενείς η μικροκεφαλία συνοδεύονταν από ψυχοκινητική ή/και διανοητική καθυστέρηση. Δυσμορφικά χαρακτηριστικά αναγνωρίστηκαν σε 33 ασθενείς, από επιληψία έπασχαν 14 ασθενείς, κεντρική υποτονία ήταν έκδηλη σε 13 ασθενείς, ενώ συγγενής καρδιοπάθεια και άλλες συγγενείς ανωμαλίες αναγνωρίστηκαν σε 7 και 12 ασθενείς αντίστοιχα. Η μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου (MRI) ήταν παθολογική σε 22 από τους 38 ασθενείς. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε 16 από τους 38 ασθενείς η μικροκεφαλία ήταν συγγενής ενώ σε 15 από τους 38 η μικροκεφαλία εμφανίστηκε μετά τη γέννηση. Τέλος σημαντικά γονίδια που πιθανώς συμβάλλουν στην εμφάνιση της μικροκεφαλίας αναγνωρίστηκαν σε 27 ασθενείς.

Συμπερασματικά, η εφαρμογή της μεθόδου array-CGH σε αδιάγνωστες περιπτώσεις συνδρομικής μικροκεφαλίας είναι χρήσιμη και σημαντική, διότι επιτρέπει την αναγνώριση μικροελλειμμάτων και μικροδιπλασιασμών που πιθανότατα ευθύνονται για τον φαινότυπο του ασθενούς και επίσης συμβάλλει στη καλύτερη συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου.

SUMMARY

CLINICAL AND LABORATORY INVESTIGATION OF CHILDREN WITH SYNDROMIC MICROCEPHALY

Microcephaly is defined as an occipitofrontal head circumference (OFC) which is 2 or more standard deviations below the mean (-2SD) for age and sex. It results from the premature fusion of the cranial sutures due to impaired neurogenesis. Microcephaly can be either isolated or it may coexists with other neurological entities and/or multiple congenital anomalies, known as syndromic microcephaly. Although many syndromic cases can be classified based on the characteristic phenotype, some others require further investigation. The present study describes the clinical and laboratory investigation of children with syndromic microcephaly and the application of array-comparative genomic hybridization (array-CGH) on the unknown cases in order to identify clinically relevant copy number variations (CNVs).

From a cohort of 203 unrelated patients with syndromic microcephaly who were reviewed in the Clinical Genetics Outpatient Clinic, 60 undiagnosed cases underwent array-CGH analysis with the informed consent of the parents. In all cases previous standard karyotype as well as other genetic tests were negative. High resolution 4x180K and 1x244K Agilent arrays (>170.000 and >236.000 probes respectively, average resolution 7-13Kb) were used in this study.

In 38 out of 60 patients featuring microcephaly among other phenotypic anomalies, array-CGH revealed significant CNVs ranging in size from 0.008 to 31.6Mb. In 21 of the 38 patients, complex rearrangements contributed to the overall clinical phenotype and a total of 41 microdeletions and 18 microduplications were identified. Microcephaly was accompanied by developmental delay/intellectual disability in almost all patients (37/38 patients). Other associated symptoms included: dysmorphic features in 33, epilepsy in 14, hypotonia in 13, congenital heart disease in 7 and other congenital anomalies in 12. Magnetic resonance imaging (MRI) was pathogenic in 22 out of the 38 patients indicating a variety of findings. It is worthwhile to mention that 16 array-CGH positive patients presented with congenital microcephaly and 15 presented with postnatal microcephaly. In the

remaining 7 out of the 34 patients, the time of onset remains unknown. Finally, significant genes which may contribute to the underdevelopment of the brain were identified in 27 patients

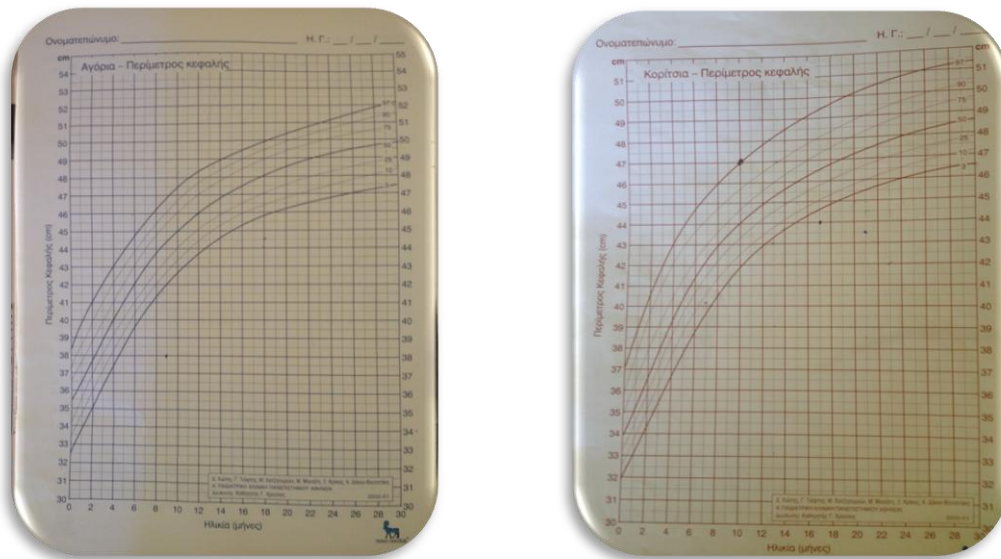
In conclusion, array-CGH contributes to the elucidation of undefined syndromic microcephalic cases, by permitting the discovery of plausible novel microdeletion and/or microduplication syndromes and contributing to more precise phenotype-genotype correlation.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ-ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΜΙΚΡΟΚΕΦΑΛΙΩΝ

«Ως μικροκεφαλία ορίζεται η κατάσταση η οποία χαρακτηρίζεται από περίμετρο κεφαλής μικρότερη των δύο σταθερών αποκλίσεων από τη μέση τιμή ή μικρότερη από την 3^η εκατοστιαία θέση (ΕΘ) ανάλογα με την ηλικία και το φύλο του ασθενούς»



Εικόνα 1. Οι καμπύλες ανάπτυξης της περιμέτρου κεφαλής σε συνάρτηση με την ηλικία σε μήνες για τα (α) αγόρια (β) κορίτσια.

Α΄ Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών (Διευθυντής-Καθηγητής: Κος Γεώργιος Χρούσος).

Οι περισσότερες χώρες του κόσμου, όπως και η Ελλάδα, έχουν θεσπίσει τις δικές τους καμπύλες ανάπτυξης ή (αύξησης) οι οποίες βασίζονται σε μακροχρόνια καταγραφή των σωματομετρικών χαρακτηριστικών ενός πολύ μεγάλου αριθμού παιδιών και εφήβων (αγοριών και κοριτσιών) ηλικίας 1-18 ετών (Εικ.1). Οι καμπύλες αύξησης συσχετίζουν το βάρος, το ύψος και την περίμετρο κεφαλής σε συνάρτηση με την ηλικία και το φύλο του παιδιού. Σήμερα στη Ελλάδα χρησιμοποιούμε τις σωματομετρικές καμπύλες αύξησης που διαμορφώθηκαν το 2000-2001 από την Α΄ Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών (Διευθυντής-Καθηγητής: Κος Γεώργιος Χρούσος).

Ειδικές καμπύλες αύξησης έχουν διαμορφωθεί για τα πρόωρα νεογνά σε χώρες του εξωτερικού. Στην Ελλάδα χρησιμοποιούνται οι καμπύλες του Fenton από το CALGARY University στον Καναδά. Όταν το πρόωρο νεογνό συμπληρώσει τις 40 εβδομάδες από την ημερομηνία της πρώτης ημέρας της τελευταίας εμμήνου ρήσης της μητέρας, τότε ο παιδίατρος μπορεί να παρακολουθεί την ανάπτυξη του βρέφους ακολουθώντας της καμπύλες ανάπτυξης των τελειόμηνων-υγείων παιδιών. Πάντοτε όμως λαμβάνοντας υπόψη την διορθωμένη ηλικία.

Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι για συγκεκριμένα γενετικά νοσήματα-σύνδρομα όπως η Νευροϊνωμάτωση τύπου 1, το σύνδρομο Rubinstein Taybi και το σύνδρομο Williams, έχουν δημιουργηθεί ειδικές καμπύλες ανάπτυξης για την καλύτερη παρακολούθηση των παιδιών αυτών.

Κατάταξη μικροκεφαλιών

Πολλοί συγγραφείς-ερευνητές κατά καιρούς έχουν προτείνει διάφορους τύπους και τρόπους κατάταξης των μικροκεφαλιών. Η κατάταξη που λαμβάνει σήμερα την μεγαλύτερη υποστήριξη και που εφαρμόστηκε και στη παρούσα διδακτορική διατριβή είναι αυτή που προτάθηκε από την Dianne Abuelo το 2007 ¹ και κατατάσσει τις μικροκεφαλίες σε συγγενείς και επίκτητες, ανάλογα με το χρόνο εμφάνισης τους. Τα αίτια τόσο των συγγενών όσο και των επίκτητων μικροκεφαλιών μπορεί να είναι είτε γενετικά είτε περιβαλλοντικά με τη διαφορά ότι στη συγγενή μικροκεφαλία τα αίτια είναι συνήθως γενετικά, ενώ στην επίκτητη μικροκεφαλία τα αίτια είναι συχνότερα περιβαλλοντικά. Δεν πρέπει όμως να ξεχνάμε ότι σε πολλά γενετικά σύνδρομα η μικροκεφαλία αναπτύσσεται μετά τη γέννηση, όπως π.χ στο σύνδρομο Angelman, Rett και Rubinstein Taybi, ενώ πολλοί περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως ο καπνός, το αλκοόλ και οι ενδομήτριες λοιμώξεις μπορούν να επιδράσουν στο έμβρυο νωρίς κατά την ενδομήτριο ζωή με αποτέλεσμα η μικροκεφαλία να είναι εμφανής από τη γέννηση.

Συγγενής μικροκεφαλία

- Γενετικά αίτια (συνήθως)

- Περιβαλλοντικά

Επίκτητη μικροκεφαλία

- Γενετικά αίτια
- Περιβαλλοντικά (συνήθως)

1.2 ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΑΙΤΙΑ ΜΙΚΡΟΚΕΦΑΛΙΑΣ

A. Συνδρομική μικροκεφαλία

✓ **Σύνδρομα που οφείλονται σε αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες και σε δομικές ανωμαλίες μεγέθους >5-10Mb**

✓ **Αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες**

i. Τρισωμία 21 (Σύνδρομο Down)

Το σύνδρομο Down (τρисωμία 21), είναι η συχνότερη χρωμοσωμική ανωμαλία στους ανθρώπους και δημιουργείται από την ύπαρξη ενός παραπάνω χρωμοσώματος στο 21^ο ζευγάρι χρωμοσωμάτων.

Κλινικά χαρακτηρίζεται από διακριτά κρανιοπροσωπικά γνωρίσματα όπως η μικροκεφαλία η οποία συνήθως είναι ήπια, καθυστερημένη σύγκλιση ραφών,



βλεφαρικές σχισμές με έντονη κλίση προς τα πάνω, ευρεία βάση της μύτης, επίκανθο, μικρή μύτη, ανωμαλίες ώτων και ανωμαλίες οδόντων. Επίσης, όλοι οι ασθενείς με σύνδρομο Down πάσχουν από νεογνική και βρεφική υποτονία με χαρακτηριστικό άνοιγμα του στόματος και προέχουσα γλώσσα καθώς και από νοητική υστέρηση μέτριου προς σοβαρού βαθμού. Σε

μεγάλο ποσοστό παρατηρούνται και άλλες συγγενείς ανωμαλίες όπως η συγγενής καρδιοπάθεια^{1α}.

ii. Τρισωμία 13 (Σύνδρομο Patau)

Το σύνδρομο Patau (τρισωμία 13) χαρακτηρίζεται από μικροκεφαλία και εγκεφαλικές βλάβες τύπου ολοπροσεγκεφαλίας.



Συνεπώς παρατηρείται ποικίλου βαθμού μη ολοκληρωμένη ανάπτυξη του εγκεφάλου, των οπτικών και ακουστικών νεύρων και σοβαρού βαθμού νοητική υστέρηση. Στα χαρακτηριστικά ευρήματα του συνδρόμου περιλαμβάνονται η απουσία φρυδιών, η σχιστία χείλους ή/και υπερώας, τα δυσπλαστικά ή ανώμαλα ώτα, η πολυδακτυλία με τα σφιγμένα σε

γροθιά χέρια και τις εφιπτεύσεις των δακτύλων και η κρυφορχία ^{1α}.

iii. Τρισωμία 18 (Σύνδρομο Edward's)

Το σύνδρομο Edward's (τρισωμία 18) αποτελεί τη δεύτερη συχνότερη χρωμοσωμική



ανωμαλία μετά το σύνδρομο Down. Στα συνηθέστερα (> 50% των ασθενών) φαινοτυπικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνονται οι στενές και με κλίση προς τα κάτω βλεφαρικές σχισμές, το μικρό άνοιγμα του στόματος, η στενή υπερώα, η μικρογναθία, οι πολλαπλές ανωμαλίες των αυτιών, το προέχον ινιακό οστό, οι ανωμαλίες των δακτύλων των άνω και των κάτω άκρων (χαρακτηριστικό γνώρισμα το χέρι σε γροθιά με εφίπτευση των δακτύλων),

το προέχον στέρνο, η υποπλασία των σκελετικών μυών και οι συγγενείς καρδιοπάθειες. Σοβαρή ψυχοκινητική καθυστέρηση και χαμηλό προσδόκιμο επιβίωσης χαρακτηρίζει τους περισσότερους ασθενείς. Όσον αφορά την περίμετρο κεφαλής, η μικροκεφαλία ανήκει στις κλινικές εκδηλώσεις με ποσοστό εμφάνισης 10%-50% των ασθενών ^{1α}.

- ✓ **Δομικές ανωμαλίες μεγέθους >5-10 Mb**

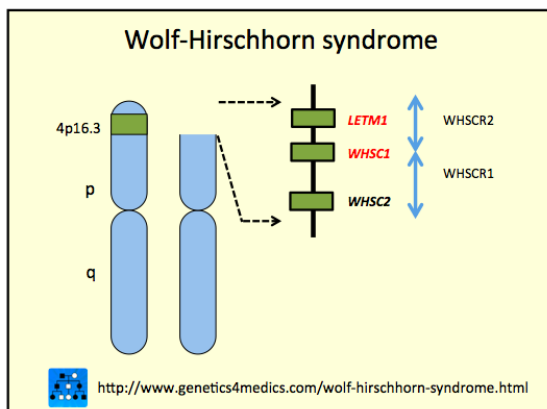
iv. 4p- σύνδρομο (Σύνδρομο Wolf Hirschhorn)

Το σύνδρομο Wolf-Hirschhorn (WHS, OMIM#194190) ή 4p σύνδρομο ελλείμματος πρόκειται για μία σύνθετη γενετική διαταραχή η οποία προκαλείται από ετερόζυγη



έλλειψη γενετικού υλικού ποικίλου μεγέθους στο κοντό σκέλος του χρωμοσώματος 4. Περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Hirschhorn και συνεργάτες καθώς και από τον Wolf και συνεργάτες το 1965. Μελέτες συσχέτισης γονοτύπου-φαινοτύπου έδειξαν ότι η έλλειψη συγκεκριμένων γονιδίων στη χρωμοσωμική ταινία 4p16.3 είναι

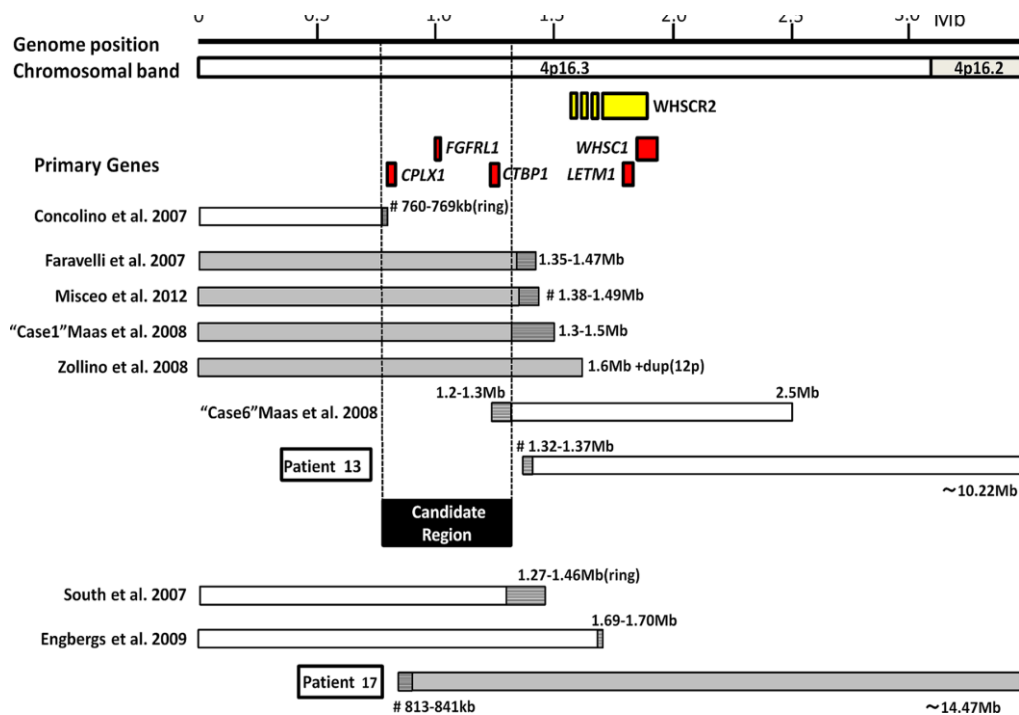
απαραίτητη για την εμφάνιση του χαρακτηριστικού κλινικού φαινοτύπου του συνδρόμου ο οποίος αποτελείται από μικροκεφαλία, καθυστέρηση ανάπτυξης, ψυχοκινητική καθυστέρηση, επιληψία και διακριτά χαρακτηριστικά προσώπου όπως ευρεία βάση της μύτης συνοδευόμενη από υπερτελορισμό και προέχον μεσόφρυο, τοξωτά φρύδια, κοντό φίλτρο και ανωμαλίες ώτων, ομοιάζοντα με περικεφαλαία αρχαίου έλληνα πολεμιστή “Greek warrior helmet appearance”. Τα γονίδια αυτά βρίσκονται στις δύο παρακείμενες για το Wolf-Hirschhorn σύνδρομο κρίσιμες περιοχές, WHSCR1 και WHSCR2 (WHSCR2) στην χρωμοσωμική περιοχή 4p16.3 (Εικ.2).



Εικόνα 2: WHSCR1 και WHSCR2, οι δύο κριτικές περιοχές του συνδρόμου Wolf Hirschhorn.

Το μήκος τους είναι περίπου 200Kb και βρίσκονται σε απόσταση περίπου 1.9Mb από το τελομερίδιο του 4p χρωμοσώματος. Η WHSCR1 βρίσκεται εγγύς προς το κεντρομερίδιο και περιλαμβάνει τα γονίδια WHSC2 καθώς και το μεγαλύτερο τμήμα του WHSC1 γονιδίου εκτός από το 5' άκρο του, ενώ η WHSCR2 βρίσκεται άπω, προς την πλευρά του τελομεριδίου του χρωμοσωμικού σκέλους 4p και περιλαμβάνει τα γονίδια LETM1 καθώς και το 5' άκρο του γονιδίου WHSC1. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι το άπω όριο της WHSCR2 δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί μέχρι σήμερα. Η έλλειψη του ενός γονιδίου WHSC1 με συνέπεια τη μειωμένη παραγωγή της πρωτεΐνης έχει προταθεί από σημαντικό αριθμό ερευνητών ως υπεύθυνη για αρκετά από τα χαρακτηριστικά κλινικά γνωρίσματα του συνδρόμου όπως η μικροκεφαλία, η αναπτυξιακή καθυστέρηση, η σοβαρή καθυστέρηση στην αύξηση και κάποια από τα χαρακτηριστικά του προσώπου ². Η πρωτεΐνη WHSC1 λαμβάνει μέρος στο μονοπάτι που σχετίζεται με την απάντηση του κυττάρου στην βλάβη του DNA και συνεπώς είναι σημαντική και για την αντιγραφή του. Είναι αποδεδειγμένο ότι μεταλλάξεις και ελλείμματα σε γονίδια που σχετίζονται με τον τρόπο απάντησης του κυττάρου σε βλάβες του DNA καθώς και με μηχανισμούς διόρθωσης του DNA, σχετίζονται με διαταραχές στη νευρογένεση και συνεπώς οδηγούν σε μικροκεφαλία. Παρόμοιο αποτέλεσμα έχει και η ετερόζυγη έλλειψη των γονιδίων SLBP και WHSC2 η οποία καταλήγει σε διαταραχή στην αντιγραφή του DNA και ελαττωμένη DNA σύνθεση με αποτέλεσμα μη ομαλή νευρογένεση. Το κλινικό αποτέλεσμα είναι αναπτυξιακή-νοητική υστέρηση και η μικροκεφαλία ³. Όσον αφορά το γονίδιο LETM1, το 2007 προτάθηκε από τον South και συνεργάτες ⁴ ως το γονίδιο του οποίου η ετεροζυγωτία ελλείμματος είναι υπεύθυνη για την εμφάνιση των σπασμών-επιληψίας στους ασθενείς με σύνδρομο WH. Αργότερα, ερευνητές απέδειξαν ότι ένας αριθμός ασθενών με ετεροζυγωτία του LETM1 γονιδίου, δεν εμφάνιζε σπασμούς και δεν είχε ανωμαλίες στο ηλεκτροεγκεφαλογράφημα ². Αντιθέτως ένας επίσης σημαντικός αριθμός ασθενών με ελλείμματα στο άπω τμήμα του 4p χρωμοσώματος τα οποία όμως δεν περιελάμβαναν το γονίδιο LETM1, έπασχε από επιληψία. Έτσι ο Shimizu και οι συνεργάτες του το 2013 ⁵ ανακοίνωσαν ότι ενώ το γονίδιο LETM1 παραμένει το κυρίως υπεύθυνο γονίδιο για την εμφάνιση επιληψίας στους ασθενείς με σύνδρομο WH, μία άλλη περιοχή άπω του γονιδίου LETM1, θεωρείται επίσης υπεύθυνη για την εμφάνιση σπασμών (Εικ.3).

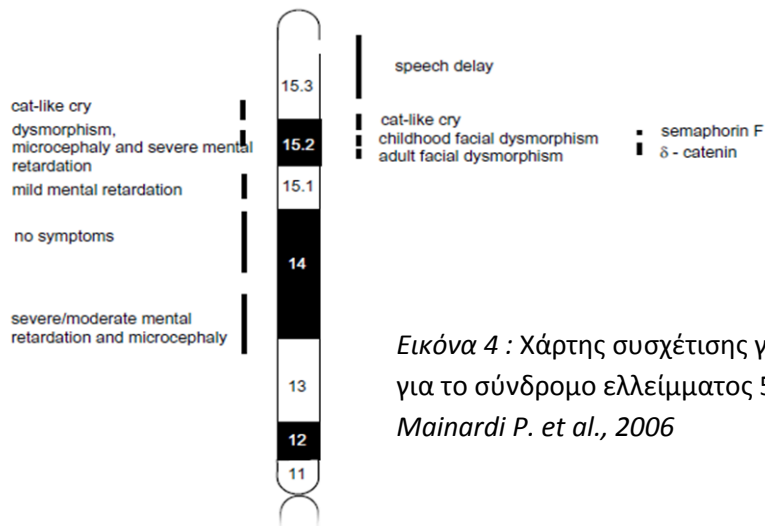
Συγκεκριμένα η ετεροζυγωτία των γονιδίων CTBP1 και CPLX1 που έχουν έδρα σε αυτή τη περιοχή θεωρείται υπεύθυνη για την εμφάνιση σπασμών στους ασθενείς στους οποίους το έλλειμμα δεν περιλαμβάνει το LETM1 γονίδιο. Τέλος πρέπει να τονίσουμε ότι το σύνδρομο WH είναι ένα σύνδρομο του οποίου ο κλινικός φαινότυπος είναι σε άμεση συνάρτηση με το μήκος του ελλείμματος και των αριθμό των γονιδίων που βρίσκονται σε ετεροζυγωτία. Άλλα σχετικά συχνά κλινικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου είναι ο υποσπαδίας, οι σχιστίες υπερώας ή/και άνω χείλους καθώς και οι συγγενείς καρδιοπάθειες. Όσον αφορά το βαθμό της νοητικής υστέρησης εξαρτάται άμεσα από την εμφάνιση ή όχι σπασμών και από την σωστή φαρμακευτική ρύθμισή τους.



Εικόνα 3: Ως candidate region ορίζεται μια άλλη περιοχή, άνω του γονιδίου LETM1 υπεύθυνη για την εμφάνιση σπασμών. Shimizy et al., 2013

✓ **5p σύνδρομο ελλείμματος (Σύνδρομο Cat Cry)**

Το σύνδρομο Cri-du-chat αποτελεί μια σαφώς καθορισμένη κλινική οντότητα η οποία αιτιολογικά οφείλεται σε ελλείμματα ποικίλου μεγέθους που εντοπίζονται



Εικόνα 4 : Χάρτης συσχέτισης γονοτύπου-φαινοτύπου για το σύνδρομο ελλείμματος 5p/Cri du chat Cerruti Mainardi P. et al., 2006

στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 5. Οι Cerruti Mainardi P et al., 2006⁶ δημοσίευσαν ένα χάρτη συσχέτισης γονοτύπου-φαινοτύπου (Εικ.4), καθορίζοντας ότι τα τυπικά γνωρίσματα του συνδρόμου όπως η μικροκεφαλία, η σοβαρού βαθμού νοητική υστέρηση, η καθυστέρηση στην αύξηση και τα ειδικά δυσμορφικά



χαρακτηριστικά του συνδρόμου όπως στρογγυλό πρόσωπο, υψηλά τοξωτά φρύδια, επίκανθος, υπερτελορισμός, ευρεία βάση της μύτης, βλεφαρικές σχισμές με κλίση προς τα κάτω, χαμηλή πρόσφυση ώτων, γωνίες του

στόματος με κλίση προς τα κάτω και μικρογναθία με μυτερό πηγούνι, οφείλονται σε ελλείμματα που εντοπίζονται στην χρωμοσωμική περιοχή 5p15.2, ενώ το χαρακτηριστικό κλάμα «δίκην γαλής» και η καθυστέρηση στο λόγο αποδίδονται σε ελλείμματα στη χρωμοσωμική περιοχή 5p.15.3. Συνεπώς ο αριθμός των φαινοτυπικών γνωρισμάτων βρίσκεται σε άμεση εξάρτηση από το μέγεθος του

ελλείμματος, πράγμα που έχει αποδειχτεί άλλωστε και από ένα μεγάλο αριθμό συγγραφέων. Ελλείμματα που εντοπίζονται αποκλειστικά στην περιοχή 5p15.3 (άπω της 5p15.2 περιοχής) έχουν συσχετιστεί με την «μη τυπική μορφή του συνδρόμου» η οποία χαρακτηρίζεται από καθυστέρηση στο λόγο, ήπια νοητική υστέρηση ή ακόμα και φυσιολογική νοημοσύνη και από το χαρακτηριστικό κλάμα «δίκην γαλής». Πρόσφατα οι Amira E. et al., 2014 ⁷ περιέγραψαν πέντε ασθενείς, μέλη τριών γενεών της ίδιας οικογένειας, οι οποίοι κλινικά χαρακτηρίζονται από μικροκεφαλία, δυσμορφικά χαρακτηριστικά προσώπου παρόμοια με αυτά του τυπικού συνδρόμου και καθυστέρηση αύξησης. Και στους πέντε ασθενείς η ανάλυση με array-CGH αποκάλυψε το ίδιο έλλειμμα στη περιοχή 5p15.32-33 μεγέθους 5.5 Mb. Βασιζόμενοι στους δικούς τους ασθενείς καθώς και σε δύο επιπλέον ασθενείς από τη βιβλιογραφία με παρόμοιο κλινικό φαινότυπο και μεγάλα επικαλυπτόμενα ελλείμματα που εντοπίζονται στην περιοχή 5p15.3, πρότειναν ότι το φαινοτυπικό εύρος του άτυπου Cri-du-chat συνδρόμου πρέπει να επεκταθεί πέραν του χαρακτηριστικού κλάματος και της καθυστέρησης στο λόγο και να περιλαμβάνει επίσης μικροκεφαλία (κυρίως επίκτητη), καθυστέρηση στην αύξηση και δυσμορφικά χαρακτηριστικά του προσώπου.

✓ **13q σύνδρομο ελλείμματος**

Το 13q σύνδρομο ελλείμματος πρόκειται για μια γενετική διαταραχή όπου το εύρος



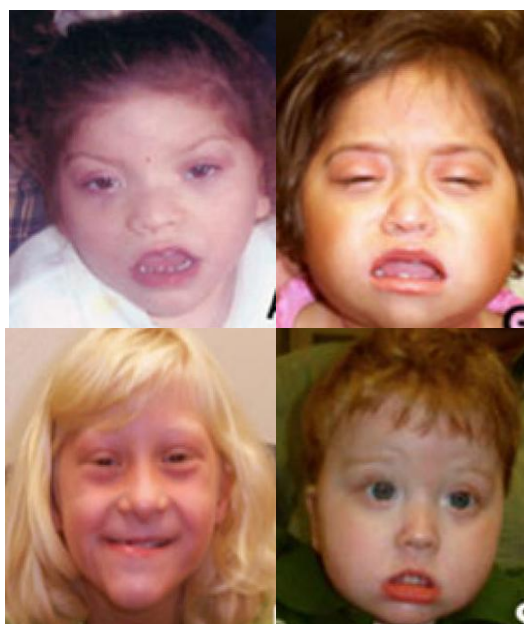
και η βαρύτητα των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών βρίσκεται σε άμεση εξάρτηση από το μέγεθος και τη θέση του ελλείμματος στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 13. Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία ^{8,9}, ελλείμματα που βρίσκονται στην εγγύς περιοχή του μακρού

σκέλους του χρωμοσώματος 13, q12.2-q31, χαρακτηρίζονται από ελάσσονες συγγενείς ανωμαλίες, ήπιου-μέτριου βαθμού αναπτυξιακή-νοητική υστέρηση και μεγάλη ευαισθησία σε εμφάνιση ρετινοβλαστώματος λόγω μονοσωμίας του RB1

γονιδίου που βρίσκεται στην περιοχή αυτή. Μεγαλύτερα ελλείμματα που καλύπτουν τη 13q12.2-q32 περιοχή, συνοδεύονται από σοβαρότερη κλινική εικόνα με μείζονες συγγενείς ανωμαλίες, μέτρια-σοβαρού βαθμού νοητική υστέρηση και μικροκεφαλία, ενώ άπω ελλείμματα στην περιοχή 13q33-q34, συνοδεύονται από σοβαρού βαθμού διανοητική καθυστέρηση, μικροκεφαλία, συγγενή καρδιοπάθεια και άλλες μείζονες ή ελάσσονες συγγενείς ανωμαλίες.

✓ **18q σύνδρομο ελλείμματος και σύνδρομο Pitt-Hopkins**

Μία από τις συχνότερες γενετικές ανευπλοειδίες (συχνότητα 1/10.000) αποτελεί το 18q σύνδρομο ελλείμματος. Οφείλεται σε ελλείμματα ποικίλου μεγέθους εντοπιζόμενα στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 18. Συνήθως τα ελλείμματα



εντοπίζονται στο άπω τμήμα του 18q (από τη χρωμοσωμική περιοχή 18q21.1 έως το τέλος της χρωμοσωμικής περιοχής 18q23, η οποία αποτελεί και το άκρο του 18q), λαμβάνοντας την ονομασία “distal 18q deletion syndrome”. Κλινικά

χαρακτηρίζεται από νοητική υστέρηση, μικροκεφαλία, υποτονία, ευδιάκριτα δυσμορφικά γνωρίσματα (μικρές βλεφαρικές σχισμές, ανωμαλίες έξω ωτός, ανωμαλίες στη υπερώα, carp-shaped mouth → στόμα με σχήμα κυπρίνου) απώλεια ακοής, αυτοάνοσα νοσήματα όπως θυρεοειδίτιδα Hashimoto, νόσος Graves, ρευματοειδής αρθρίτιδα, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 και αυτοάνοση IgA ανεπάρκεια. Συχνό εύρημα στη μαγνητική τομογραφία του εγκεφάλου (MRI εγκεφάλου) αποτελεί η δυσμυελίνωση των νευρώνων του εγκεφάλου, ενώ πλήθος άλλων ευρημάτων έχουν επίσης καταγραφεί. Οι Ozsu E. et al., 2014¹⁰ χαρακτήρισαν τη περιοχή 18q22.3 ως κριτική για το σύνδρομο, ενώ ελλείμματα στην περιοχή 18q21 θεωρούνται υπεύθυνα για την εμφάνιση των αυτοάνοσων νοσημάτων και ελλείμματα στην περιοχή 18q21.33

θεωρούνται υπεύθυνα για την εμφάνιση της μικρής περιμέτρου κεφαλής. Γενικά το μήκος του ελλείμματος συσχετίζεται με τη σοβαρότητα του φαινοτύπου αλλά ένας επιπλέον βασικός παράγοντας που συμβάλλει στη σοβαρότητα αυτού, είναι η έλλειψη ή μη του γονιδίου TCF4, το οποίο χαρτογραφείται στη χρωμοσωμική περιοχή 18q21.2 και η απλοανεπάρκειά του έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση του συνδρόμου Pitt-Hopkins.

Το σύνδρομο **Pitt-Hopkins** (OMIM#610954) χαρακτηρίζεται από σοβαρού βαθμού νοητική υστέρηση, υποτονία, επίκτητη μικροκεφαλία, επιληψία, αυτιστικά στοιχεία

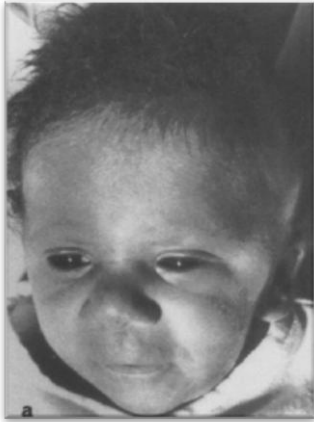


συμπεριφοράς, διαλείποντα υπεραερισμό, ποικίλες μορφολογικές ανωμαλίες στη δομή του εγκεφάλου με συχνότερη τη λέπτυνση /αγενεσία του μεσολόβιου και χαρακτηριστικές μορφολογικές ανωμαλίες όπως το πλατύ-μεγάλο στόμα με σαρκώδη χείλη, clubbed ή πλατειά δάκτυλα, μεγάλη απόσταση θηλών, ύπαρξη τρίτης θηλής

και γενετικές ανωμαλίες με συχνότερη το μικρό πέος. Οι Hasi M et al., 2011¹¹ σύγκριναν δύο ομάδες ασθενών με τελικά ελλείμματα στο μακρό σκέλος του χρωμοσώματος 18. Η πρώτη ομάδα αποτελούνταν από ελλείμματα τα οποία δεν περιλάμβαναν το γονίδιο TCF4 (TCF4+/+) ενώ η δεύτερη ομάδα αποτελούνταν από ασθενείς με μεγαλύτερα ελλείμματα που περιλάμβαναν το γονίδιο TCF4 (TCF4-/+). Το συμπέρασμα ήταν ότι οι ασθενείς TCF4-/+ παρουσίαζαν βαρύτερη κλινική εικόνα. Συγκεκριμένα παρουσίαζαν βαρύτερη νοητική υστέρηση με απουσία λόγου σε όλους τους ασθενείς και σοβαρή μειονεξία όσον αφορά την αντίληψη και το λόγο. Τέλος ο μέσος όρος ηλικίας θανάτου των TCF4-/+ ασθενών ήταν κατά πολύ μικρότερος συγκριτικά με αυτόν των TCF4+/+ ασθενών. Συνηθέστερη αιτία θανάτου τα επανειλημμένα επεισόδια εισρόφησης.

✓ **Τρισωμία 4p**

Συχνότερα απαντάται η μερική τρισωμία στο άπω ήμισυ του βραχέως σκέλους του



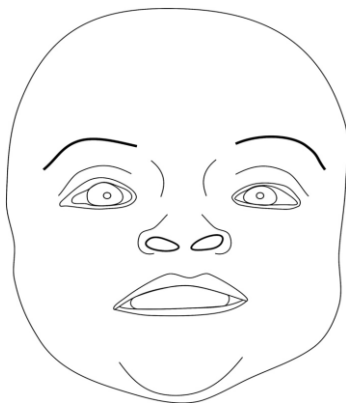
χρωμοσώματος 4 (partial-distal half-trisomy 4p) η οποία και χαρακτηρίστηκε σαν ξεχωριστή οντότητα πριν από περίπου 40 έτη από τους Dallapiccola et al., 1977 ¹².

Αιτιολογικά μπορεί να προκύψει από μη ισοζυγισμένη μετάθεση, περικεντρική αναστροφή ή και ως de novo διπλασιασμός. Κλινικά χαρακτηρίζεται από σοβαρού βαθμού ψυχοκινητική καθυστέρηση (100% των περιπτώσεων, καθυστέρηση της ανάπτυξης,

μικροκεφαλία, οφθαλμολογικές διαταραχές, και μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως υπερτελορισμό, ευρεία βάση της μύτης, παχύ ακρορρίνιο, χαμηλή πρόσφυση ώτων, μακρύ και λείο φίλτρο, ανωμαλίες δακτύλων, βραχύς λαιμός.

✓ **Άπω τρισωμία 14q**

Διπλασιασμός μεγάλων τμημάτων του άπω μακρού σκέλους (q) του χρωμοσώματος 14 (14q24→14qter), συνοδεύονται από κρανιοπροσωπικές δυσμορφίες όπως μικροκεφαλία, μεγάλη πρόσθια πηγή, ψηλό μέτωπο, βλεφαροφίμωση, ευρεία βάση



της μύτης, υπερτελορισμό, χαμηλή πρόσφυση ώτων, δύσμορφη μύτη, λεπτό άνω χείλος και μικρογναθία.

Άλλα συχνά κλινικά γνωρίσματα του συνδρόμου αποτελούν η σοβαρού βαθμού αναπτυξιακή καθυστέρηση/νοητική υστέρηση, η αδυναμία αύξησης, η υποτονία και οι συγγενείς καρδιοπάθειες. Η περιοχή είναι πολύ πλούσια σε γονίδια και μεταλλάξεις σε

κάποια από αυτά έχουν συνδεθεί με γνωστές ασθένειες και σύνδρομα. Ενδεικτικά αναφέρουμε το γονίδιο SPATA7, μεταλλάξεις στο οποίο έχουν συνδεθεί με τη συγγενή αμαύρωση του Leber (OMIM#612712), το γονίδιο GALC μεταλλάξεις στο

οποίο προκαλούν τη νόσο Krabbe (OMIM#245200) και το γονίδιο TTC8 μεταλλάξεις του οποίου ευθύνονται για τη νόσο Bardet-Biedl (OMIM#209900)¹³.

Διάφορα άλλα ελλείμματα ή/και διπλασιασμοί ή/και συνδυασμός αυτών

ii. Σύνδρομα που οφείλονται σε μικρά ελλείμματα ή μικρούς διπλασιασμούς (μέγεθος <5-10 Mb)

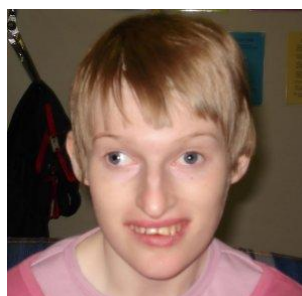
✓ **15q11.2-q13 σύνδρομο μικροελλείμματος (Angelman syndrome)**

Το σύνδρομο Angelman αποτελεί μία νευροαναπτυξιακή διαταραχή η οποία κλινικά χαρακτηρίζεται από επίκτητη μικροκεφαλία (80% των περιπτώσεων), υποτονία, σοβαρού βαθμού αναπτυξιακή και νοητική υστέρηση με απουσία λόγου, χαρακτηριστική συμπεριφορά (χαρούμενα παιδιά με συχνά ξαφνικά ξεσπάσματα



γέλιου), αταξικές κινήσεις, σπασμούς και ήπια-μη ειδικά-φαινοτυπικά χαρακτηριστικά. Οφείλεται σε έλλειψη έκφρασης του μητρικού γονιδίου UBE3A στον εγκέφαλο. Το UBE3A γονίδιο είναι από τα ελάχιστα ανθρώπινα γονίδια που είναι

αποτυπωμένα. Συγκεκριμένα στον εγκέφαλο παρουσιάζει πατρική αποτύπωση, δηλαδή εκφράζεται μόνο το μητρικής προέλευσης αλληλόμορφο, ενώ στους υπόλοιπους ιστούς φαίνεται ότι εκφράζονται και τα δύο. Συνεπώς το σύνδρομο Angelman μπορεί να προκύψει από α) έλλειμμα στη χρωμοσωμική περιοχή



15q11.2-q13 μητρικής προέλευσης, β) μονογονεϊκή δισωμία (ύπαρξη δύο αποτυπωμένων πατρικών αλληλομόρφων), γ) διαταραχές στο κέντρο μεθυλίωσης με αποτέλεσμα την μεθυλίωση είτε και των δύο είτε κανενός

αλληλομόρφου και δ) loss-of-function μεταλλάξεις του γονιδίου UBE3A¹⁴

✓ **9q34.3 υποτελομεριδιακό σύνδρομο μικροελλείμματος (Kleefstra syndrome)**

Το σύνδρομο Kleefstra (9q34.3 σύνδρομο μικροελλείμματος) (OMIM#610253), πρόκειται για μία σπάνια γενετική διαταραχή η οποία οφείλεται είτε σε *de novo* κυρίως ελλείμματα της χρωμοσωμικής περιοχής 9q34.3 (συμπεριλαμβανομένου του γονιδίου EHMT1), είτε σε μεταλλάξεις του EHMT1 γονιδίου. Τα κύρια



χαρακτηριστικά του συνδρόμου είναι η αναπτυξιακή καθυστέρηση/νοητική υστέρηση η οποία συνήθως είναι μετρίου-σοβαρού βαθμού, αν και υπάρχουν αναφορές με πιο ήπια

κλινική εικόνα, η υποτονία στην νεογνική αλλά και παιδική ηλικία και τέλος τα χαρακτηριστικά φαινοτυπικά γνωρίσματα του κρανίου/προσώπου τα οποία περιλαμβάνουν βραχυ(μικρο)κεφαλία, σύνοφρυ, ανώμαλο σχήμα φρυδιών, υποπλασία μέσης γραμμής, πλήρως ανεστραμμένο κάτω χείλος, προέχουσα γλώσσα και προγναθισμό¹⁵. Στα επιπρόσθετα κλινικά γνωρίσματα του συνδρόμου περιλαμβάνονται οι συγγενείς καρδιοπάθειες, οι συγγενείς ουροπάθειες, η επιληψία, προβλήματα συμπεριφοράς, ψυχιατρικές διαταραχές και παχυσαρκία. Γενικά, το σύνδρομο χαρακτηρίζεται από ποικιλία σημείων και συμπτωμάτων, ποικίλης βαρύτητας που ως ένα βαθμό οφείλονται στο διαφορετικό μέγεθος των ελλειμμάτων, άρα και των γονιδίων που βρίσκονται σε απλοανεπάρκεια. Όμως ένας σημαντικός αριθμός ασθενών με παρόμοια ελλείμματα εμφανίζουν διαφορετικό κλινικό φαινότυπο, ενδεικτικό του ότι και άλλοι γενετικοί μηχανισμοί εμπλέκονται στην κλινική έκφραση του γονότυπου.

➤ **18q21 σύνδρομο μικροελλείμματος (Pitt-Hopkins syndrome) (βλ. σελ 31)**

➤ **1p36 σύνδρομο μικροελλείμματος**

Το 1p36 σύνδρομο ελλείμματος (OMIM#607872) είναι το πιο συχνό (περίπου 1/5000 γεννήσεις ζώντων νεογνών) τελομεριδιακό σύνδρομο ελλείμματος και χαρακτηρίζεται από δυσμορφικά χαρακτηριστικά όπως: μεγάλη πρόσθια πηγή,



μάτια με μικρό άνοιγμα μάτια και εμβάθυνση, επίπεδη μύτη, προέχον μέτωπο, ασύμμετρα με χαμηλή πρόσφυση ώτα. Κύριες κλινικές εκδηλώσεις του συνδρόμου που παρατηρούνται σχεδόν σε όλους τους ασθενείς με 1p36 σύνδρομο

ελλείμματος είναι η ψυχοκινητική καθυστέρηση, ήπια έως σοβαρού βαθμού νοητική υστέρηση και νεογνική υποτονία. Καθυστέρηση αύξησης, μικροκεφαλία, σπασμοί, καρδιακές ανωμαλίες και προβλήματα ακοής και όρασης αποτελούν επίσης πολύ συχνά κλινικά ευρήματα. Αν και τα «μεμονωμένα» τελικά (άπω) ελλείμματα αποτελούν τα πιο συχνά 1p36 ελλείμματα, ενδιάμεσα ελλείμματα στην εγγύς 1p36 περιοχή, μη ισοζυγισμένες μεταθέσεις καθώς και πιο περίπλοκες χρωμοσωμικές ανωμαλίες που περιλαμβάνουν ελλείμματα στο 1p36, έχουν επίσης παρατηρηθεί. Οι ασθενείς με ενδιάμεσα (εγγύς) 1p36 ελλείμματα παρουσιάζουν μερικά κοινά κλινικά χαρακτηριστικά με τους ασθενείς που φέρουν άπω ελλείμματα, όπως μικροκεφαλία, καθυστέρηση αύξησης, νοητική υστέρηση, σπασμούς και καρδιακά προβλήματα όπως καρδιομυοπάθεια και καρδιαγγειακές ανωμαλίες. Φυσικά υπάρχουν και ασθενείς που φέρουν μεγάλα ελλείμματα τα οποία περιλαμβάνουν τόσο την εγγύς όσο και την άπω περιοχή της 1p36 χρωμοσωμικής περιοχής. Στο παρελθόν πολλοί συγγραφείς πρότειναν διάφορες "κριτικές περιοχές" για το άπω και το εγγύς 1p36 σύνδρομο ελλείμματος. Η κριτική περιοχή για το άπω 1p36 σύνδρομο βρίσκεται περίπου μέσα στα τελευταία 4Mb από το 1p τελομερίδιο, ενώ η κριτική περιοχή για το εγγύς 1p36 σύνδρομο ξεκινάει περίπου 8Mb από το 1p τελομερίδιο¹⁶. Όμως ένας σημαντικός αριθμός ασθενών με άτυπα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά έχει κάνει τη συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου μια αρκετά δύσκολη διαδικασία. Διάφοροι γενετικοί μηχανισμοί έχουν

προταθεί με σκοπό να εξηγήσουν αυτή τη πολυπλοκότητα ¹⁷. Όσον αφορά την ανάπτυξη μικροκεφαλίας στους ασθενείς με 1p36 σύνδρομο μικροελλείμματος, ο Kim και οι συνεργάτες του το 2013 ¹⁸ υποστήριξαν ότι το γονίδιο RERE (RE) το οποίο χαρτογραφείται στη χρωμοσωμική μπάντα 1p36.23 (εγγύς 1p36 χρωμοσωμική περιοχή) αποτελεί ένα σημαντικό υποψήφιο γονίδιο. Στη άπω 1p36 χρωμοσωμική περιοχή, μέχρι στιγμής κανένα γονίδιο δεν έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη μικροκεφαλίας.

- ***Distal 1q21.1 microdeletions or duplications***

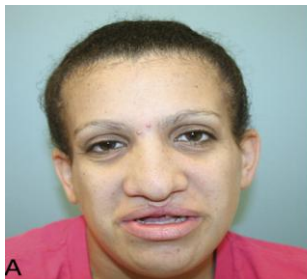
Ελλείμματα ή διπλασιασμοί στο άπω τμήμα της χρωμοσωμικής περιοχής 1q21.1 έχουν συσχετιστεί με μικροκεφαλία, σπανιότερα και με μακροκεφαλία, αναπτυξιακή καθυστέρηση, δυσμορφικά χαρακτηριστικά, συγγενείς ανωμαλίες, σχιζοφρένεια και άλλα νευροψυχιατρικά προβλήματα, χωρίς όμως να οριοθετούν συγκεκριμένο σύνδρομο ⁶.

- ***4p16.3 microdeletion syndrome (Wolf-Hirschhorn syndrome) (βλέπε σελ.25)***

- ***Partial 5p microdeletion syndrome (Cri du Chat syndrome) (βλέπε σελ.28)***

- ***9p duplication syndrome (partial trisomy 9p)***

Το σύνδρομο διπλασιασμού του βραχέως σκέλους του χρωμοσώματος 9



χαρακτηρίζεται από νοητική υστέρηση, μικρο(βραχυ)κεφαλία, καθυστέρηση αύξησης και χαρακτηριστικά φαινοτυπικά γνωρίσματα όπως εμβάθυνση

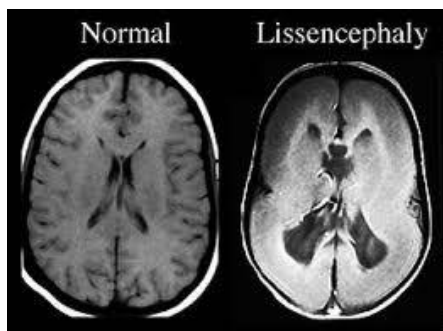
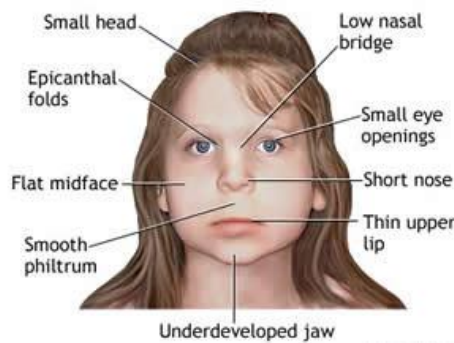
ματιών με βλεφαρικές σχισμές με κλίση προς τα κάτω, προέχουσα ρίζα της μύτης με αποστρογγυλεμένο ακρορίνιο, γωνίες του στόματος με κλίση προς τα κάτω, χαμηλή πρόσφυση ώτων, κοντά δάκτυλα χεριών και ποδιών με φαλαγγική υποπλασία.



Συνήθως είναι αποτέλεσμα μη ισοζυγισμένης μετάθεσης και συνεπώς συνυπάρχει με κάποιο έλλειμμα, ενώ σπανιότατα έχουν αναφερθεί και μεμονωμένοι de novo διπλασιασμοί¹⁹. Οι Di Bartolo DL et al., 2012 ανακοίνωσαν ότι η κριτική περιοχή που είναι υπεύθυνη για την εμφάνιση των χαρακτηριστικών γνωρισμάτων του συνδρόμου είναι η 9p22²⁰.

➤ **17p13.3 microdeletion syndrome (Miller-Dieker syndrome)**

Το σύνδρομο Miller-Dieker ή 17p13.3 σύνδρομο ελλείμματος πρόκειται για μία σπάνια γενετική διαταραχή η οποία ανήκει στις διαταραχές νευρωνικής



μετανάστευσης και προκαλεί σοβαρού βαθμού λισσεγκεφαλία η οποία και οδηγεί σε πρόωρο θάνατο στη παιδική ηλικία. Η λισσεγκεφαλία έχει συσχετιστεί με την απλοανεπάρκεια του γονιδίου *LIS1* (17p13.3) το οποίο και έχει καθοριστικό ρόλο στη μετανάστευση των νευρώνων²¹. Η κλινική έκφραση του συνδρόμου συσχετίζεται άμεσα με το μέγεθος του υποκείμενου ελλείμματος. Στα επιπρόσθετα κοινά κλινικά γνωρίσματα του συνδρόμου περιλαμβάνονται η υποτονία, σπασμοί, σοβαρού βαθμού νοητική υστέρηση

και χαρακτηριστικό προσωπείο με στενό και προέχον μέτωπο, βλεφαρικές σχισμές με κλίση προς τα κάτω, μικρή και κοντή μύτη, λείο φίλτρο, μικρή κάτω γνάθος και προέχον λεπτό άνω χείλος

➤ **8p23 σύνδρομο ελλείμματος**

Το σύνδρομο 8p23 σύνδρομο ελλείμματος είναι αποτέλεσμα της απώλειας γονιδίων που φυσιολογικά βρίσκονται στη περιοχή αυτή. Η ποικιλομορφία στην κλινική εικόνα των ασθενών πιθανότατα οφείλεται στο διαφορετικό αριθμό γονιδίων που



λείπει κάθε φορά. Τα κυριότερα γνωρίσματα του συνδρόμου είναι μικροκεφαλία ($\approx 1/3-1/2$ των περιπτώσεων), ΨΚΚ ποικίλης βαρύτητας και συγγενής καρδιοπάθεια (κυρίως μεσοκοιλιακά και μεσοκοιλιακά ελλείμματα και ανωμαλία Ebstein). Οι ασθενείς συνήθως δεν διαφέρουν πολύ από τον κοινό πληθυσμό και συχνά μοιάζουν με τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειάς τους. Παρόλα αυτά ελάσσονα δυσμορφικά χαρακτηριστικά όπως ψηλό-στενό μέτωπο, ευρεία βάση της μύτης, κοντός λαιμός και ανώμαλα με χαμηλή πρόσφυση ώτα έχουν σημειωθεί.

Συχνότερα όμως οι ασθενείς με δυσμορφίες έχουν μεγαλύτερα ελλείμματα που εκτείνονται εκτός της περιοχής 8p23.

Όσον αφορά τη συσχέτιση γονότυπου-φαινότυπου, μέχρι στιγμής ορισμένα σημαντικά γονίδια έχουν χαρακτηριστεί ως υπεύθυνα για κάποια από τα κλινικά γνωρίσματα του συνδρόμου. Συγκεκριμένα το γονίδιο *GATA4* εκφράζεται σε υψηλά ποσοστά στη καρδιά και συμβάλλει στη σωστή ανάπτυξη αυτής. Για το λόγο αυτό, η έλλειψη του έχει ενοχοποιηθεί ως πιθανός αιτιολογικός παράγοντας για τη συγγενή καρδιοπάθεια που συνδέεται με το 8p23 σύνδρομο ελλείμματος²². Ένα άλλο γονίδιο που εκφράζεται στην καρδιά και πιθανόν η έλλειψή του συμβάλλει στην ανάπτυξη συγγενούς καρδιοπάθειας στους ασθενείς με 8p23 σύνδρομο ελλείμματος είναι το *SOX7*. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί ένα μεταγραφικό παράγοντα ο οποίος εμπλέκεται στη ρύθμιση της ανάπτυξης του εμβρύου και στο καθορισμό της τύχης των κυττάρων. Οι Wat MS et al., 2012 ανακοίνωσαν ότι η απλοανεπάρκεια των *GATA4* και *SOX7* πιθανόν συμβάλλει και στην ανάπτυξη συγγενούς διαφραγματοκήλης στους ασθενείς με 8p23.1 σύνδρομο ελλείμματος²³. Όσον αφορά την μικροκεφαλία, η απλοανεπάρκεια των γονιδίων *MCPH1* και

TNKS πιθανόν συμβάλλουν στην εμφάνισή της. Ομόζυγες μεταλλάξεις στο γονίδιο *MCPH1* (μικροκεφαλίνη 1) είναι υπεύθυνες για την αυτοσωμική υπολειπόμενη πρωτοπαθή μικροκεφαλία τύπου 1. Από την άλλη πλευρά το γονίδιο *TNKS* κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που ρυθμίζει τα επίπεδα της *CPAP* πρωτεΐνης κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου - ομόζυγες μεταλλάξεις στη *CPAP* πρωτεΐνη είναι υπεύθυνες για την αυτοσωμική υπολειπόμενη πρωτοπαθή μικροκεφαλία τύπου 6 – εξασφαλίζοντας έτσι τη φυσιολογική λειτουργία των κεντροσωμάτων²⁴.

1. Μικροδιπλασιασμός ~600kb στην περιοχή 16p11.2 μεταξύ των σημείων BP4 και BP5.

Στη χρωμοσωμική περιοχή 16p11.2 συναντάμε τουλάχιστον τέσσερα copy number variations, εκ των οποίων ο διπλασιασμός των ~600kb στην περιοχή 16p11.2 μεταξύ των σημείων BP4 και BP5 έχει συσχετιστεί με χαμηλό σωματικό βάρος και την ανάπτυξη μικροκεφαλία. Συγκεκριμένο υποψήφιο γονίδιο υπεύθυνο για την ανάπτυξη μικροκεφαλίας δεν έχει αναγνωριστεί μέχρι στιγμής^{25, 26}.

➤ **6q25 microdeletion syndrome**

Τα ελλείμματα στο ενδιάμεσο τμήμα του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος 6



αποτελούν αρκετά σπάνιες γενετικές διαταραχές. Όμως, η απλοανεπάρκεια της περιοχής 6q25 έχει συνδεθεί με συγκεκριμένο κλινικό φαινότυπο (6q25 σύνδρομο μικροελλείμματος) ο οποίος χαρακτηρίζεται από μικροκεφαλία (συνήθως επίκτητη), νοητική υστέρηση, δομικές ανωμαλίες εγκεφάλου όπως η αγενεσία του μεσολοβίου και κοινά μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως υπερτελορισμός, ευρεία ρίζα της μύτης, υποπλασία μέσης γραμμής και ώτα με οπίσθια κλίση²⁷. Η περιοχή 6q25.2-25q.3 έχει

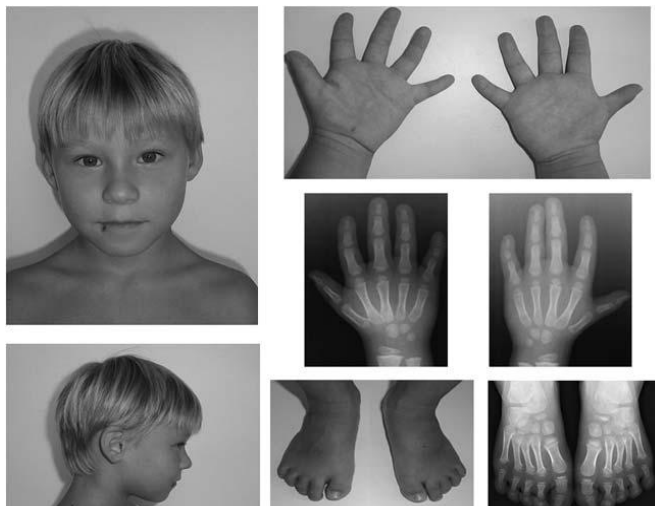
χαρακτηριστεί ως κριτική για το σύνδρομο ²⁸ ενώ η απλοανεπάρκεια του *ARID1B* γονιδίου το οποίο και παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του εγκεφάλου, παίζει καθοριστικό ρόλο στην κλινική έκφραση του συνδρόμου ²⁹.

➤ **1q intermediate deletions**

Ελλείμματα στην ενδιάμεση περιοχή του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος 1 (1q24-25q32) αποτελούν σπάνιες γενετικές διαταραχές και μέχρι στιγμής λιγότερο από 20 περιπτώσεις έχουν δημοσιευτεί. Κοινά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά του ελλείμματος αποτελούν η καθυστέρηση στην αύξηση, η αναπτυξιακή-νοητική υστέρηση, η μικροκεφαλία, καρδιακές ανωμαλίες, ανωμαλίες των γενετικών οργάνων, ενώ χαρακτηριστική είναι η κλινιδακτυλία του 5^{ου} δακτύλου. Οι Ping Hu et al., 2013 ³⁰ πρότειναν μία “κριτική περιοχή” μεγέθους 3.1 Mb στη χρωμοσωμική περιοχή 1q25.2 (chr1:174,5-177,6 hg18) η οποία περιλαμβάνει 24 γονίδια. Από τα γονίδια αυτά μόνο το *ASTN1* εκφράζεται στον εγκέφαλο.

➤ **2p24.3-p24.2 σύνδρομο μικροελλείμματος (including *MYCN* gene) → Feingold syndrome**

Το σύνδρομο Feingold κλινικά χαρακτηρίζεται από μικροκεφαλία, ποικίλες



μαθησιακές δυσκολίες, ατρησία οισοφάγου ή/και δωδεκαδακτύλου και χαρακτηριστικές φαλαγγικές ανωμαλίες (βραχεία φάλαγγες του 2^{ου} και 5^{ου} δακτύλου των χεριών και βραχυσυνδακτυλία των δακτύλων του ποδιού). Αιτιολογικά οφείλεται στην

ύπαρξη ελλείμματος ή μετάλλαξης του γονιδίου *MYCN* το οποίο χαρτογραφείται σήμερα στην περιοχή 2p24.3³¹

➤ **2q23.1 σύνδρομο μικροελλείμματος**

Το έλλειμμα στη χρωμοσωμική περιοχή 2q23.1 αποτελεί μια σπάνια μεν, καλά



χαρακτηρισμένη δε χρωμοσωμική ανωμαλία. Κλινικά παρουσιάζει παρόμοιο φαινότυπο με σύνδρομα όπως το Angelman, Rett και Smith Magenis³². Έτσι, προεξάρχοντα κλινικά γνωρίσματα αποτελούν η σοβαρού βαθμού νοητική υστέρηση με πολλά κινητικά προβλήματα και ελάχιστο λόγο, η μικροκεφαλία, η παχυσαρκία, η καθυστέρηση στην ανάπτυξη, οι

διαταραχές του ύπνου (παρόμοιες με αυτές των συνδρόμων Smith Magenis και Ευθραύστου Χ) και τέλος τα ελάσσονα δυσμορφικά χαρακτηριστικά με χαρακτηριστικότερο το μεγάλο ανοιχτό στόμα, το υπερυψωμένο άνω χείλος και τους προέχοντες κοπτήρες. Οι Williams SR et al., 2010³³ υποστήριξαν ότι τα περισσότερα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά οφείλονται στην απλοανεπάρκεια/έλλειμμα του γονιδίου *MBD5*.

➤ **16p13.3 microdeletion syndrome**

(containing the *CREBBP* gene) → Rubinstein-Taybi syndrome (βλέπε σελ.42)

iii. Σύνδρομα που κληρονομούνται με τον αυτοσωμικό επικρατητικό ή υπολειπόμενο χαρακτήρα

- **Feingold syndrome (MYCN mutations) (βλέπε σελ.40)**
- **Rubinstein Taybi syndrome (CREBBP or EP300 gene mutations)**

Το σύνδρομο Rubinstein Taybi είναι ένα πολύ σπάνιο ($\approx 1/100.000$) αλλά καλά χαρακτηρισμένο γενετικό νόσημα. Χαρακτηρίζεται από μικροκεφαλία, καθυστέρηση



στην αύξηση και την ανάπτυξη, νοητική υστέρηση ποικίλου βαθμού και μορφολογικά γνωρίσματα όπως χαμηλή πρόσφυση των μαλλιών στο μέτωπο με κλίση αυτών προς τα πάνω, βλεφαρικές σχισμές με κλίση προς τα κάτω, ευρεία βάση της μύτης, υπερτελορισμό, γαμψή μύτη με παχύ ακρορρίνιο, μακρύ και λείο φίλτρο, μικρό στόμα και μικρή γνάθο. Χαρακτηριστικό γνώρισμα του συνδρόμου αποτελεί ο αποπλατυσμένος αντίχειρας και το αποπλατυσμένο μεγάλο δάκτυλο του ποδιού. Αρκετές φορές μπορεί και άλλα δάκτυλα να είναι αποπλατυσμένα ή να φέρουν άλλες ανωμαλίες. Τέλος ένας σημαντικός αριθμός συγγενών ανωμαλιών από όλα τα οργανικά συστήματα έχουν επίσης αναφερθεί ³⁴. Η γενετική αιτιολογία του

συνδρόμου μπορεί να βρεθεί σε περίπου 60% των ασθενών όπου ανευρίσκονται σημειακές μεταλλάξεις ή ελλείμματα στο γονίδιο *CREBBP* (στη χρωμοσωμική περιοχή 16p13.3) ($\approx 56\%$) καθώς και μεταλλάξεις στο γονίδιο *EP300* ($\approx 3\%$). Γενικά οι ασθενείς που φέρουν μετάλλαξη στο γονίδιο *EP300* συνοδεύονται από πιο ήπιο κλινικό φαινότυπο. Πρόσφατα οι Rusconi D et al., 2015 ³⁵ ασχολήθηκαν με τους

ασθενείς με Rubinstein Taybi σύνδρομο λόγω ελλείμματος στη χρωμοσωμική περιοχή 16p13.3 (περιλαμβάνει το γονίδιο *CREBBP*) και διαπίστωσαν ότι η συμβολή της έλλειψης παρακείμενων γονιδίων δεν συμβάλλει ιδιαίτερα στον κλινικό φαινότυπο. Συνεπώς το μέγεθος του ελλείμματος δεν μπορεί να προβλέψει την βαρύτητα του συνδρόμου.

➤ ***Cornelia de Lange syndrome (NIPBL, SMC1A, SMC3,RAD21, HDAC8 gene mutations)***

Το σύνδρομο Cornelia de Lange είναι μια σπάνια γενετική διαταραχή με ποικίλο



κλινικό φαινότυπο. Χαρακτηρίζεται από μικροκεφαλία, καθυστέρηση στην αύξηση, αναπτυξιακή και νοητική υστέρηση (ήπια έως σοβαρού βαθμού), υπερτρίχωση, ιδιαίτερα μορφολογικά γνωρίσματα προσώπου και συγγενείς ανωμαλίες όπως σκελετικές

ανωμαλίες κυρίως του άνω άκρου, ανωμαλίες από το γαστρεντερικό με συχνότερες τη πυλωρική στένωση και το malrotation, διαφραγματοκήλη, καθώς και ποικίλες ανωμαλίες από το καρδιαγγειακό και το ουροποιητικό. Τα ιδιαίτερα μορφολογικά γνωρίσματα του προσώπου αποτελούν τα παχιά συνοφρυωμένα φρύδια, οι μακριές βλεφαρίδες, η μικρή με κλίση προς τα πάνω μύτη, το μακρύ φίλτρο και τα λεπτά χείλη με κλίση προς τα κάτω (σε συνδυασμό με το σύνοφρυ, αποτελούν παθογνωμονικό σημείο)³⁶. Μέχρι στιγμής, μεταλλάξεις σε πέντε γονίδια (*NIPB2, SMC1A, SMC3, RAD21, HDAC8*) έχουν ενοχοποιηθεί για το 70% των περιπτώσεων με συχνότερο ποσοστό εμφάνισης τις μεταλλάξεις στο γονίδιο *NIPB2*³⁷. Επίσης ένας σημαντικός αριθμός μικροελλειμμάτων έχει συσχετιστεί με φαινότυπο παρόμοιο με αυτό του Cornelia de Lange συνδρόμου.

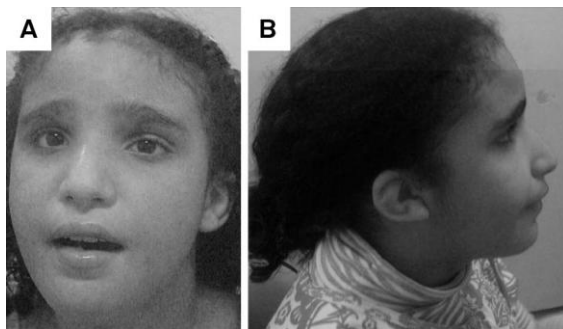
➤ **Coffin-Siris Syndrome (*ARID1A*, *ARID1B*, *SMARCA4*, *SMARCB1*, or *SMARCE1* gene mutations)**

Το σύνδρομο Coffin Siris αποτελεί μια σπάνια γενετική διαταραχή η οποία χαρακτηρίζεται από αναπτυξιακή καθυστέρηση/ νοητική υστέρηση, απούσες ή κοντές φάλαγγες 5^{ου} δακτύλου με υποπλαστικά ή απόντα νύχια (παθογνωμονικό χαρακτηριστικό του συνδρόμου), μικροκεφαλία, χοντρό πρόσωπο με παχιά φρύδια, μακριές βλεφαρίδες, ευρεία βάση της μύτης, πλατύ στόμα με παχιά ανεστραμμένα χείλη, χαμηλή πρόσφυση και ανωμαλίες ώτων. Ποικίλες συγγενείς ανωμαλίες από όλα τα συστήματα έχουν επίσης καταγραφεί. Η κλινική διάγνωση γίνεται με βάση τα μείζονα και ελάσσονα κριτήρια των Shenoy BH et al., 2012 ³⁸. Το σύνδρομο κληρονομείται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα. Μεταλλάξεις σε 7 γονίδια (*SMARCB1*, *SMARCE1*, *SMARCA4*, *ARID1A*, *ARID1B* και τα δύο προσφάτως αναγνωρισμένα *PHF6* και *SOX11*) έχουν ενοχοποιηθεί για τη εμφάνιση του συνδρόμου ³⁹.

➤ **Angelman syndrome (*UBE3A* gene mutations de novo ή κληρονομικές από το πατρικό χρωμόσωμα της μητέρας) (βλέπε σελ.33)**

➤ **Mowat-Wilson syndrome (*ZEB2* gene mutations)**

Το σύνδρομο Mowat-Wilson πρόκειται για ένα πρόσφατα αναγνωρισμένο σύνδρομο, του οποίου η συχνότητα εκτιμάται περίπου 1/70.000 και κληρονομείται με τον αυτοσωμικό επικρατητικό χαρακτήρα. Συγκεκριμένα ετερόζυγα ελλείμματα και μεταλλάξεις του γονιδίου *ZEB2* (χρωμοσωμική περιοχή 2q22-23) ευθύνονται για την εμφάνιση του συνδρόμου. Κλινικά το σύνδρομο χαρακτηρίζεται από μικροκεφαλία (σχεδόν σε όλες τις



περιπτώσεις, νοητική υστέρηση συνήθως σοβαρού βαθμού, επιληψία, αγενεσία μεσολοβίου και διακριτό προσωπείο (υπερτελορισμός, ευρεία βάση της μύτης, φουντωτά φρύδια (flared eyebrows), προέχουσα μικρή στήλη, μυτερό πηγούνι και χαμηλή πρόσφυση ώτων με πτερύγια προς τα πάνω και έξω. Τέλος συχνά συνυπάρχουν και συγγενείς ανωμαλίες όπως νόσος Hirschsprung και ανωμαλίες από το καρδιαγγειακό και το ουροποιητικό σύστημα ⁴⁰.

➤ Dubowitz syndrome

Το σύνδρομο Dubowitz (OMIM%223370) έχει χαρακτηριστεί σαν ξεχωριστή κλινική οντότητα από το 1965. Κλινικά χαρακτηρίζεται από διακριτό προσωπείο (μακρύ πρόσωπο, επίκανθο, μικρές βλεφαρικές σχισμές, βλεφαρόπτωση, προέχουσα



γέφυρα της μύτης, μεγάλα με χαμηλή πρόσφυση ώτα) ενδομήτρια και μεταγεννητική καθυστέρηση της ανάπτυξης με κοντό ανάστημα και μικροκεφαλία, ήπιου-μέτριου βαθμού νοητική υστέρηση, ανοσολογικά ελλείμματα (έκζεμα και αλλεργίες), αιματολογικές διαταραχές (π.χ παγκυτταροπενία) και αιματολογικούς

καρκίνους. Φαίνεται ότι κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο κληρονομικότητας, αλλά μέχρι σήμερα συγκεκριμένο υπεύθυνο γονίδιο δεν έχει αναγνωριστεί. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τον αλληλεπικαλυπτόμενο με άλλα γενετικά σύνδρομα κλινικό φαινότυπο (διαφορική διάγνωση από σύνδρομο Bloom, αναιμία Fanconi, MOPD-II, ήπιο Smith-lemli-Opitz σύνδρομο, LiG-4 ανεπάρκεια κ.α), οδήγησε τους επιστήμονες στην ανακοίνωση της σημερινής επικρατούσας άποψης ότι το σύνδρομο Dubowitz αποτελεί ένα σύμπλεγμα το οποίο αποτελείται από πολλαπλές, γενετικά ξεχωριστές και φαινοτυπικά επικαλυπτόμενες, γενετικές διαταραχές ⁴¹.

➤ **Bloom syndrome**

Το σύνδρομο Bloom (OMIM#210900) αποτελεί ένα από τα σύνδρομα χρωμοσωμικής θραύσης (Chromosomal breakage syndrome) και χαρακτηρίζεται



από προγεννητική όσο και μεταγεννητική καθυστέρηση της ανάπτυξης, μικροκεφαλία, νοητική υστέρηση ή μαθησιακές δυσκολίες, φωτοευαισθησία με χαρακτηριστικό ερύθημα προσώπου, τηλεγγεκτασίες, ανοσοανεπάρκεια, ενδοκρινοπάθειες και αυξημένη ευαισθησία στην ανάπτυξη νεοπλασμάτων (κυρίως οξεία μυελογενή λευχαιμία, λέμφωμα και αδενοκαρκίνωμα).

Πρόκειται για ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα το οποίο οφείλεται στην ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο RECQL3 (15q26.1) το οποίο κωδικοποιεί την RECQ-like-3 DNA ελικάση, σημαντικό ένζυμο για την επιδιόρθωση του DNA και τη σταθερότητα των χρωμοσωμάτων. Λόγω της αυξημένης πιθανότητας εμφάνισης νεοπλασμάτων κρίνεται απαραίτητη η διαφορική διάγνωση του συνδρόμου από άλλα σύνδρομα με παρόμοια δερματολογική εμφάνιση όπως το σύνδρομο Dubowitz, το σύνδρομο Rothmund-Thomson, το σύνδρομο Cockayne και την Ερυθροποιητική Πρωτοπορφυρία ⁴².

➤ **Warburg Micro syndrome (*RAB3GAP1*, *RAB3GAP2*, *RAB18*, *TBC1D20*) gene mutations)**



Το σύνδρομο Warburg Micro (OMIM 600118, 614225, 614222, 615663) αποτελεί ένα πολύ βαρύ αυτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα το οποίο χαρακτηρίζεται από μικροκεφαλία η οποία αναπτύσσεται μετά τη γέννηση, ανωμαλίες του κεντρικού νευρικού συστήματος, σοβαρού βαθμού νοητική υστέρηση με ποικίλη νευρολογική σημειολογία και τέλος προβλήματα από τους

οφθαλμούς όπως μικροφθαλμία, μικρό κερατοειδή, συγγενή καταρράκτη και οπτική ατροφία. Μέχρι στιγμής έχουν αναγνωρισθεί επίσημα τέσσερις τύποι οι οποίοι οφείλονται στην ύπαρξη μεταλλάξεων σε τέσσερα διαφορετικά γονίδια: *RAB3GAP1*, *RAB3GAP2*, *RAB18* και *TBC1D20* αντιστοίχως. Και τα τέσσερα γονίδια έχουν σημαντικό ρόλο στο μονοπάτι μεταγωγής σήματος μέσω GTP-άσης, η ορθή λειτουργία του οποίου έχει αποδειχτεί ότι είναι σημαντική για την φυσιολογική ανάπτυξη του εγκεφάλου^{43,44}.

➤ **Cockayne syndrome (*ERCC6*, *ERCC8* gene mutations)**

Τρεις τύποι συνδρόμου Cockayne έχουν μέχρι στιγμής χαρακτηριστεί. Ο *τύπος I* ή *κλασσικός (CSA)* παρουσιάζεται με μικροκεφαλία που αναπτύσσεται μετά τη γέννηση, καθυστέρηση την ανάπτυξη και προοδευτική νευροαναπτυξιακή καθυστέρηση. Ο *τύπος II (CSB)* του συνδρόμου είναι ο πιο βαρύς τύπος και συχνά η κλινική του εικόνα αλληλοεπικαλύπτεται και συγχέεται με το Cerebro-oculo-facio-skeletal (COFS) σύνδρομο. Στον τύπο αυτό, τα συμπτώματα που προαναφέρθηκαν στον τύπο I, είναι ήδη παρόντα από τη γέννηση. Και στους δύο τύπους σε μεγάλο ποσοστό συναντάμε προβλήματα όρασης και ακοής. Συγγενής καταρράκτης και άλλες δομικές ανωμαλίες από τους οφθαλμούς είναι ιδιαίτερα συχνά ευρήματα. Όσον αφορά την απώλεια της ακοής συνήθως είναι προοδευτική και παράλληλη με την απώλεια της αντιληπτικής ικανότητας. Ο *τύπος III* είναι ηπιότερος με τα συμπτώματα να εμφανίζονται αργότερα στην παιδική ηλικία. Το σύνδρομο οφείλεται στην ύπαρξη ομόζυγων μεταλλάξεων στα γονίδια *ERCC6 (CSB)* (65%) καθώς και στο γονίδιο *ERCC8 (CSA)* (45%). Και τα δύο γονίδια εμπλέκονται στη επιδιόρθωση του DNA μετά από επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας⁴⁴.

➤ **Cerebro-oculo-facio-skeletal (COFS) syndrome**

Το σύνδρομο COFS1 ή PENA SHOKEIR type II (OMIM#214150) παρουσιάζει



παρόμοια με το σύνδρομο Cockayne τύπου II φαινοτυπικά χαρακτηριστικά και οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου ERCC6, όπως και το σύνδρομο Cockayne. Επιπρόσθετα συχνά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά αποτελούν η αρθρογρύπωση, η κυφωσκολίωση, η σημαντική εγκεφαλική ατροφία στην MRI εγκεφάλου και τα δυσμορφικά γνωρίσματα που περιλαμβάνουν προέχουσα μύτη, προέχον άνω χείλος, μικρογναθία και μεγάλα ώτα.⁴⁴ Τέλος, έχουν αναγνωρισθεί και τρεις σπανιότεροι τύποι του συνδρόμου COFS2 (OMIM

610750), COFS3 ή Xerodermia Pigmentosum (OMIM 278780) και COFS4 (OMIM 610758) οι οποίοι είναι αποτέλεσμα ύπαρξης ομόζυγων μεταλλάξεων στα γονίδια *ERCC2*, *ERCC5* και *ERCC1* αντίστοιχα.

➤ **Cohen syndrome (COH1gene mutations)**

Το σύνδρομο Cohen (OMIM 216550) είναι ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα το οποίο χαρακτηρίζεται από μικροκεφαλία που εκδηλώνεται τους πρώτους μήνες



μετά τη γέννηση, καθυστέρηση της ανάπτυξης στη βρεφική και παιδική ηλικία, νοητική υστέρηση μετρίου-σοβαρού βαθμού, παχυσαρκία κορμού και προοδευτική αμφιβληστροειδική δυστροφία. Οφείλεται στην ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο VPS13B. Πρόσφατα οι Seifert W et al., 2015⁴⁵ υποστήριξαν ότι η πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο *VPS13B* αλληλεπιδρά φυσικά και λειτουργικά με τη μικρή GTP-άση RAB6 στο σύμπλοκο Golgi και κατευθύνει έτσι την ανάπτυξη των νευριτών. Είναι ήδη γνωστό ότι το μονοπάτι των GTP-ασών παίζει σημαντικό ρόλο στην ορθή ανάπτυξη του εγκεφάλου⁴⁴.

➤ **Microcephaly-Capillary malformation (MIC-CAP) syndrome**

Το σύνδρομο αυτό (OMIM#614261) χαρακτηρίζεται από σοβαρή μικροκεφαλία, εμφανή από τη γέννηση, προοδευτική ατροφία του εγκεφαλικού φλοιού, σοβαρή νευροαναπτυξιακή καθυστέρηση και πολλαπλές ανωμαλίες των μικρών τριχοειδών αγγείων του δέρματος. Οφείλεται στην ύπαρξη υπολειπόμενων μεταλλάξεων (ομοζυγωτία ή διπλή ετεροζυγωτία) του γονιδίου STAMBP (AMSH) το οποίο και βρίσκεται στη χρωμοσωμική περιοχή 2p13.1. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μια ισοπεπτιδάση, ένα ένζυμο με βασικό ρόλο στον υποδοχέα της κυτταρικής επιφάνειας που μεσολαβεί στην ενδοκύττωση. Η μικροκεφαλία αποδίδεται στην άθροιση «ubiquitinated» πρωτεϊνών η οποία και προκαλείται από την έλλειψη του ενζύμου της ισοπεπτιδάσης.

➤ **Nijmegen breakage syndrome (NBS1 gene mutations)**

Το σύνδρομο Nijmegen (OMIM#251260) είναι ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο σύνδρομο ευθραυστότητας των χρωμοσωμάτων, το οποίο οφείλεται στην ύπαρξη ομόζυγων μεταλλάξεων στο γονίδιο NBS1. Το γονίδιο αυτό είναι σημαντικό για τη



διόρθωση των ελλειμμάτων που εμφανίζονται στη διπλή έλικα του DNA. Είναι συχνό στις Σλάβικες φυλές, με συχνότερη τη μετάλλαξη 657del5. Χαρακτηρίζεται από σημαντική μικροκεφαλία με συνήθως φυσιολογική νοημοσύνη, κοντό ανάστημα, αταξία-τηλεγγεκτασία, ανοσοανεπάρκεια, ακτινοευαισθησία και αυξημένη επιρρέπεια στην εμφάνιση αιματολογικών και λεμφικών κακοηθειών⁴⁶. Χαρακτηριστική είναι επίσης η έντονα προς τα

πάνω φορά των βλεφαρικών σχισμών, και η ύπαρξη café au lait ή αποχρωματισμένων κηλίδων. Απαραίτητη η διαφορική διάγνωση από το LIG4 σύνδρομο ελλείμματος.

➤ **LIG4 σύνδρομο ελλείμματος**

Το σύνδρομο LIG4 ανεπάρκειας (OMIM#606593) αποτελεί ένα σπάνιο αυτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα (περίπου 20 περιπτώσεις έχουν μέχρι σήμερα αναφερθεί)



και οφείλεται στην ύπαρξη ομόζυγων μεταλλάξεων στο γονίδιο LIG4 το οποίο και είναι απαραίτητο για την επιδιόρθωση του DNA. Τα βασικά κλινικά γνωρίσματα που το χαρακτηρίζουν είναι η μικροκεφαλία σε άτομα με φυσιολογική ή ήπια επηρεασμένη νοημοσύνη, η υπερευαισθησία στην ακτινοβολία και η αυξημένη επιρρέπεια στην εμφάνιση αιματολογικών και λεμφικών

κακοηθειών, γεγονός που καθιστά απαραίτητη τη διαφορική διάγνωση από το σύνδρομο Nijmegen ⁴⁷. Άλλα συχνά κλινικά γνωρίσματα αποτελούν το κοντό ανάστημα, οι αιματολογικές διαταραχές όπως η πανκυτταροπενία, η ποικιλία δερματικών βλαβών και η ανοσοανεπάρκεια. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι το σύνδρομο παρουσιάζει μεγάλη κλινική ετερογένεια και πρέπει να μπαίνει στη διαφορική διάγνωση της μικροκεφαλία όταν συνοδεύεται από οποιοδήποτε από τα προαναφερθέντα γνωρίσματα. Τέλος, το σύνδρομο χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένα μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως: λεπτά και αραιά μαλλιά, επίκανθο, ευρεία βάση της μύτης, πλατύ ακρορρίνιο και προέχον πηγούνι.

➤ **Warsaw breakage syndrome (WABS) (OMIM#613398)**

Είναι μια αυτοσωμική υπολειπόμενη διαταραχή η οποία περιγράφηκε για πρώτη φορά το 2010 και κλινικά χαρακτηρίζεται από την τριάδα: μικροκεφαλία, προ ή

μεταγεννητική καθυστέρηση της ανάπτυξης και ανώμαλο χρωματισμό δέρματος. Το γονίδιο το οποίο ευθύνεται για τη νόσο είναι το *DDX11/CH1R1* στη χρωμοσωμική περιοχή 12p11.21 το οποίο και κωδικοποιεί μια “DEAD box” πρωτεΐνη η οποία έχει δράση ATP-άσης αλλά και DNA ελικάσης. Το σύνδρομο πήρε το όνομά του λόγω της αυξημένης χρωμοσωμικής θραύση που επάγεται από την ουσία mitomycin C. Η ύπαρξη ομοζυγωτίας ή διπλής ετεροζυγωτίας ευθύνεται για την εκδήλωση των κλινικών συμπτωμάτων στον ασθενή.

➤ **Μεταλλάξεις του γονιδίου *DYRK1A***

Ομόζυγες ή ετερόζυγες μεταλλάξεις καθώς και ετερόζυγα ελλείμματα στο γονίδιο *DYRK1A* έχουν συσχετιστεί με συνδρομικό φαινότυπο που περιλαμβάνει μικροκεφαλία, νοητική υστέρηση, διαταραχές στο φάσμα του αυτισμού, ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης, υπέρταση, επιληψία και ιδιαίτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά προσώπου όπως λεπτά χείλη, κοντό φίλτρο και ανωμαλίες ώτων. Το γονίδιο *DYRK1A* πιστεύεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του εγκεφάλου. Χαρτογραφείται στην περιοχή 21q22.13 η οποία αποτελεί την «κριτική περιοχή» του συνδρόμου Down και πιστεύεται ότι είναι υπεύθυνο για τις μαθησιακές δυσκολίες που χαρακτηρίζουν το σύνδρομο ⁴⁸.

➤ **Microcephaly, seizures and developmental delay (MCSZ)**

Το σύνδρομο αυτό (OMIM#613402) χαρακτηρίζεται από μικροκεφαλία, επιληψία ποικίλης βαρύτητας, και νοητική υστέρηση. Υπάρχουν αναφορές που το συσχετίζουν με παρεγκεφαλιδική ατροφία και περιφερική νευροπάθεια. Προκαλείται από ομόζυγες ή διπλά ετερόζυγες μεταλλάξεις του γονιδίου *PNKP* το οποίο βρίσκεται στη χρωμοσωμική περιοχή 19q13.4 ⁴⁹.

➤ **Microcephaly with or without chorioretinopathy, lymphoedema, or mental retardation (MCLMR)**

Η μικροκεφαλία με ή χωρίς χοριοαμφιβληστροειδοπάθεια, λεμφοίδημα και νοητική υστέρηση αποτελεί μία σπάνια γενετική διαταραχή η οποία οφείλεται σε επικρατητικές μεταλλάξεις του γονιδίου *KIF11*, του 11^{ου} μέλους της οικογένειας των κινεσινών. Πρόσφατα, οι Jones GE et al 2014⁵⁰ ανακοίνωσαν την ανεύρεση ατόμων με μεταλλάξεις στο *KIF11* γονίδιο και φυσιολογικό φαινότυπο, ενδεικτικό μειωμένης διεισδυτικότητας. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με την ύπαρξη ασθενών με ήπιο κλινικό φαινότυπο συνιστά την προσοχή όσον αφορά τη γενετική συμβουλευτική.

Τέλος, ομόζυγες μεταλλάξεις στα γονίδια *ARFGEF2*, *NDE1*, *SLC25A19* έχουν συνδεθεί με παθολογικούς φαινοτύπους που συνδέονται με μικροκεφαλία. Συγκεκριμένα:

ARFGEF2 (20q13) → ομόζυγες ή διπλά ετερόζυγες μεταλλάξεις στο *ARFGEF2* γονίδιο είναι υπεύθυνες για την αυτοσωμική υπολειπόμενη περικουλιακή ετεροτοπία με μικροκεφαλία (autosomal recessive heterotopias with microcephaly) (ARPHM) (OMIM#608097)

NDE1 (16p13.11) → Η παραγόμενη πρωτεΐνη βρίσκεται στο κεντρόσωμα και έχει σημαντικό ρόλο τόσο στη κυτταρική διαίρεση όσο και στη νευρωνική μετανάστευση. Ομόζυγες μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη αυτή προκαλούν είτε α) μικρουδροκεφαλία, ένα νόσημα που συνδυάζει υδροκέφαλο με μικροκεφαλία (OMIM#605013), είτε λισσεγκεφαλία τύπου 4 με μικροκεφαλία (OMIM#614019). Η κατάσταση αυτή χαρακτηρίζεται από το συνδυασμό λισσεγκεφαλίας τύπου 4, εγκεφαλικής ατροφίας, μικροκεφαλίας και νοητικής υστέρησης.

SLC25A19 (17q25.3) → Μιτοχονδριακή πρωτεΐνη που ανήκει στην οικογένεια των διαλυτών μεταφορέων, συγκεκριμένα της πυροφωσφορικής θειαμίνης. Ομόζυγες μεταλλάξεις είναι υπεύθυνες για σοβαρή συγγενή μικροκεφαλία, κετογλουταρική οξουρία και θάνατο στο πρώτο χρόνο ζωής (OMIM#607196)

iv. Σύνδρομα που κληρονομούνται με τον φυλοσύνδετο επικρατητικό ή υπολειπόμενο χαρακτήρα

Σύνδρομα που κληρονομούνται με τον φυλοσύνδετο επικρατητικό ή υπολειπόμενο τρόπο κληρονομικότητας παραθέτονται αναφορικά στο πίνακα 1.

Φυλοσύνδετη α-θαλασσαιμία/νοητική υστέρηση	<i>ATRX</i>	Χq21.1
Διαταραχές που σχετίζονται με το <i>MECP2</i> γονίδιο (MECP2 related disorders)(πρώην σύνδρομο RETT)	<i>MECP2</i>	Χq28
Σύνδρομο MICPCH	<i>CASK</i>	Χp11.4
Σύνδρομο Renpenning	<i>PQBP1</i>	Χp11.8
Σύνδρομο ανεπάρκειας κρεατινίνης	<i>SLC6A8</i>	Χq28
Σύνδρομο Cabezas	<i>CUL4B</i>	Χq24
Σύνδρομο <i>MECP2</i> διπλασιασμού	<i>MECP2</i>	Χq28
Σύνδρομο Miles-Carpender	<i>MCS</i>	Χq13-q22
Φυλοσύνδετη νοητική υστέρηση (Christianson type)	<i>SLC9A6</i>	Χq26.3

Πίνακας 1. Συνδρομική μικροκεφαλία κληρονομούμενη με το φυλοσύνδετο τρόπο κληρονομικότητας

Από τα παραπάνω σύνδρομα θα περιγραφούν με περισσότερες λεπτομέρειες τα τρία πιο συχνά (σύνδρομο φυλοσύνδετης α-θαλασσαιμίας/νοητικής υστέρησης, διαταραχές που σχετίζονται με το *MECP2* γονίδιο και το σύνδρομο MICPCH).

➤ **Φυλοσύνδετη α-θαλασσαιμία/νοητική υστέρηση (a-thalassemia/mental retardation-X linked)(ATRX)**

Το σύνδρομο ATRX (OMIM#301040) είναι ένα φυλοσύνδετο υπολειπόμενο νόσημα το οποίο οφείλεται στην ύπαρξη μετάλλαξης στο ATRX γονίδιο και εκδηλώνεται μόνο σε άρρενα άτομα. Χαρακτηρίζεται από συνδυασμό μικροκεφαλίας,

δυσμορφικών χαρακτηριστικών, σοβαρής αναπτυξιακής και νοητικής καθυστέρησης, νεογνικής υποτονίας, ποικίλου βαθμού α-θαλασσαιμίας,



σκελετικών, ουρογεννητικών και ποικίλων άλλων συγγενών ανωμαλιών. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του προσώπου περιλαμβάνουν μεγάλο μέτωπο, προς τα κάτω βλεφαρικές σχισμές, επίκανθο, καθίζηση ρίζας ρινός, μικρή

μύτη, ανεστραμμένα πτερύγια, αποστρογγυλωμένο ακρορρίνιο, κοντό φίλτρο, παχιά σαρκώδη χείλη, άνω χείλος εν είδει σκηνής (^), κάτω χείλος ανεστραμμένο και θολωτή υπερώα. Όσον αφορά το αιματολογικό προφίλ των ασθενών, επειδή μπορεί να μην υπάρχουν σημεία και συμπτώματα α-θαλασσαιμίας, σημαντική είναι η προσπάθεια ανεύρεσης HbH εγκλείστων. Επειδή αρκετές φορές τα έγκλειστα είναι αρκετά σπάνια και μπορεί να μην αναγνωριστούν, συχνά κρίνεται απαραίτητη η επανάληψη της εξέτασης⁵¹.

➤ **Διαταραχές που σχετίζονται με το *MECP2* γονίδιο (Παλιότερα γνωστό ως σύνδρομο Rett)**

Οι διαταραχές αυτές αποτελούν μια σοβαρή νευροαναπτυξιακή διαταραχή και στη κλασική τους μορφή χαρακτηρίζονται από φυσιολογική ψυχοκινητική εξέλιξη μέχρι την ηλικία των 6-12 μηνών που ακολουθείται από παλινδρόμηση των αποκτηθέντων γνωστικών και κινητικών ικανοτήτων. Παράλληλα παρατηρείται σταδιακή πτώση της περιμέτρου κεφαλής, εγκατάσταση τυπικών στερεοτυπικών κινήσεων των χεριών, αυτιστικές τάσεις, δυσπραξία βάδισης, σπασμούς, ανώμαλο πρότυπο αναπνοής και διαταραχές του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Μετά το στάδιο της παλινδρόμησης συνήθως παρατηρείται περίοδος στασιμότητας⁵². Εκτός από την κλασική μορφή έχουν παρατηρηθεί και πέντε άτυπες μορφές συνδρόμου Rett. Οι διαταραχές αυτές προκαλούνται από μεταλλάξεις στο γονίδιο *MECP2* που κωδικοποιεί τη methyl-CpG-protein 2 στη θέση Χq28 η οποία συνδέεται σε

μεθυλιωμένες αλληλουχίες DNA και δρα ως καταστολέας της γονιδιακής μεταγραφής. Ωστόσο, ερευνητικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι συνδέεται με συγκεκριμένα γονίδια-στόχους στον εγκέφαλο, ρυθμίζοντας την έκφρασή τους. Σε κλινικό επίπεδο, οι εκδηλώσεις του συνδρόμου Rett σχετίζονται με τη συναπτική λειτουργία στον αναπτυσσόμενο εγκέφαλο και την ωρίμανση των νευρώνων ⁵³. Τέλος, εκτός από την κλασική και τις άτυπες μορφές του συνδρόμου Rett, μεταλλάξεις στο *MECP2* γονίδιο έχουν βρεθεί σε ένα σημαντικό αριθμό ασθενών με μη συνδρομική φυλοσύνδετη ΨΚΚ και αυτιστικά στοιχεία καθώς και σε ασθενείς με εικόνα συνδρόμου Angelman ⁵⁹.

➤ **Σύνδρομο MICPCH (Microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia) (OMIM#300749)**

Το σύνδρομο MICPCH συνδυάζει νοητική υστέρηση, μικροκεφαλία και γεφυροπαρεγκεφαλιδική ατροφία. Οφείλεται στην ύπαρξη ετερόζυγων μεταλλάξεις ή ελλειμμάτων στο γονίδιο *CASK* που βρίσκεται στη χρωμοσωμική περιοχή Χρ11.4 και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη η οποία βρίσκεται στις συνάψεις των νευρικών κυττάρων του εγκεφάλου ⁵⁴.

Μεμονωμένη μικροκεφαλία

A. Μικροκεφαλία κληρονομούμενη με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο

Αυτοσωμική υπολειπόμενη πρωτοπαθής μικροκεφαλία (*Primary autosomal recessive microcephaly*) (MCPH)

Η αυτοσωμική υπολειπόμενη πρωτοπαθής μικροκεφαλία (MCPH) αποτελεί μια



σπάνια κληρονομική νευροαναπτυξιακή διαταραχή η οποία παρουσιάζει γενετική ετερογένεια (μεταλλάξεις υπεύθυνες για MCPH έχουν αναγνωρισθεί σε 12 διαφορετικά γονίδια) (Πίνακας 2) και κλινικά χαρακτηρίζεται από:

1) Σημαντική μικροκεφαλία από τη γέννηση. Τις περισσότερες φορές η μικροκεφαλία παρατηρείται ήδη από το δεύτερο τρίμηνο της κύησης

2) Χαρακτηριστικό σχήμα κεφαλής με προς τα πίσω κλίση του μετώπου

2) Νοητική υστέρηση ποικίλου βαθμού

3) MRI εγκεφάλου: Φυσιολογική ή Παθολογική

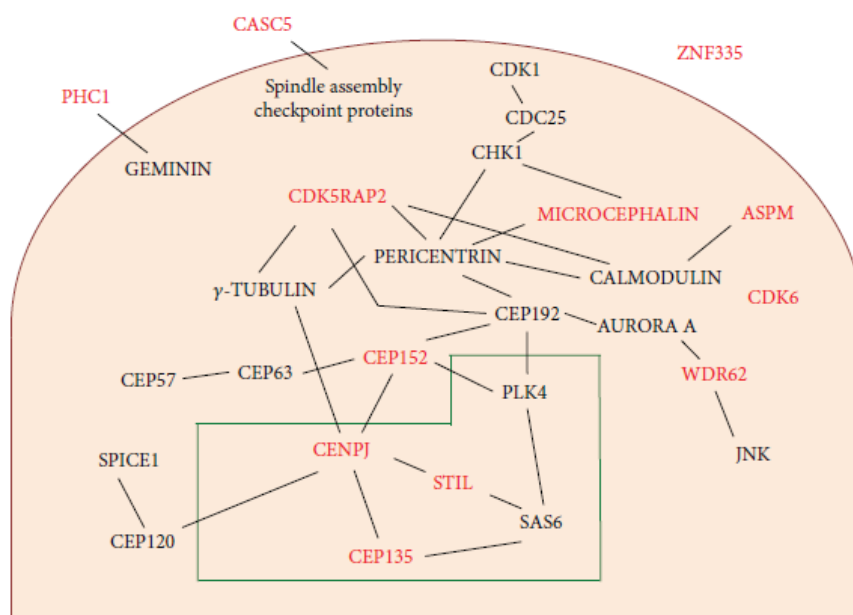
Κάποιες φορές, η MCPH συσχετίζεται με επιπρόσθετα κλινικά γνωρίσματα όπως κοντό ανάστημα, σπασμούς και σκελετικές ανωμαλίες και παρουσιάζει κλινική επικάλυψη με τις αναφερόμενες ως σχετιζόμενες με την MCPH διαταραχές «MCPH related disorders». Οι διαταραχές αυτές υπάγονται στην κατηγορία των «Microcephalic Primordial Dwarfisms» και είναι το σύνδρομο Seckel, το σύνδρομο Meier-Gorlin και ο μικροκεφαλικός οστεοδυσπλαστικός νανισμός. Πιθανότατα το γεγονός αυτό οφείλεται σε αλληλοεπικάλυψη των παθολογικών μηχανισμών των ανωτέρω διαταραχών. Άλλωστε είναι ήδη γνωστό ότι μεταλλάξεις στο ίδιο γονίδιο μπορεί να προκαλέσουν είτε MCPH είτε σύνδρομο Seckel (π.χ μεταλλάξεις στο γονίδιο CENPJ προκαλούν είτε MCPH6 είτε SCKL4)⁵⁵.

MCPH	Υπεύθυνο γονίδιο	OMIM
MCPH1	<i>MCPH1 (μικροκεφαλίη 1)</i>	607117
MCPH2	<i>WDR62</i>	613583
MCPH3	<i>CDK5RAP2</i>	608201
MCPH4	<i>CASC5</i>	609173
MCPH5	<i>ASPM</i>	605481
MCPH6	<i>CENPJ</i>	609279
MCPH7	<i>STIL</i>	181590
MCPH8	<i>CEP135</i>	611423
MCPH9	<i>CEP152</i>	613529
MCPH10	<i>ZNF335</i>	610827
MCPH11	<i>PHC1</i>	602978
MCPH12	<i>CDK6</i>	603368

Πίνακας 2. Γονίδια υπεύθυνα για τους 12 τύπους αυτοσωμικής υπολειπόμενης πρωτοπαθούς μικροκεφαλίας (MCPH).

Τα γονίδια που εμπλέκονται και στους 12 τύπους της πρωτοπαθούς μικροκεφαλίας είναι γονίδια που σχετίζονται με τη δομή, τη σταθερότητα και τη λειτουργία των κεντροσώματα (Εικ.5). Τα κεντροσώματα είναι οργανίδια απαραίτητα για τη δημιουργία της μιτωτικής ατράκτου και συνεπώς παίζουν καθοριστικό ρόλο στην κυτταρική διαίρεση. Τα πρωτεϊνικά προϊόντα όλων των MCPH γονιδίων εμφανίζουν υψηλή έκφραση στα νευροεπιθηλιακά και στα νευροπρογονικά κύτταρα κατά τα

πρώιμα στάδια της ανάπτυξης του εγκεφάλου και παίζουν σημαντικό ρόλο στη νευρογένεση.



Barbelane M et al., 2014. Molecular and Cellular Basis of Autosomal Recessive Primary Microcephaly

Εικ.5 Δίκτυο αλληλεπίδρασης των πρωτεϊνών που είναι υπεύθυνες για την πρωτοπαθή μικροκεφαλία. Η πλειοψηφία των πρωτεϊνών (9/12) (κόκκινο χρώμα) σχετίζονται με τα κεντροσώματα. Οι πρωτεΐνες CENPJ, STIL και CEP135 (πράσινο πλαίσιο) είναι μέρος των κενριολίων, ενώ οι μικροκεφαλίνη (MCPH1), CDK5RAP2, CEP152 βρίσκονται στην PMC. Από τις 3 πρωτεΐνες που δεν βρίσκονται στα κεντροσώματα, η CASC5 και PHC1 είναι γνωστό ότι αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες των κεντροσωμάτων. Η σχέση της ZNF335 με τα κεντροσώματα δεν έχει μέχρι σήμερα αποδειχτεί.

Microcephalic Primordial Dwarfisms

Στην κατηγορία αυτή υπάγονται γενετικά νοσήματα που συνδυάζουν σοβαρού βαθμού μικροκεφαλία με σημαντική καθυστέρηση στη σωματική αύξηση. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν:

A. Microcephalic Osteodysplastic Primordial Dwarfism Type-II (MOPD-II)

Το σύνδρομο MOPD-II (OMIM#210720) χαρακτηρίζεται από κοντό ανάστημα, μικροκεφαλία, ανωμαλίες προσώπου(χαρακτηριστικό του συνδρόμου αποτελεί η

υποδοντία) και αγγειακές ανωμαλίες συμπεριλαμβανομένου εγκεφαλικά ανευρύσματα. Οφείλεται στην ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο *PCNT* (21q22). Απαραίτητη η διαφορική διάγνωση από σύνδρομα που συνδυάζουν κοντό ανάστημα, μικροκεφαλία και παρόμοια φαινοτυπικά γνωρίσματα προσώπου, όπως το σύνδρομο Seckel και το σύνδρομο Dubowitz⁵⁶.

B. Seckel Syndrome

Το σύνδρομο Seckel είναι ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα που χαρακτηρίζεται από σοβαρή μικροκεφαλία, ενδομήτρια και μεταγεννητική καθυστέρηση της ανάπτυξης με αποτέλεσμα πολύ χαμηλό ανάστημα, ποικίλου βαθμού νοητική υστέρηση, δυσμορφικά γνωρίσματα όπως κρανιοπροσωπικό σχήμα δίκην πτηνού, προέχουσα τριγωνική μύτη, μικρογναθία, σχιστία χείλους και σχιστία υπερώας, πολλαπλές σκελετικές και γαστρεντερικές ανωμαλίες. Μέχρι σήμερα μεταλλάξεις σε 7 διαφορετικά γονίδια έχουν ενοχοποιηθεί για τους 7 τύπους του συνδρόμου (Πίνακας 3)

Τύπος Seckel	Γονίδιο	OMIM
SCKL1	<i>ATR</i>	210600
SCKL2	<i>RBBP8</i>	606744
SCKL3	<i>ERROR</i>	608664
SCKL4	<i>CENPJ</i>	613676
SCKL5	<i>CEP152</i>	613823
SCKL6	<i>CEP63</i>	614728
SCKL7	<i>NIN</i>	614851
SCKL8	<i>DNA2</i>	615807

Πίνακας 3. Τύποι συνδρόμου seckel

Γ.Meier-Gorlin syndrome

Το σύνδρομο Meier-Gorlin είναι ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα το οποίο χαρακτηρίζεται από την τριάδα: προ- και μεταγεννητική καθυστέρηση της αύξησης

που έχει ως αποτέλεσμα πολύ κοντό ανάστημα, μικρά ώτα και απλασία ή υποπλασία επιγονατίδας. Συνήθως το κοντό ανάστημα συνοδεύεται από μικροκεφαλία με φυσιολογική όμως νοημοσύνη, ενώ ένας σημαντικός αριθμός άλλων σκελετικών ανωμαλιών έχουν καταγραφεί. Μέχρι στιγμής έχουν περιγραφεί 5 τύποι του συνδρόμου (OMIM 224690, 613800, 613803, 613804 και 613805) οι οποίοι οφείλονται στην ύπαρξη ομόζυγων μεταλλάξεων στα γονίδια *ORC1*, *ORC4*, *ORC6*, *CDT1* και *CDC6* αντίστοιχα⁵⁷.

Δ. Ομόζυγες ή διπλά ετερόζυγες μεταλλάξεις στα γονίδια *PLK4* και *TUBGCP6*

Μεταλλάξεις στα γονίδια *PLK4* και *TUBGCP6* έχουν συνδεθεί με μικροκεφαλία, πρωτοπαθή νανισμό και χοριοαμφιβληστροειδοπάθεια. Επίσης μπορεί να συνυπάρχει και ήπιου βαθμού νοητική υστέρηση. Το γονίδιο *PLK4* αποτελεί καθοριστικό ρυθμιστή του διπλασιασμού των κεντριολίων, ενώ το γονίδιο *TUBGCP6* αποτελεί το κύριο υπόστρωμα του *PLK4* γονιδίου⁵⁸.

Β. Μικροκεφαλία κληρονομούμενη με τον αυτοσωμικό επικρατητικό τρόπο

Στην κατηγορία αυτή υπάγονται όλες οι περιπτώσεις « Οικογενούς μικροκεφαλίας» που χαρακτηρίζονται από μεμονωμένη μικροκεφαλία που δεν συνοδεύεται από νοητική υστέρηση ή άλλες συγγενείς ανωμαλίες.

Γ. Δυσπλασίες-δυσραφίες εγκεφάλου (Ολοπροσεγκεφαλία)

Ως ολοπροσεγκεφαλία ορίζεται η αδυναμία του προσθίου εγκεφάλου να διαφοροποιηθεί σε δύο ημισφαίρια. Η ολοπροσεγκεφαλία είναι μία ετερογενής διαταραχή με ποικίλη εκφραστικότητα και ελαττωμένη διεισδυτικότητα. Μπορεί να ποικίλει σε βαρύτητα, από την πλήρη αποτυχία διαίρεσης του εγκεφάλου σε δύο ημισφαίρια μέχρι πιο ήπιες μορφές που δεν επηρεάζουν την εγκεφαλική λειτουργία αλλά μπορεί να οδηγήσουν σε παραμορφώσεις του προσώπου. Κύρια κλινικά

γνωρίσματα αποτελούν η σημαντική μικροκεφαλία, η υποπλασία της μέσης γραμμής και η βαριά ΨΚΚ.



Τα αίτια της ολοπροσεγκεφαλίας μπορεί να είναι είτε περιβαλλοντικά είτε γενετικά (χρωμοσωμικές ανωμαλίες- σημειακές μεταλλάξεις). Η απλοανεπάρκεια του γονιδίου SHH (Sonic-hedgehog) (OMIM: 600725) είτε λόγω *loss of function* μεταλλάξεων, είτε λόγω 7q36 μικροελλείμματος (Currarino syndrome),

αντιπροσωπεύει την πιο συχνή αιτία ολοπροσεγκεφαλίας. Άλλα υπεύθυνα γονίδια για την πρόκληση ολοπροσεγκεφαλίας είναι τα ακόλουθα: *SIX3*, *TGIF*, *ZIC2*, *PTCH1*⁶¹.

Δ. Πρωτοπαθής κρανιοσυνοστέωση

Ως πρωτοπαθής κρανιοσυνοστέωση ορίζεται η πρώιμη σύγκλιση ενός ή περισσότερων ραφών του θόλου του κρανίου και έχει ως αποτέλεσμα την πρόκληση κρανιακής δυσμορφίας. Η πρώιμη συνοστέωση μπορεί να αφορά μία κρανιακή ραφή μεμονωμένα ή περισσότερες, οπότε ονομάζεται αντίστοιχα απλή ή πολλαπλή κρανιοσυνοστέωση. Μπορεί να εμφανίζεται στα πλαίσια κάποιου συνδρόμου και να συνοδεύεται από πολλαπλές συγγενείς διαμαρτίες (συνδρομική) ή να εμφανίζεται σποραδικά ως μεμονωμένο γεγονός (μη συνδρομική)⁶¹ (Πίνακας 4).

Πρωτοπαθής Κρανιοσυνοστέωση

A. Απλή

- Μη συνδρομική (οβελιαία, στεφανιαία, μετωπική, λαμβοειδής)
- Συνδρομική

B. Πολλαπλή

- Μη συνδρομική
- Συνδρομική (Νόσος Crouzon, σύνδρομο Apert, Νόσος Pfeiffer)

Πίνακας 4. Ταξινόμηση Πρωτοπαθούς Κρανιοσυνοστεώσης

Το σχήμα του κρανίου είναι χαρακτηριστικό για κάθε τύπο κρανιοσυνοστέωσης, ανάλογα με τη κρανιακή ραφή ή το συνδυασμό των ραφών που κλείνουν σε κάθε περίπτωση. Σύμφωνα με τους κανόνες που πρώτος ο ίδιος ο Virchow αναγνώρισε, όταν μια ραφή συνοστεωθεί πρώιμα στην πορεία της διάπλασης του κρανίου, παρεμποδίζεται η αύξηση του κρανίου κάθετα στη συνοστεωμένη ραφή και συνεχίζεται αντιρροπιστικά προς τις άλλες κατευθύνσεις δίνοντας στο κρανίο μια τυπική τελική μορφολογία. Σε σπάνιες περιπτώσεις συγκλείνουν πρώιμα οι περισσότερες ή όλες οι ραφές του κρανίου. Στις περιπτώσεις όπου η διαταραχή δεν αναγνωριστεί εγκαίρως, ο εγκέφαλος δεν αναπτύσσεται φυσιολογικά και η περίμετρος της κεφαλής καταλήγει μικρότερη από τα φυσιολογικά όρια. Οι Dharamshi HA et al., 2015 ανακοίνωσαν πρόσφατα έναν ασθενή με σύνδρομο Crouzon, μικροκεφαλία, υδροκέφαλο, νοητική υστέρηση και εξώφθαλμο σαν ενδιαφέρουσα περίπτωση⁶².

E. Αναιμία Fanconi

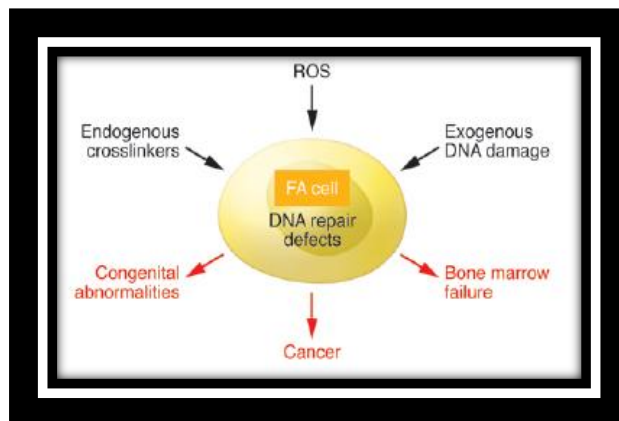
Η αναιμία Fanconi είναι ένα ετερογενές αυτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα το οποίο χαρακτηρίζεται από πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες ($\approx 70\%$), ποικίλες αιματολογικές διαταραχές και προδιάθεση σε ένα μεγάλο αριθμό κακοήθων νεοπλασματικών νόσων. Οι συγγενείς ανωμαλίες που συχνότερα παρουσιάζονται είναι υποπλασία-απλασία αντίχειρα ή/και κερκίδας, μικροκεφαλία, σκελετικές διαταραχές, μικροοφθαλμία, κοντό ανάστημα οφειλόμενο σε χαμηλή αυξητική ορμόνη και ποικίλες άλλες ενδοκρινοπάθειες. Όσον αφορά τις αιματολογικές διαταραχές, μυελική ανεπάρκεια και των 3 σειρών του αίματος, μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα και λευχαιμίες είναι οι πλέον συχνότερες. Η νόσος οφείλεται στην ύπαρξη ομόζυγων ή διπλά ετερόζυγων μεταλλάξεων σε ένα από τα τουλάχιστον 15 υπεύθυνα γονίδια που έχουν μέχρι σήμερα αναγνωριστεί (Εικ.6). Τα γονίδια αυτά κωδικοποιούν πρωτεΐνες που λαμβάνουν μέρος σε μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA (Anemia Fanconi Pathway), μεταλλάξεις στα οποία προκαλούν κυτταρογενετική αστάθεια, αυξημένη ευθραυστότητα των χρωμοσωμάτων και

υπερευαίσθησία σε ενδογενή και εξωγενή μόρια που προκαλούν βλάβη στο DNA (Εικ.7) ⁶³.

Gene (alias)	Locus	Mutation frequency	Amino acids	Protein MW (kDa)	Notable protein function
<i>FANCA</i>	16q24.3	~66%	1,455	163	Scaffold for FA core complex
<i>FANCB</i>	Xp22.31	~2%	859	95	Scaffold for FA core complex
<i>FANCC</i>	9q22.3	~10%	558	63	Scaffold for FA core complex
<i>FANCD1 (BRCA2)^A</i>	13q12.3	~2%	3,418	380	Recruits RAD51 and promotes HR repair
<i>FANCD2</i>	3p25.3	~3%	1,451	162	Monoubiquitinated. Recruits FAN1, FANCP to chromatin
<i>FANCE</i>	6p21.3	~2%	536	60	Scaffold for FA core complex. Probable adaptor for FANCD2
<i>FANCF</i>	11p15	~2%	374	42	Scaffold for FA core complex
<i>FANCG (XRCC9)</i>	9p13	~10%	622	70	Scaffold for FA core complex
<i>FANCI</i>	15q25-26	<2%	1,328	150	Monoubiquitinated. Forms heterodimer with FANCD2
<i>FANCL (BACH1, BRIP1)^A</i>	17q22.3	<2%	1,249	150	Interacts with BRCA1, DNA helicase, ATPase
<i>FANCL (PHF9)</i>	2p16.1	Rare	375	43	Recruits UBE2T via PHD E3 domain. Monoubiquitinates FANCD2 and FANCI
<i>FANCM</i>	14q21.3	Rare	2,014	250	Scaffold for FA core complex. Branch migration/ATPase activity. Interacts with BLM
<i>FANCN (PALB2)^A</i>	16p12.1	Rare	1,186	130	Mediates interaction between BRCA1 and BRCA2 during HR
<i>FANCO (RAD51C)^A</i>	17q22	Rare	376	43	Promotes HR. Interacts with RAD51 and RAD51 homologs
<i>FANCP (SLX4)^B</i>	16p13.3	Rare	1,834	200	Functions as holiday junction resolvase with SLX1. Interacts with XPF-ERCC1 and EME1-MUS81 nucleases

^AFamilial susceptibility to breast cancer. ^BFamilial breast cancer susceptibility unclear (minor, if any).

Εικόνα 6. Γονίδια υπεύθυνα για την αναιμία Fanconi



Εικόνα 7. Παθοφυσιολογία αναιμίας Fanconi

ΣΤ. Μεταβολικά Νοσήματα

Στη συνέχεια παραθέτονται οι κατηγορίες των μεταβολικών νοσημάτων στα οποία η μικροκεφαλία αποτελεί βασικό γνώρισμα. Εκτενής αναφορά θα γίνει μόνο στα σύνδρομο Smith-Lemli-Opitz το οποίο λόγω των πολλαπλών συγγενών ανωμαλιών που προκαλεί, περιγράφεται συνηθέστερα στα γενετικά νοσήματα από ότι στα μεταβολικά.

2. Μιτοχονδριακά νοσήματα
3. Διαταραχές γλυκοζυλίωσης
4. Διαταραχές υπεροξειδισωμάτων
5. Οργανικές Οξυουρίες-οξυαιμίες
6. Φαινυλκετονουρία
7. Διαταραχές μεταβολισμού στερολών

Σύνδρομο Smith-Lemli-Opitz

Το σύνδρομο Smith-Lemli-Opitz είναι ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα το οποίο οφείλεται στην ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο DHCR7



(7-dehydrocholesterol reductase) το οποίο κωδικοποιεί το τελικό ένζυμο στο μονοπάτι σύνθεσης της χοληστερόλης και μετατρέπει την 7 δευδροχοληστερόλη (7DHC) σε χοληστερόλη. Αποτέλεσμα της έλλειψης του γονιδίου αυτού είναι η αυξημένη συγκέντρωση των πρόδρομων μορφών της χοληστερόλης και η χαμηλή χοληστερόλη πλάσματος.

Κλινικά αναγνωρίζονται δύο τύποι του συνδρόμου Smith-Lemli-Opitz οι οποίοι και έχουν αποδοθεί στη βαρύτητα των υποκείμενων μεταλλάξεων. Ο τύπος I που είναι και ο ηπιότερος, οφείλεται στην ύπαρξη μεταλλάξεων που έχουν ως αποτέλεσμα την ύπαρξη υπολειμματικής ενζυμικής δραστηριότητας. Συνηθέστερα κλινικά γνωρίσματα του τύπου αυτού

είναι η μικροκεφαλία, η μέτρια-σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ, τα ιδιόμορφα μορφολογικά γνωρίσματα όπως πτώση των βλεφάρων, επίκανθος, στραβισμός, ευρεία άκρη ρινός με ανεστραμμένα προς τα πάνω ρινικά πτερύγια, ευρείες φατνιακές γέφυρες άνω γνάθου, μικρογναθία, χαμηλή πρόσφυση ώτων και χαρακτηριστικές ανωμαλίες δακτύλων όπως συνδακτυλία 2^{ου}-3^{ου} δακτύλων ποδιού και *postaxial* πολυδακτυλία συνηθέστερα στα χέρια από ότι στα πόδια. Τέλος αρκετά συχνά συναντάμε συγγενείς ανωμαλίες του ουρογεννητικού συστήματος (περίπου 70% των περιπτώσεων) με συνηθέστερες τον υποσπαδία, την κρυφορχία και το μικρό πέος και συγγενείς καρδιοπάθειες (περίπου 50% των περιπτώσεων) ⁶⁴.

Ο τύπος II είναι ο βαρύτερος τύπος του συνδρόμου, οφείλεται στην ύπαρξη ομόζυγων ή διπλά ετερόζυγων μεταλλάξεων που καταλήγουν στη παντελή έλλειψη ή στην ελάχιστη ύπαρξη του ενζύμου και ανευρίσκονται σε άτομα με καρυότυπο χρωμοσωμάτων 46 XY και εξωτερικά γεννητικά όργανα θήλεος. Οι ασθενείς αυτοί φέρουν πολλαπλές σοβαρές συγγενείς ανωμαλίες και ο θάνατος επέρχεται νωρίς στη νεογνική ηλικία ^{65, 66}.

1.3. Περιβαλλοντικά (μη γενετικά) αίτια μικροκεφαλίας

A. Αίτια που επιδρούν ενδομήτρια (προγεννητικά)

- ✓ Ακτινοβολία
- ✓ Συγγενείς λοιμώξεις (ερυθρά, κυτταρομεγαλοιο, τοξόπλασμα, ερπητόιο, σύφιλη)
- ✓ Λήψη αντιεπιληπτικών φαρμάκων από τη μητέρα (εμβρυικό σύνδρομο υδαντοίνης)
- ✓ Λήψη μεγάλων ποσοτήτων αλκοόλ κατά τη διάρκεια της κύησης (εμβρυικό αλκοολικό σύνδρομο)
- ✓ Κάπνισμα
- ✓ Διαβήτης κύησης
- ✓ Υποθρεψία μητέρας

- ✓ Ενδομήτρια υποξία-ισχαιμία (IUGR)
- ✓ Υψηλά επίπεδα φαινυλαλανίνης σε μητέρα πάσχουσα από φαινυλκετονουρία

B. Αίτια που επιδρούν περιγεννητικά

- ✓ Περιγεννητική ασφυξία
- ✓ Υπερθερμία νεογνού
- ✓ Λοίμωξη ΚΝΣ νεογνού
- ✓ Ενδοκράνια αιμορραγία
- ✓ Ισχαιμικό αγγειακό επεισόδιο

Γ. Αίτια που επιδρούν μεταγεννητικά

- ✓ Κακή διατροφή βρέφους
- ✓ Χρόνια νεφρική νόσος
- ✓ Χρόνια καρδιοαναπνευστική νόσος

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Αντικείμενο της παρούσας διδακτορικής διατριβής αποτελεί η κλινική και εργαστηριακή διερεύνηση παιδιών με μικροκεφαλία γενετικής αιτιολογίας, καθώς και η εφαρμογή της μεθόδου γενωμικού συγκριτικού υβριδισμού (array-CGH) στις αδιάγνωστες περιπτώσεις συνδρομικής μικροκεφαλίας, με σκοπό:

- α) την ανεύρεση υπομικροσκοπικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών (copy number variations) (CNVs), όπως μικροελλειμμάτων ή/και μικροδιπλασιασμών που να σχετίζονται με το φαινότυπο του ασθενούς,
- β) τη συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου και την ανεύρεση υποψήφιων γονιδίων η απλοανεπάρκεια (haploinsufficiency) των οποίων πιθανόν συμβάλλει στη μη φυσιολογική ανάπτυξη του εγκεφάλου και την κλινική εκδήλωση μικροκεφαλίας και
- γ) τη βελτίωση της παροχής υπηρεσιών γενετικής συμβουλευτικής.

Δεύτερος σκοπό της μελέτης αποτελεί η προσπάθεια συσχέτισης γονοτύπου – MRI (Magnetic Resonance Imaging) ευρημάτων καθώς και MRI ευρημάτων με την πρόγνωση των ασθενών στους οποίους εφαρμόστηκε η μέθοδος array-CGH.

Η εκπόνηση της ανωτέρω Διδακτορικής Διατριβής ξεκίνησε τον Δεκέμβριο του 2009, υπό την επίβλεψη της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Κας Έλενας Φρυσίρα. Η κατάθεση του Πρωτοκόλλου Έρευνας πραγματοποιήθηκε τον Δεκέμβριο του 2008.

Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη μελέτη που περιγράφει την εφαρμογή των array-CGH σε ένα μεγάλο αριθμό παιδιών με συνδρομική μικροκεφαλία αγνώστου αιτιολογίας.

3. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Από μια ομάδα 203 ασθενών με συνδρομική μικροκεφαλία που παραπέμφθηκαν για γενετική εκτίμηση στα εξωτερικά ιατρεία της Κλινικής Γενετικής του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής ΕΚΠΑ κατά το χρονικό διάστημα Σεπτέμβριος 2009-Ιούνιο 2014 [διερευνήθηκαν παιδιά που είχαν ήδη εξεταστεί στο παρελθόν (αναδρομικά), καθώς και όλες οι νέες περιπτώσεις, εφαρμόσαμε τη μέθοδο του γενωμικού συγκριτικού υβριδισμού (array-CGH) με μέσω επίπεδο ευκρίνειας $\approx 8\text{Kb}$, σε 60 αδιάγνωστους ασθενείς. Επίσης, σε 5 ασθενείς εφαρμόστηκε μέθοδος array-CGH με μικρότερο επίπεδο ευκρίνειας ($\approx 1\text{Mb}$), σε εξωτερικό εργαστήριο. Η συλλογή των ασθενών στους οποίους εφαρμόστηκε η μέθοδος array-CGH βασίστηκε σε ένα καλά τυποποιημένο πρωτόκολλο το οποίο αποτελείται από 5 βήματα.

Ακολουθεί αναλυτική περιγραφή του πρωτοκόλλου.

Βήμα 1^ο

1α. Λήψη λεπτομερούς ατομικού ιστορικού το οποίο περιλαμβάνει πλήρες μαιευτικό και περιγεννητικό ιστορικό (ασθένειες και προβλήματα της μητέρας κατά τη κύηση, λήψη φαρμακευτικών ουσιών, ναρκωτικών ουσιών, καπνού, έκθεση σε ακτινοβολία, προγεννητικό έλεγχο, Apgar score, λοιπά περιγεννητικά προβλήματα). Πολλές από τις αιτίες μικροκεφαλίας μπορούν να διαγνωστούν ήδη από το ιστορικό του ασθενούς.

1β. Λεπτομερές οικογενειακό ιστορικό και δημιουργία γενεαλογικού δένδρου.

Βήμα 2^ο

Λεπτομερής κλινική εξέταση όλων των συστημάτων και γενετική εκτίμηση με λεπτομερή καταγραφή των σωματικών παραμέτρων (ύψους, βάρους σώματος και περιμέτρου κεφαλής των ασθενών αλλά και των γονέων), των ιδιόμορφων

μορφολογικών γνωρισμάτων, των συγγενών ανωμαλιών καθώς και εκτίμηση της ψυχοκινητικής εξέλιξης/επίπεδο νοημοσύνης του κάθε ασθενούς, υπό την επίβλεψη εξειδικευμένης γενετίστριας (Κα Φρυσίρα, Αναπληρώτρια καθηγήτρια Κλινικής Γενετικής ΕΚΠΑ/ Επιβλέπουσα της παρούσας διδακτορικής διατριβής). Υπάρχει μεγάλη πιθανότητα η παρατήρηση και η καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών και των ιατρικών προβλημάτων του ασθενούς να μας οδηγήσει από μόνη της στην κατάταξη του ασθενούς σε κάποιο από τα ήδη γνωστά χρωμοσωμικά ή μη σύνδρομα (κλινική διάγνωση).

Βήμα 3^ο

Αναπτυξιολογική, νευρολογική, Καρδιολογική, Οφθαλμολογική και ΩΡΛ εκτίμηση σε όλους τους ασθενείς. Ο εργαστηριακός έλεγχος ανάλογα με την περίπτωση πρέπει να περιλαμβάνει αιματολογικό και βιοχημικό έλεγχο, ηλεκτροεγκεφαλογράφημα (ΗΕΓ), μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου (MRI), υπερηχογράφημα καρδιάς και υπερηχογράφημα κοιλίας (ο αριθμός και η σειρά διεκπεραίωσης των εργαστηριακών εξετάσεων εξαστομικεύεται ανάλογα με τον ασθενή).

Βήμα 4^ο

Κλινικό και εργαστηριακό αποκλεισμό (στις περιπτώσεις που είναι απαραίτητο) όλων των περιβαλλοντικών αιτιών που ευθύνονται για μικροκεφαλία, των μεταβολικών νοσημάτων και των γενετικών αιτιών συνδρομικής μικροκεφαλίας που σχετίζονται με το φαινότυπο του ασθενούς (στοχευμένος γενετικός έλεγχος). Σε ορισμένες περιπτώσεις, όπου ο απαιτούμενος γενετικός έλεγχος δεν πραγματοποιείται στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, δείγμα γενετικού υλικού από τον ασθενή αποστέλλεται σε ειδικό κέντρο του εξωτερικού.

Βήμα 5^ο

Περαιτέρω διερεύνηση των αδιάγνωστων περιπτώσεων συνδρομικής μικροκεφαλίας με τη μέθοδο array-CGH. Το Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του

Πανεπιστημίου Αθηνών με έδρα το Χωρέμιο Ερευνητικό Εργαστήριο στο Νοσοκομείο Παιδών «Αγία Σοφία» διαθέτει τον κατάλληλο εξοπλισμό για τη διεκπεραίωση της μεθόδου. Η μέθοδος πραγματοποιήθηκε από εξειδικευμένους βιολόγους. Μέρος της παρούσας διδακτορικής διατριβής αποτέλεσε η επεξεργασία των αποτελεσμάτων, η συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου και η προσπάθεια ανεύρεσης υποψήφιων γονιδίων που πιθανόν συμβάλουν στη μη φυσιολογική ανάπτυξη του εγκεφάλου και την εκδήλωση μικροκεφαλίας.

Σε επιλεγμένο αριθμό ασθενών με κλινικό φαινότυπο που συνηγορεί υπέρ ύπαρξης συνδρόμου που οφείλεται σε κάποιο μικρό-έλλειμα ή μικρό-διπλασιασμό του γονιδιώματος καθώς και σε ασθενείς με μη εμφανή αιτία συνδρομικής μικροκεφαλίας, εφαρμόστηκε η εξελιγμένη τεχνική array-CGH analysis (array-based comparative genomic hybridization analysis. Από τους Vermeesch και συνεργάτες δόθηκε στη τεχνική η ονομασία «Μοριακός Καρυότυπος» με Μικροσυστοιχίες Συγκριτικού Γονιδιωματικού Υβριδισμού. Η μέθοδος αυτή έχει τη δυνατότητα ανίχνευσης μικρών ελλειμμάτων και διπλασιασμών του ανθρώπινου γονιδιώματος, η αναγνώριση των οποίων δεν είναι δυνατή με τον κλασσικό χρωμοσωματικό καρυότυπο. Ελλείψεις και διπλασιασμοί του DNA σε συγκεκριμένες περιοχές του γονιδιώματος μπορεί να ευθύνονται για φαινότυπο που περιλαμβάνει μικροκεφαλία και νοητική υστέρηση. Στη συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή η μέθοδος Array CGH Analysis θα πραγματοποιηθεί με πρωτόκολλο που βασίζεται στην τεχνολογία **«Agilent Oligonucleotide Array-Based CGH for Genomic DNA Analysis»**.

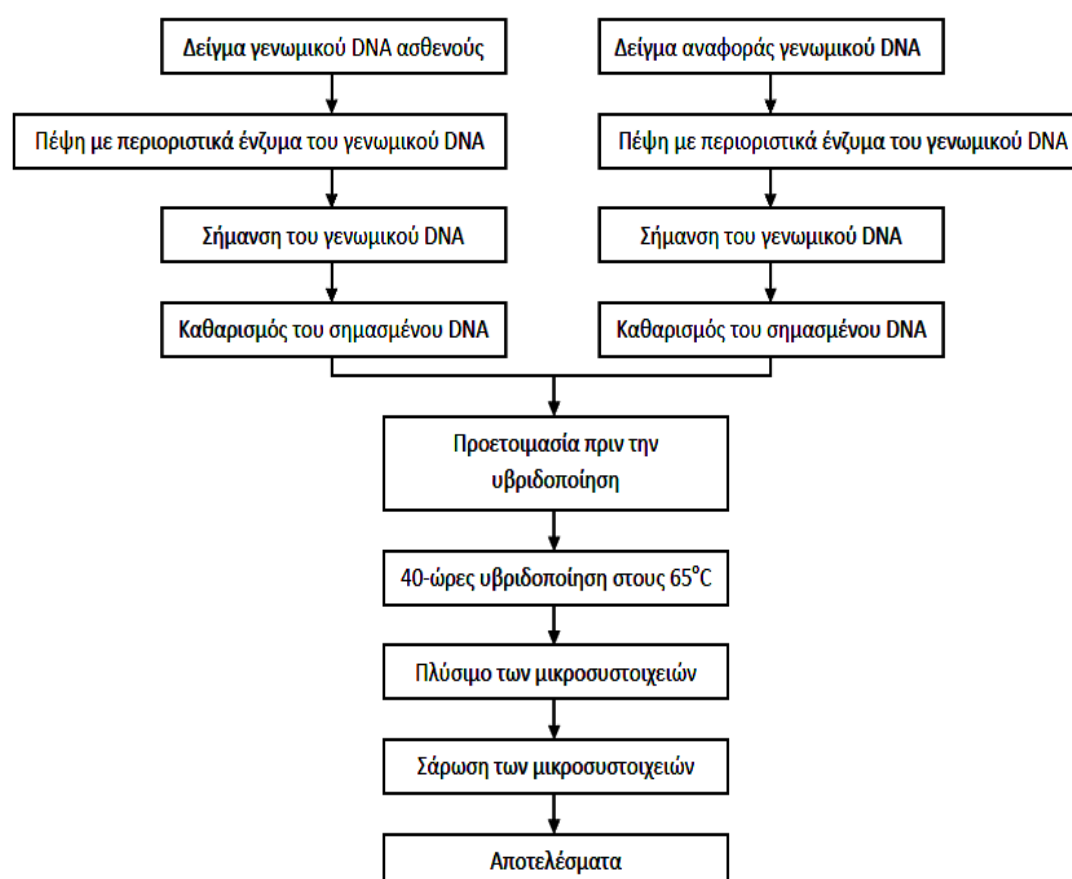
Απαραίτητη προϋπόθεση αποτελεί η ύπαρξη φυσιολογικού απλού καρυοτύπου πριν την εφαρμογή των array-CGH σε όλους τους ασθενείς.

Γραπτή συγκατάθεση ελήφθη από τους γονείς και από όλα τα μέλη της οικογένειας στα οποία εφαρμόστηκε η μέθοδος.

3.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Η τεχνική του γενωμικού συγκριτικού υβριδισμού με μικροσυστοιχίες (array-CGH) απαιτεί τον εξειδικευμένο εξοπλισμό ενός εργαστηρίου Μοριακής Γενετικής καθώς και απομονωμένους χώρους σε ένα καθαρό περιβάλλον χαμηλών επιπέδων υγρασίας, όζοντος, απουσία φωτός και σκόνης. Σε κάθε βήμα, για την αποφυγή μόλυνσης των αντιδραστηρίων από νουκλεάσες, χρησιμοποιούνται εργαστηριακά γάντια χωρίς πούδρα και πιπέτες με tips με φίλτρο. Το εργαστηριακό πρωτόκολλο που ακολουθείται, βασίζεται στην τεχνολογία a-CGH Agilent Oligo και έχει ιδιαίτερα υψηλό κόστος υλοποίησης.

Ακολουθεί σύντομη περιγραφή του πρωτοκόλλου Agilent Oligo-aCGH (σχήμα 1).



Χρησιμοποιήθηκαν υψηλής ανάλυσης 4X180K και 1X244K συστοιχίες της Agilent Technologies με >170,000 και >236,000 60-μερή ολιγονουκλεοτιδικά probes και μέσω επίπεδο ευκρίνειας 7-13 Mb αντίστοιχα^{111, 112}.

3.2.2 ΣΥΝΤΟΜΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

(Πρωτόκολλο Agilent Oligonucleotide Array-Based CGH for Genomic DNA Analysis)

ΒΗΜΑ 1^ο : ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΓΕΝΩΜΙΚΟΥ DNA ΑΠΟ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Αρχικά γίνεται απομόνωση λευκοκυττάρων από ολικό περιφερικό αίμα και εκχύλιση γενωμικού DNA με το πλήρως αυτοματοποιημένο ρομποτικό σύστημα απομόνωσης με χρήση τεχνολογίας μαγνητικών σφαιριδίων (QIAGEN BioROBOT M48, QIAGEN, HILDEN, GERMANY). Απαιτεί αρχική ποσότητα δείγματος 350 μl και αποδίδει 4.8-11.2 μg DNA. Τα δείγματα περιφερικού αίματος των ασθενών και κατά περίπτωση των γονέων τους, συλλέχθηκαν σε φιαλίδια γενικής αίματος που περιέχουν αντιπηκτικό EDTA (αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ) (EDTA Vacutainer)

Το αυτοματοποιημένο αυτό σύστημα έχει δυνατότητες απομόνωσης/εκχύλισης γενετικού υλικού από οποιοδήποτε βιολογικό υλικό.

Πρωτόκολλο

1. Τα δείγματα αίματος (350 ή 700 μl) τοποθετούνται σε σωληνάρια δειγμάτων χωρητικότητας 2ml
2. Τίθεται σε λειτουργία το μηχάνημα, φορτώνεται το QIAsoft M Operating System for BioRobot M48 και στη συνέχεια επιλέγεται η ομάδα πρωτοκόλλων “Genotyping” και κατόπιν “gDNA”.
3. Ακολούθως υπάρχει επιλογή στο λογισμικό για προσθήκη πληροφοριών σχετικά με τον αριθμό των δειγμάτων, τον όγκο του κάθε δείγματος και τους εξαγόμενους όγκους (elution volumes) στο τέλος της διαδικασίας.
4. Τοποθετούνται τα δείγματα και οι κλωβοί των αντιδραστηρίων στο σύστημα σύμφωνα με τις οδηγίες του λογισμικού.
5. Ακολουθεί η έναρξη του αυτοματοποιημένου πρωτοκόλλου απομόνωσης DNA από το μηχάνημα.
6. Με την ένδειξη τέλους από το σύστημα, ανακτώνται τα elution tubes με το απομονωθέν DNA το οποίο είναι έτοιμο να χρησιμοποιηθεί ή να φυλαχθεί στους

4° C, ενώ στους -80° C φυλάσσονται τα λευκοκύτταρα από κάθε δείγμα για ενδεχόμενη μελλοντική χρήση.

ΒΗΜΑ 2^ο : ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΟΥ DNA

Ακολουθεί έλεγχος της καθαρότητας και μέτρησης της συγκέντρωσης DNA με τη χρήση του σπεκτροφωτόμετρου Nano Drop ND-1000 UV-Vis. Μετρούνται οι λόγοι A260/280 και A260/230. Το υψηλής καθαρότητας DNA έχει τιμές λόγου A260/A280 1.8 έως 2.0, δείχνοντας απουσία εξωγενών πρωτεϊνών, ενώ τιμή μεγαλύτερη από 2.0 για το λόγο A260/A230 είναι αποδεκτή για το καθαρό γενωμικό DNA, δείχνοντας την απουσία οργανικών ενώσεων, όπως η φαινόλη και η αλκοόλη, όπως επίσης και κυτταρικά συστατικά όπως οι υδρογονάνθρακες που απορροφούν ισχυρά στα A230. Εναλλακτικά η ακεραιότητα του DNA μπορεί να ελεγχθεί Επίσης, με ηλεκτροφόρηση αυτού σε πήκτωμα αγαρόζης. Η ποιότητα του αρχικού γενωμικού DNA είναι το πιο σημαντικό βήμα στην όλη διαδικασία γιατί από αυτό εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό η ακρίβεια του αποτελέσματος της μεθόδου.

ΒΗΜΑ 3^ο : Α. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ-ΠΕΨΗ ΙΣΟΜΟΡΙΑΚΩΝ ΠΟΣΟΤΗΤΩΝ ΓΕΝΩΜΙΚΟΥ DNA ΑΠΟ ΤΟΝ ΑΣΘΕΝΗ ΚΑΙ ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΜΕ ΤΑ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΖΥΜΑ ALU1 ΚΑΙ RsaI.

Ακολουθεί πέψη του γενωμικού DNA (gDNA), όπου απαιτούνται ισομοριακές ποσότητες DNA από το εξεταζόμενο δείγμα του ασθενούς και το δείγμα αναφοράς. Χρησιμοποιούνται DNA αναφοράς από την Promega p/n G1521 (θήλυ) ή p/n G1471 (άρρεν).

Σε κάθε είδος μικροσυστοιχίας απαιτείται διαφορετική ποσότητα και όγκος προστιθέμενου αρχικού gDNA. Γενικά η ελάχιστη ποσότητα γενωμικού DNA είναι 0.5μg (για 1x, 2x ή 4x μικροσυστοιχίες), αλλά ακόμα και ποσότητα μεγαλύτερη ή ίση από 300ng είναι αποδεκτή. Εν συνεχεία, για κάθε αντίδραση πέψης, προστίθεται σε αποστειρωμένο strip η απαιτούμενη ποσότητα του γενωμικού DNA και η απαιτούμενη ποσότητα νερού χωρίς νουκλεάσες ανάλογα με τον τύπο της

μικροσυστοιχίας. Συνολικός όγκος δείγματος με νερό ελεύθερο νουκλεασών για μικροσυστοιχίες τύπου 1x, 2x και 4x είναι τα 20.2 μ L

Ακολούθως, το κάθε μείγμα αναμιγνύεται με τα συστατικά του μίγματος της αντίδρασης πέψης (Digestion Master Mix): 10x buffer C, ακετυλιωμένη BSA, τα περιοριστικά ένζυμα Alu I (Promega p/n R6281) και RSA I (Promega p/n V6231). Τελικός όγκος του μίγματος πέψης ανά αντίδραση: 5.8 μ L

Τελικά, προστίθενται τα 5.8 μ l του μίγματος πέψης σε καθένα από τα σωληνάρια, που περιέχει το γενωμικό DNA με το νερό ελεύθερο νουκλεασών (20.2 μ L) και ο τελικός όγκος του δείγματος αγγίζει τα 26 μ l. Ακολουθεί ήπια ανάδευση για ομογενοποίηση του δείγματος. Έπειτα τα σωληνάρια με τα δείγματα μεταφέρονται σε θέση θερμοκυκλοποιητή (PCR block) στους 37 $^{\circ}$ C για 2 ώρες και στους 65 $^{\circ}$ C για 20 λεπτά, προκειμένου να απενεργοποιηθούν τα ένζυμα. Στη συνέχεια μεταφέρονται στους -20 $^{\circ}$ C μέχρι την επόμενη μέρα, που πραγματοποιείται η διαδικασία φθορίζουσας σήμανσης. Στους -20 $^{\circ}$ C μπορούν να παραμείνουν τα δείγματα μέχρι και ένα μήνα.

ΒΗΜΑ 4^ο: ΣΗΜΑΝΣΗ ΤΩΝ DNA ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΜΕ ΦΘΟΡΙΖΟΥΣΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΟΠΩΣ ΟΙ ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ CYANINE 3-DUTR ΚΑΙ Η CYANINE 5-DUTR

Η διαδικασία της φθορίζουσας σήμανσης των DNA δειγμάτων πραγματοποιείται με το Agilent Genomic DNA Labeling Kit PLUS (Agilent p/n 5188-5309), όπου χρησιμοποιούνται οι φθορίζουσες χρωστικές Cyanine 3-dUTP και cyanine 5-dUTP. Το δείγμα εξέτασης σημαίνεται με Cy-5 μπλε χρωστική, ενώ το δείγμα αναφοράς με Cy-3 κόκκινη χρωστική. Κατά την διαδικασία της σήμανσης είναι απαραίτητη η ελαχιστοποίηση της έκθεσης των δειγμάτων στο φως. Εν συνεχεία, προστίθεται η συνιστώμενη ποσότητα τυχαίων εκκινήτων σε κάθε σωληνάριο των 1.5ml που περιέχει το γενωμικό DNA. Ακολουθεί καλή ανάδευση. Τα αποστειρωμένα σωληνάρια μεταφέρονται στους 95 $^{\circ}$ C για 3 λεπτά στο PCR block και μετά 5 λεπτά στον πάγο. Έπειτα προστίθεται το μίγμα σήμανσης (Labeling Master Mix) αφού αναδευθεί για να ομογενοποιηθεί καλά. Το μίγμα σήμανσης περιλαμβάνει νερό

χωρίς νουκλεάση, 5X buffer, 10x dNTPs, τη χρωστική και το θραύσμα της εξωνουκλεάσης Klenow σε κάθε ένα από τα σωληνάρια.

Φτιάχνουμε δύο τέτοια μίγματα, ένα για την κόκκινη χρωστική και ένα για την μπλέ χρωστική. Εν συνεχεία, προστίθενται 21μl μίγματος σήμανσης σε κάθε σωληνάριο που περιέχει gDNA. Ο τελικός όγκος πρέπει να είναι 50μl. Κατόπιν, τα δείγματα σκεπασμένα με αλουμινόχαρτα για την προστασία από το φως και μεταφέρονται στους 37° C για 2 ώρες και στους 65° C για 10 λεπτά. Ακολουθούν οι πλύσεις του σημασμένου γενωμικού DNA σε στήλες με φίλτρο. Τέλος, αναμειγνύουμε το κάθε σημασμένο δείγμα γενωμικού DNA με το σημασμένο δείγμα αναφοράς σε ένα 1.5 mL σωληνάριο ανθεκτικό στη θερμοκρασία, με τελικό όγκο 158 μL.

Για τις μικροσυστοιχίες 4X ακολουθείται η ίδια διαδικασία με τελικό όγκο όμως μικρότερο ίσο του 39 μL. Το σημασμένο DNA μπορεί να αποθηκευτεί στους -20° C για 1 μήνα απουσία φωτός, πριν πραγματοποιηθεί το επόμενο στάδιο της υβριδοποίησης.

ΒΗΜΑ 5^ο: ΥΒΡΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΣΗΜΑΣΜΕΝΟΥ ΓΕΝΩΜΙΚΟΥ DNA ΜΕ ΤΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΩΝ ΓΙΑ 40 ΩΡΕΣ, ΣΕ ΚΛΙΒΑΝΟ ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΥ, ΣΤΟΥΣ 65° C ΚΑΙ ΣΕ 20 RPM.

Στη παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκαν 1x244K και 4x180K πλατφόρμες (SurtPrint G3 arrays) (Εικ. 8). Οι 1x244K μικροσυστοιχίες αποτελούνται από > 236,000 60-μερή ολιγονουκλεοτιδικά probes (ανιχνευτές) ενώ οι 4x180K πλατφόρμες αποτελούνται από > 170,000 ανιχνευτές που καλύπτουν ολόκληρο το γονιδίωμα με έμφαση σε γνωστά γονίδια, υποκινητές, miRNAs, ψευδοαυτοσωμικές και τελομερικές περιοχές. Οι μικροσυστοιχίες 1x244K έχουν μέση ανάλυση 7.9-8.9 kb, ενώ οι συστοιχίες 4x180K έχουν μέση ανάλυση 13-25 kb. Και οι δύο τύποι μικροσυστοιχιών σχολιάστηκαν σύμφωνα με το National Center for Biotechnology Information build 36, hg18, ενώ κάποια δείγματα τα οποία υβριδοποιήθηκαν σε συστοιχίες τύπου 4x180K σχολιάστηκαν σύμφωνα με το National Center for Biotechnology Information build 37, hg19.



Εικόνα 8. Μικροσυστοιχίες

Στο στάδιο της υβριδοποίησης αρχικά προετοιμάζεται το μίγμα υβριδοποίησης από το Agilent Oligo aCGH Hybridization Kit (Agilent p/n 5188-5380 (100)), το οποίο περιλαμβάνει τα συστατικά Cot-1 DNA, 10x blocking Agent και 2x Hybridization buffer. Κάθε συστατικό πριν την χρήση αναδεύεται καλά, φυγοκεντρείται και προστίθεται ξεχωριστά στο σημασμένο DNA. Τα σωληνάρια με τα δείγματα επωάζονται σε θερμαινόμενα blocks στους 95° C για 3 λεπτά και στους 37° C για 30 λεπτά. Έπειτα, το σημασμένο αναμιγμένο γενωμικό DNA υβριδίζεται με το περιεχόμενο των μικροσυστοιχιών.

ΒΗΜΑ 6^ο: ΠΛΥΣΙΜΟ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΩΝ ΓΙΑ ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΤΟΥ ΜΗ ΥΒΡΙΔΟΠΟΙΗΜΕΝΟΥ ΥΛΙΚΟΥ.

Αφού ολοκληρωθεί ο υβριδισμός, ακολουθούν πλύσεις για την απομάκρυνση του μη υβριδοποιημένου υλικού σε συνθήκες χαμηλού φωτισμού με σκοπό την ελάχιστη απώλεια φθορισμού. Το ξέπλυμα των γυάλινων επιφανειών των μικροσυστοιχειών γίνεται με τα Oligo ρυθμιστικά διαλύματα I και II. Η όλη διαδικασία πραγματοποιείται κάτω από συνθήκες σχετικού σκότους μέσα σε απαγωγό με εξαερισμό

ΒΗΜΑ 7. ΣΑΡΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΥ ΛΟΓΙΣΜΙΚΟΥ (AGILENT CGH-ARRAYS SCANNER CONTROL SOFTWARE).

Αφού ελεγχθεί ότι τα slides είναι πλήρως στεγνά, σαρώνονται σε ένα μηχάνημα που λέγεται 'microarray scanner'. Η σάρωση γίνεται αμέσως μετά τις πλύσεις και το στέγνωμα έτσι ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι αρνητικές περιβαλλοντικές επιδράσεις στην ένταση του φθορίζοντος σήματος. Η σάρωση γίνεται με το λογισμικό Agilent Scanner Control Software v7.0, υψηλής υπολογιστικής δύναμης.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Αρχικά, τα δεδομένα των εικόνων μετατρέπονται σε αρχεία κειμένου με τη χρήση του λογισμικού Feature Extraction Agilent Technologies. Τα λογισμικά CGH Analytics v.3.5 (Εικ.9) και/ή Agilent Genomic Workbench 6.5 (Santa Clara, CA), υπολογίζουν το λόγο των δύο χρωστικών για να καθορίσουν εάν για το συγκεκριμένο τμήμα του DNA που αντιπροσωπεύει ο ανιχνευτής (probe), ο ασθενής έχει το σωστό ή μη, ποσό DNA. Στην εικόνα 10, ο ασθενής έχει πάρα πολύ DNA για τη συγκεκριμένη χρωμοσωμική περιοχή (ύπαρξη διπλασιασμού- πολύ κόκκινο χρώμα), ενώ στην εικόνα 11, ο ασθενής έχει πολύ λίγο DNA στο συγκεκριμένο τμήμα του βραχέως σκέλους του χρωμοσώματος 6 (ύπαρξη ελλείμματος-πολύ λίγο χρώμα).

Για την αποδοχή και καταγραφή μιας γενετικής ανωμαλίας, ο αριθμός των ανιχνευτών που πρέπει να περιλαμβάνονται στην περιοχή της έλλειψης ή του διπλασιασμού είναι ≥ 4 διαδοχικά ολιγονουκλεοτίδια. Πριν όμως από την οριστική αποδοχή μιας γενετικής ανωμαλίας, θα πρέπει να είμαστε σίγουροι ότι από τεχνικής πλευράς δεν έχει γίνει κάποιο λάθος (χαμηλής ποιότητας DNA, θόρυβος κ.α) και συνεπώς η γενετική αυτή παραλλαγή είναι πραγματική.

Από τη στιγμή που η ύπαρξη μιας ή περισσότερων υπομικροσκοπικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών είναι βέβαιη και έχει καθοριστεί, μια σειρά από ερωτήματα πρέπει να απαντηθούν προκειμένου να βγάλουμε ασφαλή συμπεράσματα για τον αντίκτυπο που έχουν οι παραλλαγές αυτές στο φαινότυπο του ασθενούς. Τα ερωτήματα αυτά είναι:

Ερώτημα 1. Έχουν παρατηρηθεί οι συγκεκριμένες γενετικές παραλλαγές σε φυσιολογικούς ασθενείς? Χαρακτηρίζονται ως CNPs, CNVs ή CNVs με μειωμένη διεισδυτικότητα ή/και ποικίλη εκφραστικότητα (reduced penetrance and/or variable expressivity)?

Ερώτημα 2. Έχουμε εμείς συναντήσει την γενετική αυτή ανωμαλία σε προηγούμενη περίπτωση ασθενούς? Ήταν παρόμοιος ο φαινότυπος?

Ερώτημα 3. Έχουν καταγραφεί ή έχουν αναφερθεί στη διεθνή βιβλιογραφία ασθενείς με παρόμοιο φαινότυπο και CNVs με παρόμοια όρια? Αποτελεί η γενετική αυτή ανωμαλία γνωστό σύνδρομο?

Ερώτημα 4. Η υποδοσολογία ή η υπερδοσολογία των γονιδίων που βρίσκονται στην περιοχή των CNVs, μπορούν να συσχετιστούν με το φαινότυπο του ασθενούς και συγκεκριμένα με τη μικροκεφαλία?

Για να πραγματοποιηθεί η παραπάνω διαδικασία επεξεργασίας και ερμηνείας των αποτελεσμάτων, απαιτείται η συλλογή πληροφοριών και η σύγκριση των γονοτυπικών και φαινοτυπικών χαρακτηριστικών του εκάστοτε ασθενούς με παρόμοιες περιπτώσεις που έχουν ήδη καταγραφεί σε συγκεκριμένες βάσεις δεδομένων ή έχουν δημοσιευτεί σε επιστημονικά περιοδικά.

Στην απάντηση του πρώτου ερωτήματος, ιδιαίτερα χρήσιμο εργαλείο αποτελεί η βάση δεδομένων: database of genomic variants (<http://projects.tcag.ca/variations>), η οποία δίνει πληροφορίες για τη συνεισφορά των γενετικών παραλλαγών στο φαινότυπο του ασθενούς. Είναι χρήσιμη για την ανεύρεση φυσιολογικών ασθενών με την εκάστοτε υπό εξέταση γενετική παραλλαγή. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν ασθενείς που φέρουν παρόμοιο συγκεκριμένο διπλασιασμό στη περιοχή Chr22.31 και μπορεί να συσχετίζονται με φυσιολογικό ή παθολογικό φαινότυπο.

Για να απαντήσουμε στο δεύτερο ερώτημα, απαραίτητη είναι η αναδρομή στα προσωπικά μας αρχεία όπου έχουν καταγραφεί τα κλινικά και μοριακά ευρήματα των ασθενών μας. Προσπάθεια εύρεσης ασθενών με παρόμοια φαινοτυπικά και γονοτυπικά γνωρίσματα.

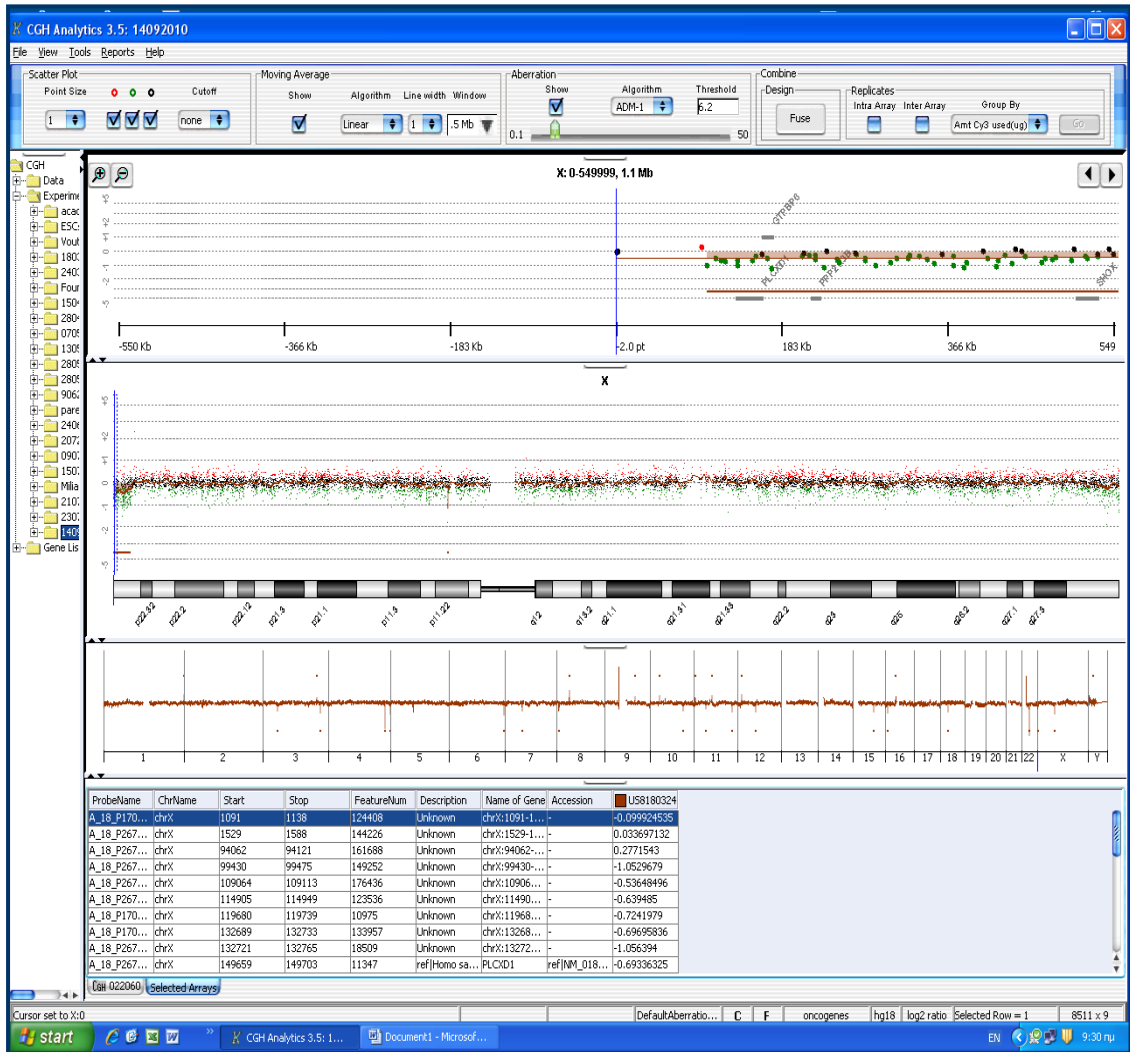
Για την απάντηση του τρίτου ερωτήματος βασιστήκαμε στις βάσεις δεδομένων

- DECIPHER (<http://www.sanger.ac.uk/PostGenomics/decipher/>). Στη βάση αυτή βρίσκουμε ένα σημαντικό αριθμό καταγεγραμμένων περιπτώσεων αλλά και πληροφορίες για υπομικροσκοπικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες που πλέον χαρακτηρίζονται ως νέα σύνδρομα μικροελλείμματος ή μικροδιπλασιασμού (Εικ.12).
- International Standards for Cytogenomic Arrays (ISCA database) (<https://www.clinicalgenome.org>). Η πρόσβαση γίνεται μέσω του National Center for Biotechnology information (NCBI) και συγκεκριμένα των dbGap και dpVar (βάσεις δεδομένων).

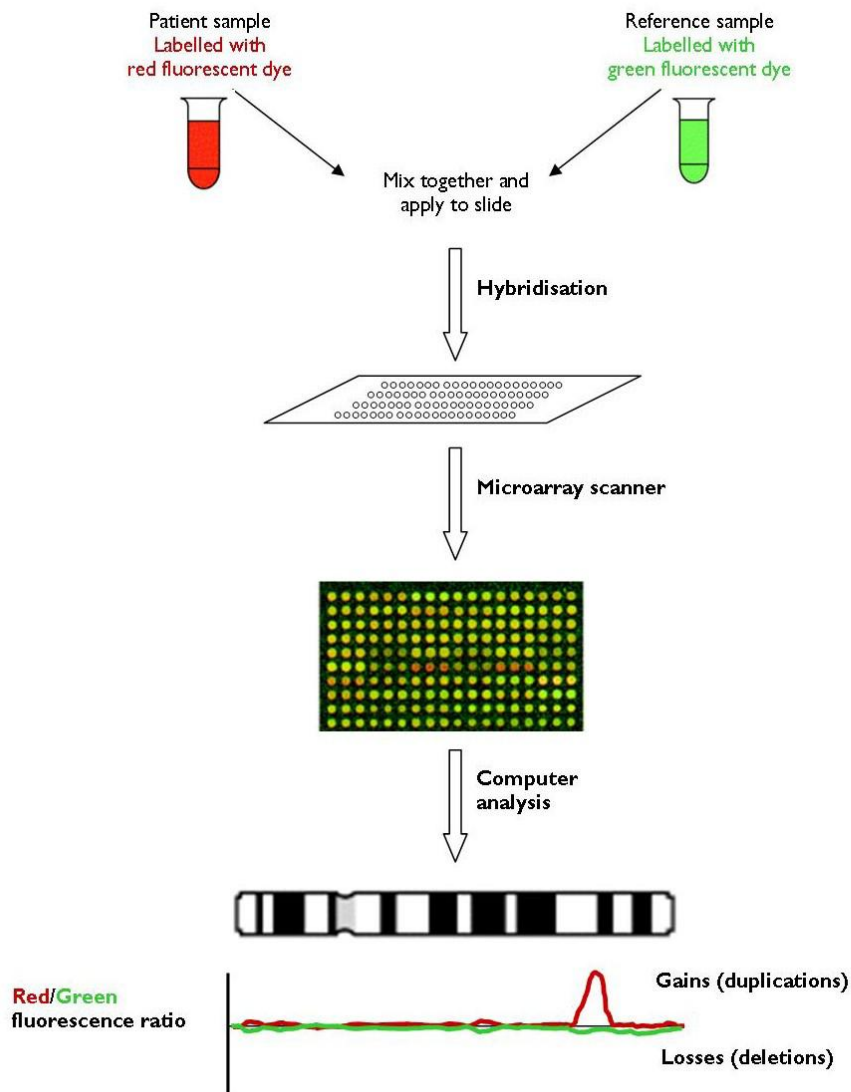
Όσον αφορά την εύρεση δημοσιευμένων περιπτώσεων, η πρόσβαση στα επιστημονικά περιοδικά γίνεται μέσω του Pubmed (NCBI).

Τέλος, αφού διαπιστωθεί εάν η υποκείμενη γενετική ανωμαλία έχει ή δεν έχει συσχετιστεί με φαινότυπο παρόμοιο με αυτόν του ασθενούς, γίνεται προσπάθεια ανεύρεσης γονιδίων που πιθανόν συμβάλλουν στο φαινότυπο του ασθενούς (ερώτημα 4). Στην περίπτωση που οι καταγεγραμμένες και δημοσιευμένες περιπτώσεις είναι αρκετές, αρχικά γίνεται προσπάθεια εύρεσης κοινής επικαλυπτόμενης περιοχής (critical overlapping region), η οποία και χαρακτηρίζεται ως πιθανώς κριτική για τον φαινότυπο τον οποίο διερευνείται. Στη συνέχεια γίνεται προσπάθεια εύρεσης γονιδίων, η δυσλειτουργία των οποίων (λόγω μερικής έλλειψης ή διπλασιασμού), μπορεί να ευθύνεται για το συγκεκριμένο φαινότυπο. Πληροφορίες για τον αριθμό και τη λειτουργία των γονιδίων που περιλαμβάνονται στα CNVs, λαμβάνουμε από τη βάση δεδομένων UCSC (<https://genome.ucsc.edu>) (Εικ.13), Gene και OMIM του NCBI. Απαραίτητη είναι και η πρόσβαση στη βιβλιογραφία μέσω του PubMed.

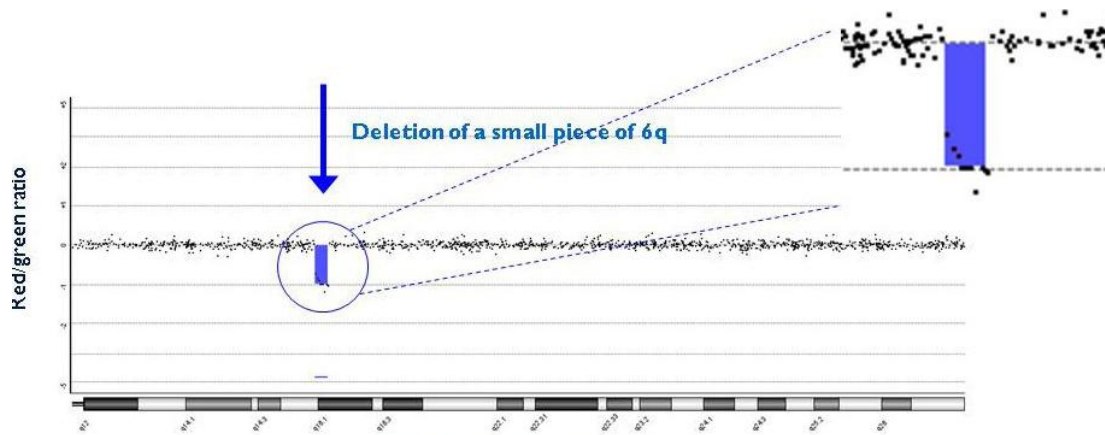
Στην περίπτωση που η ευρεθείσα γενετική παραλλαγή είναι πολύ σπάνια ή δεν έχει συσχετιστεί ακόμα με συγκεκριμένο φαινότυπο, πάλι μπορούμε να ελέγξουμε την τυχόν ύπαρξη γονιδίων, η υπερέκφραση ή υποέκφραση των οποίων μπορεί να συμβάλει, σε κάποιον τουλάχιστον βαθμό, στο φαινότυπο του ασθενούς.



Εικόνα 9: CGH Analytics



Εικόνα 10: Στην εικόνα αυτή φαίνεται το δείγμα του ασθενούς, το οποίο σημαίνεται με κόκκινο χρώμα και το δείγμα αναφοράς, το οποίο σημαίνεται με πράσινο χρώμα. Τα δύο δείγματα αναμειγνύονται και εφαρμόζονται στο slide προς υβριδοποίηση. Στη συνέχεια τα υβριδοποιημένα δείγματα σαρώνονται από το microarray scanner και σε συνδυασμό με το λογισμικό CGH Analytics, υπολογίζεται ο λόγος των δύο χρωστικών για να καθοριστεί εάν για τα συγκεκριμένα τμήματα του DNA που αντιπροσωπεύει το κάθε probe, ο ασθενής έχει το “σωστό” ποσό DNA (κίτρινο χρώμα) ή πάρα πολύ DNA (ύπαρξη διπλασιασμού- πολύ κόκκινο χρώμα) ή πολύ λίγο DNA (ύπαρξη ελλείμματος-πολύ πράσινο χρώμα). Ο συγκεκριμένος ασθενής φαίνεται ότι είναι φορέας διπλασιασμού (rarechromo.gr: Microarray-based comparative genomic hybridization).



Εικόνα 11: Στην εικόνα φαίνεται χαρακτηριστικά η ύπαρξη ελλείμματος στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 6 (rarechromo.gr: Microarray-based comparative genomic hybridization).

DECIPHER v8.9

Search results for 'band:4p16.3' (Refine Search)

Consented patients 175 Syndromes 2 DDD Research Variants 8

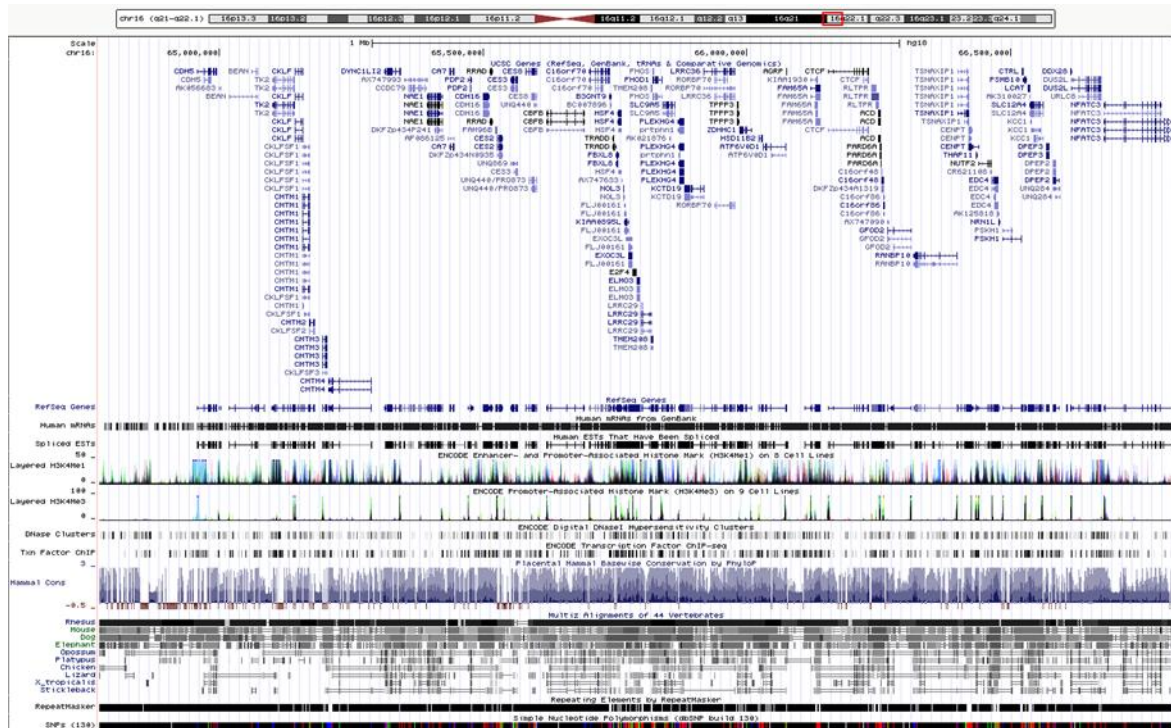
Results Browser

Search results: 1 to 50 of 177

Show: All SNVs CNV Gains CNV Losses

Decipher ID	Variant	Sex	Interval (Mb)	Phenotypes	Patient Variants	Contact
610	loss 4:65628-8262577	46XX	8.20	Intellectual disability, Microcephaly, Pectus excavatum, Seizures, Short stature	2	
1098	loss 4:1846234-8151890	46XX	6.31	Hypertelorism, Prenatal short stature	1	
1617	loss 4:3675290-3755856	46XX	0.08	Clinodactyly of the 5th finger, Delayed speech and language development, Fine hair, High anterior hairline, Microcephaly, Prominent ears, Tapered finger	114	

Εικόνα 12. Βάση δεδομένων DECIPHER. Για τη χρωμοσωμική περιοχή 4p16.3, εμφανίζονται 177 καταγεγραμμένες περιπτώσεις και 2 σύνδρομα.



Εικόνα.13.Βάση δεδομένων UCSC (<https://genome.ucsc.edu>), όπου φαίνονται όλα τα γονίδια που συμπεριλαμβάνονται σε μία συγκεκριμένη χρωμοσωμική περιοχή

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΑΣΘΕΝΩΝ

Από τους 203 ασθενείς με μικροκεφαλία που προσήλθαν και εξετάστηκαν στο ιατρείο της Κλινική Γενετικής του Χωρεμείου Ερευνητικού Εργαστηρίου, 120 ολοκλήρωσαν τον απαραίτητο κλινικοεργαστηριακό έλεγχο. Σε 2 από τους ασθενείς με κλινική διάγνωση συνδρόμου Cornelia de Lange, στους ασθενείς με σύνδρομο DeBary και σύνδρομο Aicardi και τέλος στον ασθενή με σύνδρομο ATRX, εφαρμόστηκε και η μέθοδος array-CGH η οποία και απέβη αρνητική. Για το λόγο αυτό οι ασθενείς αυτοί αναφέρονται στην κατηγορία Α ή Β και στην κατηγορία Δ και φέρουν δύο νούμερα που είναι εμφανώς διακριτά.

Σημείωση: Στη παρούσα διατριβή επισυνάπτονται φωτογραφίες ασθενών μετά από συναίνεση των γονέων.

Η ταξινόμηση των ασθενών έχει ως εξής:

A. Ασθενείς με κλινική διάγνωση γνωστού συνδρόμου (που πληρούν τα κλινικά κριτήρια διάγνωσης του εκάστοτε συνδρόμου): **Σύνολο ασθενών: 15**

Αναλυτικά

Σύνδρομο Dubowitz	4 ασθενείς (A1-4)
Σύνδρομο Cornelia de Lange	6 ασθενείς (A5-10)
Σύνδρομο Cerebro-Oculo-Facio-Skeletal (COFS syndrome)	2 ασθενείς (A11-12)
Σύνδρομο Aicardi	1 ασθενής (A13)
Σύνδρομο Fetal Akinesia Syndrome	1 ασθενής (A14)
Σύνδρομο De Bary	1 ασθενής (A15)

Οι ασθενείς με κλινική διάγνωση συνδρόμου Dubowitz, Cornelia de Lange και COFS παρουσιάζουν φαινοτυπικά χαρακτηριστικά συμβατά με τα ανωτέρω σύνδρομα (περιγραφή συνδρόμων στο γενικό μέρος). Στους ασθενείς A9 (Εικ.14 α,β) και A10 με σύνδρομο Cornelia de Lange, έγιναν και array-CGH τα οποία δεν ανέδειξαν παθολογικά ευρήματα. Και στους δύο αυτούς ασθενείς, δείγμα γενετικού υλικού εξετάστηκε σε εργαστήριο του εξωτερικού για πιθανή ύπαρξη μετάλλαξης στο γονίδιο NIBPL. Μεταλλάξεις στο γονίδιο NIBPL έχει βρεθεί ότι ευθύνονται για το σύνδρομο Cornelia de Lange. Ο έλεγχος ήταν αρνητικός, αποτέλεσμα που δεν αποκλείει όμως τη διάγνωση του συνδρόμου.

Στην εικόνα 15 φαίνονται οι δύο ασθενείς με σύνδρομο COFS, ενώ στην εικόνα 16 φαίνονται τρεις από τους ασθενείς με σύνδρομο Dubowitz.



Εικ.14 α, β. Ασθενής A9 με σύνδρομο Cornelia de Lange



Εικ.15. Ασθενείς A11, A12 με σύνδρομο COFS



Εικ.16 Ασθενείς A1, A2, A4 με σύνδρομο Dubowitz

Ο ασθενής A13 (Δ50) παρουσιάζει τη χαρακτηριστική τριάδα του συνδρόμου Aicardi (OMIM%304050) η οποία περιλαμβάνει μερική ή πλήρη έλλειψη μεσολοβίου, χοριοαμφιβληστροειδοπάθεια και βρεφικούς σπασμούς οι οποίοι εμφανίζονται περίπου στην ηλικία των 3 μηνών. Ο ασθενής εμφανίζει επίσης και κάποια από τα επιπρόσθετα γνωρίσματα του συνδρόμου Aicardi, όπως μικροκεφαλία, σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ και σπαστικότητα άνω και κάτω άκρων. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μέθοδος array-CGH δεν ανέδειξε παθολογικά ευρήματα. Όσον αφορά τη κληρονομικότητα του συνδρόμου Aicardi, οι συγγραφείς έχουν προτείνει ως πιθανότερο τρόπο κληρονομικότητας το φυλοσύνδετο, βασιζόμενοι στο γεγονός ότι το σύνδρομο εμφανίζεται μόνο σε θήλεα άτομα και σε άρρενα με σύνδρομο Klinefelter (46, XXY)⁶⁷.

Ο ασθενής A15 (Δ58) με κλινική διάγνωση συνδρόμου DeBary, αποτελεί ενδιαφέρουσα περίπτωση και περιγράφεται στις ενδιαφέρουσες περιπτώσεις όπου έχει εφαρμοστεί η μέθοδος array-CGH και δεν έχουν αναδειχτεί παθολογικά ευρήματα (σελ.141).

B. Ασθενείς με κλινική διάγνωση γνωστού συνδρόμου και επιβεβαίωση αυτού με μοριακή ανάλυση DNA ή έλεγχο χρωμοσωμάτων. Σύνολο ασθενών: 22

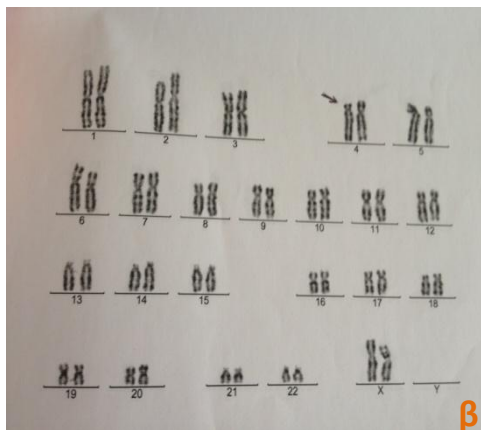
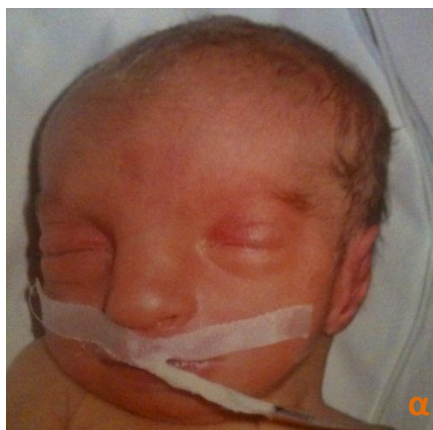
Αναλυτικά

Σύνδρομο Rett	10 ασθενείς (B1-10)
Σύνδρομο Angelman	3 ασθενείς (B11-13)
Σύνδρομο Charge	2 ασθενείς (B14-15)
Σύνδρομο Miller-Dieker	1 ασθενής (B16)
Σύνδρομο Di-George	1 ασθενείς (B17)
Σύνδρομο Smith-Lemli-Opitz	1 ασθενής (B18)
Φυλοσύνδετη α-θαλασσαιμία/νοητική υστέρηση (α-thalassemia/Mental Retardation X-linked) (ATRX)	1 ασθενής (B19)
Σύνδρομο Prader-Willi	1 ασθενής (B20)
Σύνδρομο Wolf Hirschhorn	1 ασθενής (B21)
Σύνδρομο Cri du Chat	1 ασθενής (B22)

Στους παραπάνω ασθενείς, ο χαρακτηριστικός φαινότυπος οδήγησε στον στοχευμένο εργαστηριακό έλεγχο ο οποίος και έδωσε την οριστική διάγνωση. Στην εικόνα 17 α και β φαίνονται οι ασθενείς B14 και B17 με σύνδρομο Charge και σύνδρομο DiGeorge αντίστοιχα, ενώ στην εικόνα 18 φαίνεται ο ασθενής B21 με κλασική εικόνα συνδρόμου Wolf Hirschhorn και έλλειμμα στη περιοχή 4p15→pter.



Εικόνα 17 α) Ασθενής B14 (σύνδρομο Charge) β) Ασθενής B17 (σύνδρομο DiGeorge)



Εικόνα 18 α) Ασθενής B21, β) Καρυότυπος ασθενούς όπου φαίνεται το έλλειμμα στη περιοχή 4p15 →pter

Θα περιγραφούν σαν ενδιαφέρουσες περιπτώσεις οι ασθενείς B19 και B20 με σύνδρομο φυλοσύνδετης α-θαλασσαιμίας/νοητικής υστέρησης και μικροκεφαλικό Prader Willi αντίστοιχα.

Ο ασθενής B19 (Δ60) που πάσχει από σύνδρομο φυλοσύνδετης α-θαλασσαιμίας/νοητικής υστέρησης, θα περιγραφεί στις ενδιαφέρουσες περιπτώσεις όπου έχει εφαρμοστεί η μέθοδος array-CGH και δεν έχουν αναδειχτεί παθολογικά ευρήματα (σελ.142)

Όσον αφορά το σύνδρομο Prader Willi, (Ασθενής B20), το σύνδρομο αυτό κατά βάση δεν χαρακτηρίζεται από μικροκεφαλία. Όμως οι Hou JW et al., 1996⁶⁹ υποστήριξαν ότι ασθενείς με σύνδρομο Prader Willi των οποίων τα ελλείμματα εκτείνονται και εκτός της κρίσιμης περιοχής για το σύνδρομο (15q11-13 critical region), παρουσιάζουν επιπρόσθετα κλινικά χαρακτηριστικά, κατατάσσοντας το

σύνδρομο στην κατηγορία των συνδρόμων του οποίου ο φαινότυπος βρίσκεται σε άμεση εξάρτηση από τον αριθμό των γονιδίων που απλοανεπαρκούν (contiguous gene syndrome). Ένα από αυτά τα επιπρόσθετα φαινοτυπικά γνωρίσματα είναι και η μικροκεφαλία. Πρόσφατα, με την ανάπτυξη των μοριακών μεθόδων (array-CGH), αναγνωρίστηκαν και περιγράφηκαν αναλυτικά ελλείμματα τα οποία βρίσκονται μεταξύ των περιοχών BP3 και BP5 στη χρωμοσωμική περιοχή 15q13, άνω της 15q11-13 κριτικής περιοχής για το σύνδρομο Prader Willi. Η μικροκεφαλία είναι ένα από τα κλινικά γνωρίσματα που απαντάται σε διαφορετικό ποσοστό σε ελλείμματα μεταξύ των περιοχών BP3 και BP4, BP3 και BP5 και τέλος μεταξύ BP4 και BP5⁶⁹. Στη μοριακή ανάλυση του DNA που έγινε για να ελεγχθεί η ύπαρξη ή μη συνδρόμου Prader Willi στον ασθενή, παρατηρήθηκαν δύο αλληλόμορφα μητρικής μόνο προέλευσης. Το εύρημα αυτό είναι συμβατό με μονογονεϊκή δισωμία. Η ίδια περιοχή του χρωμοσώματος 15 ελέγχθηκε και με την τεχνική για τη μελέτη του προτύπου μεθυλίωσης και αποκάλυψε μη φυσιολογικό πρότυπο μεθυλίωσης. Αυτό το εύρημα παρατηρείται επίσης στους πάσχοντες εκ συνδρόμου Prader-Willi.

Γ. Όλοι οι ασθενείς που κλινικά δεν μπορούν να ταξινομηθούν σε κάποιο γνωστό σύνδρομο, αλλά αναγνωρίζεται χρωμοσωμική ανωμαλία βάση του κλασσικού καρυοτύπου. **Σύνολο ασθενών: 6**

Αναλυτικά

Άνω τρισωμία 4p με συνοδό έλλειμμα στο 13p λόγω ύπαρξη παραγώγου χρωμοσώματος: 46XY der(13) t(13;4)(p11;p14)	1 ασθενής (Γ1)
Άνω τρισωμία 4p με συνοδό έλλειμμα στο 22q13.3 (Phelan McDermid syndrome) λόγω ύπαρξης παραγώγου χρωμοσώματος: 46XY der(22) t(4;22)(p15.3;q13.3)	1 ασθενής (Γ2)
Έλλειμμα στο 8p (Ο 1 ^{ος} ασθενής εμφανίζει έλλειμμα στη περιοχή 8p21.1→pter και ο 2 ^{ος} ασθενής εμφανίζει μικρότερο έλλειμμα εντοπισμένο στην περιοχή 8p23.1-23.2 το οποίο έχει χαρακτηριστεί και ως σύνδρομο→8p23	2 ασθενείς (Γ3,Γ4) Γ3: del 8p21.1→pter

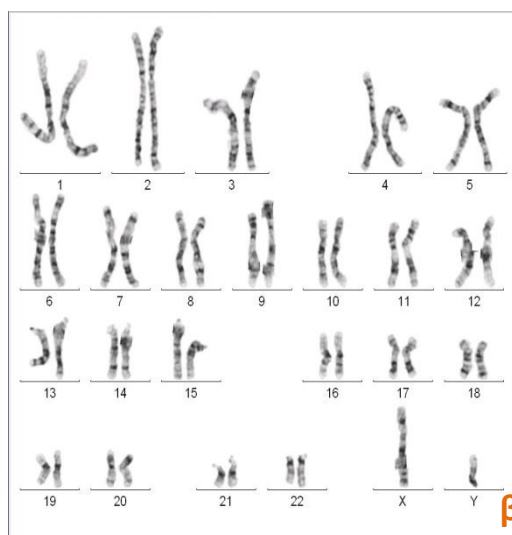
deletion syndrome)	Γ4: del 8p23.1-23.2
Τετρασωμία 18p	1 ασθενής (Γ5)
Δακτυλιοειδές χρωμόσωμα 18	1 ασθενής (Γ6)

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω αποτελέσματα, οι 2 από του 6 ασθενείς (Γ1 και Γ2), φέρουν μεταξύ των άλλων και άπω τρισωμία 4p, μία χρωμοσωμική ανωμαλία η οποία έχει συσχετιστεί με φαινότυπο μικροκεφαλίας (σελ.32). Ενδιαφέρον περιστατικό αποτελεί ο ασθενής Γ2 (Εικ. 19α) του οποίου ο έλεγχος των χρωμοσωμάτων αποκάλυψε την ύπαρξη παραγώγου χρωμοσώματος (Εικ.19β) πατρικής προέλευσης με αποτέλεσμα την συνύπαρξη δύο γνωστών χρωμοσωμικών ανωμαλιών, της άπω τρισωμίας 4p και του 22q13.3 ελλείμματος (σύνδρομο Phelan McDermid) των οποίων η συνύπαρξη δεν έχει αναφερθεί μέχρι στιγμής στη διεθνή βιβλιογραφία.

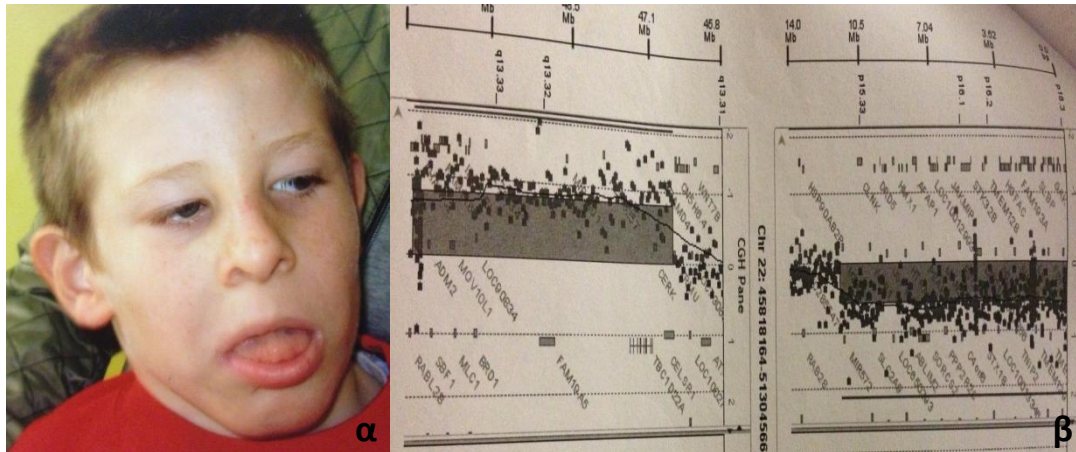
Ο ασθενής παρουσιάζει κλινικά χαρακτηριστικά και εκδηλώσεις και από τα δύο σύνδρομα. Τα φαινοτυπικά γνωρίσματα όπως μικροκεφαλία, ΨΚΚ, κολόβωμα ίριδας, ευρεία βάση της μύτης, παχύ ακρορρίνιο, μακρύ και λείο φίλτρο, χαμηλά ώτα και βραχύς λαιμός, είναι συμβατά με αυτά του συνδρόμου άπω τρισωμία 4p ενώ η υποτονία κεντρικού τύπου, η βαριά ΨΚΚ με απουσία λόγου και έντονα αυτιστικά στοιχεία συμπεριφοράς αποτελούν κλινικές εκδηλώσεις του συνδρόμου Phelan McDermid. Αξίζει να σημειωθεί ότι το σύνδρομο Phelan McDermid δεν προκαλεί εξωτερικές δυσμορφίες και συγγενείς ανωμαλίες σε ζωτικά όργανα, αλλά ευθύνεται για σφαιρική αναπτυξιακή και νοητική υστέρηση σε συνδυασμό με αυτιστικά στοιχεία συμπεριφοράς⁷⁰. Τα αυτιστικά στοιχεία αλλά και τα νευρολογικά σημεία και συμπτώματα που έχουν συνδεθεί με το σύνδρομο αυτό έχουν αποδοθεί από τους συγγραφείς στην απλοανεπάρκεια του γονιδίου SHANK3. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που εκφράζεται σε μεγάλο ποσοστό στον εγκέφαλο. Η πρωτεΐνη αυτή βρίσκεται στη μετασυναπτική μεμβράνη των νευρικών συνάψεων

και παίζει σημαντικό ρόλο στη σωστή μεταβίβαση του σήματος από τον ένα νευρώνα στον άλλο⁷¹.

Όπως έχουμε ήδη αναφέρει, ο συνδυασμός των δύο αυτών συνδρόμων δεν έχει αναφερθεί προηγουμένως στη διεθνή βιβλιογραφία. Όμως, όπως θα φανεί και στη συνέχεια των αποτελεσμάτων, ένας ακόμα ασθενής μας (ασθενής Δ38)(Εικ. 20α) με επίκτητη σοβαρή μικροκεφαλία, σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ, υποτονία και δυσμορφικά γνωρίσματα, φέρει τις δύο αυτές χρωμοσωμικές διαταραχές και μάλιστα με παρόμοια όρια. Συγκεκριμένα φέρει διπλασιασμό μεγέθους 11.6 Mb στη περιοχή 4p16.3p15.33 (μερική άπω τρισωμία 4p) και έλλειμμα μεγέθους 4.4 Mb στη περιοχή 22q13.31q13.33 (rhesus Mcdermid syndrome)(Εικ. 20β). Οι χρωμοσωμικές αυτές διαταραχές αποκαλύφθηκαν με την τεχνική array-CGH. Ο διπλασιασμός στο άπω τμήμα του βραχέως σκέλους του χρωμοσώματος 4, παρόλο που ήταν > 10Mb, δεν φάνηκε στον απλό καρυότυπο (κλασικός καρυότυπος ασθενούς → φυσιολογικός). Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε απλός καρυότυπος στους γονείς για να αποκλειστεί η πιθανότητα ύπαρξης ισοζυγισμένης μετάθεσης στους γονείς. Ο καρυότυπος και των δύο ήταν φυσιολογικός.



Εικόνα 19 α) Ασθενής Γ2, β) κλασικός καρυότυπος όπου φαίνεται η ύπαρξη του παραγώγου χρωμοσώματος



Εικόνα 20 α) Ασθενής Δ38, β) array-CGH: αριστερά φαίνεται ο διπλασιασμός στο 4p και δεξιά το έλλειμμα στο 22q

Ο ασθενής Γ3 (Εικ.21) φέρει ένα μεγάλο έλλειμμα στο βραχύ σκέλος του ενός εκ των δύο χρωμοσωμάτων 8 και παρουσιάζει βαρύ φαινότυπο ήδη από τη γέννηση.

Γεννήθηκε με βάρος γέννησης 2.250gr και εισήχθη στη μονάδα νεογνών λίγες ώρες μετά τη γέννηση λόγω πιθανής απόφραξης εντέρου και αδυναμία σίτισης. Ο παρακλινικός έλεγχος αποκάλυψε ψευδοαπόφραξη εντέρου λόγω ύπαρξης συγγενούς μεγακόλου και πραγματοποιήθηκε άμεσα χειρουργική αποκατάσταση. Η κλινική εξέταση του ασθενούς αποκάλυψε την ύπαρξη κεντρικής υποτονίας με συνοδό περιφερική υπερτονία και ιδιαίτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως υπερτελορισμό και επίκανθο, υποπλασία μύτης, λείο φίλτρο, μικρό στόμα, μικρή γνάθο, αφεστώτα ότα με χαμηλή πρόσφυση, αφίπτευση 2^{ου}-3^{ου} και 4^{ου}-5^{ου} δακτύλου ΑΡ άκρου ποδός και κρυφορχία. Ο καρδιολογικός έλεγχος ανέδειξε την ύπαρξη στένωσης της πνευμονικής αρτηρίας, ενώ η MRI εγκεφάλου αποκάλυψε μικρό μέγεθος μεσολοβίου. Τέλος ο έλεγχος των χρωμοσωμάτων έδειξε την ύπαρξη ενός μεγάλου ελλείμματος στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 8 (del8p21.1→pter).

Ο ασθενής Γ4 με έλλειμμα στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 8, παρουσιάζει ένα πολύ μικρότερο έλλειμμα εντοπιζόμενο στη χρωμοσωμική περιοχή 8p23.1-23.2 και είναι συμβατό με το 8p23 σύνδρομο ελλείμματος (8p23 deletion syndrome).

Ο ασθενής εξετάστηκε σε ηλικία 4 ετών όπου εμφάνιζε μικροκεφαλία, υποτονία και μετρίου βαθμού ΨΚΚ. Επίσης έπασχε από κυστεοουρητηρική παλινδρόμηση 4^{ου} -5^{ου} βαθμού άμφω με δυσπλαστικό ΔΕ νεφρό. Ο καρδιολογικός και ο ακοολογικός έλεγχος ήταν φυσιολογικοί ενώ το ΗΕΓ και η MRI εγκεφάλου δεν ανέδειξαν παθολογικά ευρήματα.

Πραγματοποιήθηκε έλεγχος χρωμοσωμάτων με κλασσικό καρυότυπο ο οποίος ανέδειξε υποψία ύπαρξης ελλείμματος στην υποτελομεριδιακή περιοχή του ενός χρωμοσώματος 8. Περαιτέρω διερεύνηση με τη χρήση υποτελομεριδιακών μοριακών ανιχνευτών για την περιοχή 8p (in situ υβριδισμός-μέθοδος FISH) επιβεβαίωσε μερική μονοσωμία της περιοχής 8pter στο σημείο 8p23.1-23.2. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο ασθενής Γ4 δεν πάσχει από συγγενή καρδιοπάθεια παρόλο που το 8p23 σύνδρομο ελλείμματος έχει συσχετιστεί με καρδιοπάθεια, πιθανότατα οφειλόμενη στην απλοανεπάρκεια των γονιδίων GATA4 και SOX7 που έχουν έδρα στη χρωμοσωμική περιοχή 8p23.1 κοντά στη περιοχή 8p22. Επειδή η διερεύνηση του ασθενούς Γ4 έγινε μόνο με κλασσικό καρυότυπο, δεν γνωρίζουμε τα ακριβή όρια του ελλείμματος και συνεπώς δεν μπορούμε να γνωρίζουμε εάν τα δύο αυτά γονίδια περιλαμβάνονται στο έλλειμμα.



Εικ 21. Ασθενής Γ3

Τετρασωμία 18p και δακτυλιοειδές χρωμόσωμα 18

Η τετρασωμία του βραχέως σκέλους του χρωμοσώματος 18 (τετρασωμία 18p) και τα ελλείμματα τόσο στο βραχύ όσο και στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 18 (18p σύνδρομο ελλείμματος) και (18q σύνδρομο ελλείμματος) έχουν συνδεθεί με φαινότυπο που περιλαμβάνει μικροκεφαλία σε άλλοτε άλλο ποσοστό.

Η τετρασωμία 18p (ασθενής Γ5) είναι ένα γενετικό σύνδρομο το οποίο απαντάται σε συχνότητα περίπου 1/140.000-1/180.000 και οφείλεται στην ύπαρξη ενός επιπλέον ισοχρωμοσώματος το οποίο αποτελείται από δύο αντίγραφα του βραχέως σκέλους του χρωμοσώματος 18 [i(18p)]. Ο φαινότυπος του συνδρόμου είναι συνήθως βαρύς και χαρακτηρίζεται από δυσκολίες στη σίτιση και στην αναπνοή κατά τη βρεφική ηλικία, μικροκεφαλία (περίπου 40% των περιπτώσεων), εναλλαγές στο μυϊκό τόνο (από υποτονία σε υπερτονία και το αντίθετο) με αποτέλεσμα καθυστέρηση στην επίτευξη των οροσίων ανάπτυξης (ΨΚΚ), νοητική υστέρηση, χαρακτηριστικό προσωπείο (ανώμαλα ώτα, λείο φίλτρο, μικρό στόμα, λεπτό άνω χείλος, θολωτή υπερώρα) και άλλα προβλήματα όπως διαταραχές στην όραση και την ακοή, διαταραχές ουρογεννητικού συστήματος (κρυφορχία και υποσπαδίας), σπασμοί και καρδιοπάθεια⁷².

Όσον αφορά το δακτυλιοειδές χρωμόσωμα 18, όπως και όλα τα άλλα δακτυλιοειδή χρωμοσώματα, προέρχεται από τη συγχώνευση των δύο άκρων (του μακρού και του βραχέως σκέλους) του χρωμοσώματος (Εικ.22). Τυπικά αυτό σημαίνει ότι κατά τη διαδικασία της συγχώνευσης τα τελικά τμήματα από το βραχύ και το μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος χάνονται και ο φαινότυπος του ασθενούς εξαρτάται από το μέγεθος των ελλειμμάτων των δύο σκελών



Εικ.22 Σχηματισμός δακτυλιοειδούς χρωμοσώματος. Διακρίνονται τα ελλείμματα που δημιουργούνται στα τελικά άκρα του βραχέως και του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος κατά τη συγχώνευσή τους.

Τα συχνότερα φαινοτυπικά γνωρίσματα που έχουν αναγνωριστεί σε ασθενείς με δακτυλιοειδές χρωμόσωμα 18 είναι η σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ, η μικροκεφαλία, οι ανατομικές ανωμαλίες του εγκεφάλου όπως η ολοπροσεγκεφαλία, η υποτονία, οι σκελετικές ανωμαλίες και οι ανωμαλίες από τους οφθαλμούς ⁷³.

Δ. Όλοι οι ασθενείς που κλινικά δεν μπορούν να ταξινομηθούν σε κάποιο γνωστό σύνδρομο και έχουν φυσιολογικό κλασικό καρυότυπο. Στους συγκεκριμένους ασθενείς ο έλεγχος συνεχίζεται με Μοριακό καρυότυπο (μέθοδος a-CGH) και γίνεται περαιτέρω ταξινόμηση σύμφωνα με τα κλινικά ευρήματα και τα αποτελέσματα των a-CGH (υποομάδες κατηγορίας Δ). **Σύνολο ασθενών: 60**

Αναλυτικά

Δ.1α	Ασθενείς με μικροκεφαλία, χωρίς δυσμορφικά χαρακτηριστικά ή/και συγγενείς ανωμαλίες, με ΨΚΚ (Ψυχοκινητική καθυστέρηση) και επεισόδια σπασμών. Τα array-CGH: παθολογικά	0 ασθενείς
Δ.1β	Ασθενείς με μικροκεφαλία, χωρίς δυσμορφικά χαρακτηριστικά ή/και συγγενείς ανωμαλίες, με ΨΚΚ και επεισόδια σπασμών. Τα array-CGH: φυσιολογικά	3 ασθενείς (Δ43, Δ44, Δ52)
Δ.2α	Ασθενείς με μικροκεφαλία, χωρίς δυσμορφικά χαρακτηριστικά ή/και συγγενείς ανωμαλίες, με ΨΚΚ και χωρίς επεισόδια σπασμών. Τα array-CGH: παθολογικά	5 ασθενείς (Δ15, Δ20, Δ26, Δ27, Δ33)

Δ.2β	Ασθενείς με μικροκεφαλία, χωρίς δυσμορφικά χαρακτηριστικά ή/και συγγενείς ανωμαλίες, με ΨΚΚ και χωρίς επεισόδια σπασμών. Τα array-CGH: φυσιολογικά	4 ασθενείς (Δ41, Δ42, Δ47, Δ56)
Δ.3α	Ασθενείς με μικροκεφαλία, δυσμορφικά χαρακτηριστικά ή/και συγγενείς ανωμαλίες, ΨΚΚ και επεισόδια σπασμών. Τα array-CGH: παθολογικά	14 ασθενείς (Δ5, Δ8, Δ9, Δ10, Δ11, Δ12, Δ16, Δ19, Δ22, Δ25, Δ29, Δ31, Δ32, Δ34)
Δ.3β	Ασθενείς με μικροκεφαλία, δυσμορφικά χαρακτηριστικά ή/και συγγενείς ανωμαλίες, ΨΚΚ και επεισόδια σπασμών. Τα array-CGH: φυσιολογικά	5 ασθενείς (Δ45, Δ50, Δ51, Δ53, Δ60)
Δ.4α	Ασθενείς με μικροκεφαλία, δυσμορφικά χαρακτηριστικά ή/και συγγενείς ανωμαλίες, ΨΚΚ, χωρίς όμως να παρουσιάζουν επεισόδια σπασμών. Τα array-CGH: παθολογικά	18 ασθενείς (Δ1, Δ2, Δ3, Δ4, Δ6, Δ7, Δ13, Δ14, Δ17, Δ18, Δ21, Δ24, Δ28, Δ30, Δ35, Δ36, Δ37, Δ38)
Δ.4β	Ασθενείς με μικροκεφαλία, δυσμορφικά χαρακτηριστικά ή/και συγγενείς ανωμαλίες, ΨΚΚ, χωρίς όμως να παρουσιάζουν επεισόδια σπασμών. Τα array-CGH: φυσιολογικά	8 ασθενείς (Δ39, Δ40, Δ46, Δ48, Δ49, Δ54, Δ58, Δ59)
Δ.5α	Ασθενείς με μικροκεφαλία, δυσμορφικά χαρακτηριστικά ή/και συγγενείς ανωμαλίες, χωρίς ΨΚΚ και χωρίς να παρουσιάζονται επεισόδια σπασμών. Τα array-CGH: παθολογικά	1 ασθενής (Δ23)
Δ.5β	Ασθενείς με μικροκεφαλία, δυσμορφικά χαρακτηριστικά ή/και συγγενείς ανωμαλίες, χωρίς ΨΚΚ και χωρίς να παρουσιάζονται επεισόδια σπασμών. Τα array-CGH: φυσιολογικά	1 ασθενής (Δ55)

Πίνακας 5. Περιγραφή ασθενών με συνδρομική μικροκεφαλία και παθολογικά CNVs στα array-CGH

Ασθενής(No/ηλικία)	Μορφολογικά στίγματα/Συγγενείς ανωμαλίες/άλλα προβλήματα	Ψυχοκινητική εξέλιξη	Νευρολογική σημειολογία	Σπασμοί	Αποτέλεσμα array-CGH	Γνωστά σύνδρομα	Σημαντικά γονίδια, υποψήφια για μικροκεφαλία
Δ1 (3 ετών)	επίκτητη μικροκεφαλία βλεφαρόπτωση θολωτή υπερώα μεγάλη μύτη, προέχοντα αφεστώα ότα χειρουργηθήσα κρυφορχία AP υποπλασία δακτύλων σε άνω και κάτω άκρα νύχια υποπλαστικά	ήπια ΨΚΚ, κυρίως στο λόγο	-	-	del 4q35.1q35.2 (5.2Mb) dup 9p24.3p21.1 (31.6 Mb)	9p σύνδρομο διπλασιασμού	DOCK8, FREM1
Δ2 (11 ετών)	συγγενής μικροκεφαλία μακρύ πρόσωπο βλεφαρικές σχισμές με κλίση προς τα άνω βλεφαρόπτωση AP στραβισμός AP αραιά φρύδια κοντό φίλτρο ανωμαλίες οδόντων υψηλή υπερώα, μυτερό πηγούνι αφεστώα ότα σκληρά μαλλιά με προς τα άνω φορά σκολίωση μικρή λόρδωση υπερελαστικότητα δακτύλων καμπτοδακτυλία 5 ^{ου} μελανίζουσα ακάνθωση κοιλοποδία ανωμαλίες δερματογλυφικών (ΔΕ+AP) Κοντό ανάστημα (έλλειψη αυξητικής ορμόνης)	ΨΚΚ (εργοθεραπεία - Λογοθεραπεία από την ηλικία του 1 έτους.) δυσσαρθρία υπερκινητικότητα	Υπερκινητικότητα	-	del 17q25.3 (1.38 Mb) dup 12q24.32q24.33 (7.076 Mb)		RAC3, FOXK2
Δ3 (2 ετών)	συγγενή μικροκεφαλία μεγάλο προέχον μέτωπο Υπερτελορισμός επίκανθος μικρή μύτη με καθίζηση αυτής εντύπωμα στη μύτη κοντό φίλτρο θολωτή υπερώα μικρογοναθία	σοβαρή ΨΚΚ (σε ηλικία 2 χρονών δεν περπατάει και δεν λέει λεξούλες)		-	dup 9p24.3-p22.1 (19.01Mb) del13q33.1-q34 (13.6 Mb)	9p σύνδρομο διπλασιασμού 13q33-q34 σύνδρομο μικροελλείμματος	FREM1, DOCK8, ARHGEF7 99

	<p>χαμηλή πρόσφυση ώτων αφεστώτα ότα με ανώμαλη ελίκωση καμποδακτυλίες (3ο δάκτυλο ΔΕ χεριού) υποπλαστικά-μικρά νύχια συγγενής καρδιοπάθεια χειρουργηθήσα (VSD/ASD, δίχωρη ΔΕ κοιλία) -> μεμβρανώδης μεσοκοιλιακή επικοινωνία συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια χολολιθίαση</p>	-					
<p>Δ4 (28ημερών)</p>	<p>συγγενής μικροκεφαλία (είχε διαπιστωθεί από τον 8^ο μήνα κύησης μακριές βλεφαρίδες υπερτελορισμός ευρεία βάση της μύτης, τοξωτό φρύδι. θολωτή υπερώα μικρογναθία χαμηλή πρόσφυση ώτων-ανώμαλη ελίκωση βραχύς λαιμός μεγάλη απόσταση θηλών οίδημα στα άνω άκρα στη γέννηση αντίχειρες σε σύνκαμψη κλινοδακτυλίες ραιβότητα κάτω άκρων επίπλευση δακτύλων στένωση ισθμού αορτής</p>	<p>νοσηλεία στη ΜΕΝΝ νεογνών (Το παιδί δεν έκανε θηλαστικές κινήσεις-σίτιση με ρινογαστρικ σε ηλικία 26 ημερών νοσηλεία στη ΜΑΦ λόγω : ελαττωμένης πρόσληψης τροφής και απώλεια βάρους --> πυλωρική στένωση, χαμηλή αιμοσφαιρίνη</p>	<p>Υποτονία κορμού- υπερτονία άνω και κάτω άκρων</p>	-	del 16p13.2(0.093 Mb]		FOX1 (A2BP1)

<p>Δ5 (14 ετών)</p>	<p>Συγγενής μικροκεφαλία μικρό μέτωπο μακρύ πρόσωπο μεγάλη μύτη μακρύ φίλτρο λεπτό άνω χείλος πολύ στενή υπερώρα προέχοντα προστινά δοντια. στενή άνω και κάτω γνάθος ευθιασμός του λοβίου του ωτός. ανωμαλίες δερματογλυφικών μόνο στο ένα χέρι υπερτρίχωση άνω και κάτω άκρων δυσκολίες στη σίτιση ΓΟΠ υπερμετροπία, υποθυρεοειδισμός</p>	<p>σοβαρή ΨΚΚ διαταραχές συμπεριφοράς</p>		<p>επεισόδια σπασμών--> λαμβάνει αντιεπιληπτική αγωγή HEΓ": διαγραμμα ελαφρα και διάχυτα ανώμαλο με παροξυντικές εκφορτισεις χωρίς ημισφαιρική πλαγίωση</p>	<p>del 10q22.3(0.5Mb) mat, del 11q13.1(1.07 Mb) pat del Xq28 (0.152 Mb) mat</p>		<p>NPXN2</p>
<p>Δ6 (15 μηνών)</p>	<p>επίκτητη μικροκεφαλία (από την ηλικία των 10 μηνών η ΠΚ έπεσε κάτω από την 3^η ΕΘ) εντυπώματα αμφικροταφικά αμιαγγείωμα προσώπου (μεσόφρυο) υπερτελορισμός υποπλασία μέσης γραμμής γεμάτα μάγουλα, καθίζηση ρίζας της μύτης μικρή μύτη ανεστραμμένα πτερύγια θολωτή υπερώρα, μικρόστόμα μικρή γνάθος βραχύς λαιμός χαλαρές αρθρώσεις ανωμαλίες δερματογλυφικών εφίπτευση 2ου στο 1ο δάκτυλο ΑΡ ποδιού μεσοκοιλιακή επικοινωνία που κλείνει σιγά-σιγά μόνη της μεγάλη ΓΟΠ--> εισροφήσεις--> συχνες νοσηλείες για λοιμώξεις ανωτέρου αναπνευστικού Υπερμετροπία -αστιγματισμός</p>	<p>σοβαρή ΨΚΚ</p>		<p>Μεχρι την ηλικία των 15 μηνών δεν είχε κάνει σπασμούς</p>	<p>del 3p13 (0.083 Mb) del 9q34.3(3.12 Mb)</p>	<p>9q υποτελομερι- διακό σύνδρομο (σύνδρομο Kleefstra)</p>	<p>EHMT1, FOXP1</p>
<p>Δ7 (3 ετών)</p>	<p>Επίκτητη μικροκεφαλία (γεννήθηκε με ΠΚ στην 3^η ΕΘ) αδυναμία ανάπτυξης χαμηλό σωματικό βάρος επίκανθο υπερτελορισμό</p>	<p>σοβαρή ΨΚΚ → σε ηλικία 5 χρονών δεν περπατάει (βήματα μόνο με υποστήριξη) και δεν μιλάει</p>	<p>σοβαρή υποτονία</p>	<p>-</p>	<p>del 16q21q22.1 (2.03Mb) de novo</p>	<p>16q21q22.1 σύνδρομο μικροελλείμ- ματος</p>	

	<p>μικρογναθία δυσπλαστικά ότα ανώμαλα δερματογλυφικά καμποδακτυλία δυσκαταποσία (τρώει μόνο αλεσμένα) έντονη δυσκοιλιότητα (έντονα μετεωρισμένη κοιλία)</p>	<p>αυτιστικά στοιχεία συμπεριφοράς</p>					
<p>Δ8 (3,5 ετών)</p>	<p>Συγγενής μικροκεφαλία Υπερτελορισμός Επίκανθος καθίζηση της βάσης της μύτης στρογγυλεμένο ακρορρίνιο χαμηλά ότα ανώμαλα δερματογλυφικά ΣΧΙΣΤΙΕΣ: Υπερώας, άμφω χείλους με επέκταση στην άνω γνάθου ΚΟΟΥΠ 2ου -3ου βαθμού σε βελτίωση ΓΟΠ--> σε βελτίωση πολλές ωτίτιδες -> σωληνάκια στα αυτιά</p>	<p>σοβαρή ΨΚΚ (Ξεκίνησε να περπατάει στην ηλικία των 3,5 ετών. Σε ηλικία 3,5 ετών δεν μιλάει ακόμα--> μόνο φωνές)</p>		<p>Από την ηλικία των 8 μηνών → σπασμοί (υπό keppra και Depakine)</p>	<p>del 4p16.3-p16.1 (7.39 Mb)</p>	<p>Σύνδρομο Wolf-Hirschhorn</p>	<p>WHSC1, WHSC2, SLBP</p>
<p>Δ9 (ο ασθενής απεβίωσε σε ηλικία 5,5 ετών από μη ελεγχόμενος σπασμούς)</p>	<p>Συγγενής μικροκεφαλία πλαγιοκεφαλία, βλεφαροφίμωση με βαριά πτώση των βλεφάρων άμφω και κλειστό δακρυϊκό πόρο υπερτελορισμός επίκανθος χαμηλή πρόσφυση ώτων με ανώμαλη ελίκωση θολωτή υπερώρα μικρό στόμα επίπλευση 2ου δακτύλου άκρων ποδών άμφω τυφλό τρήμα στην κοκκυγική περιοχή. μικρό μεμβρανώδες μεσοκοιλιακό έλλειμμα</p>	<p>σοβαρή ΨΚΚ με τετραπληγία υποτονία χωρίς μυϊκή αδυναμία (κεντρικού τύπου)</p>	<p>τετραπληγία υποτονία χωρίς μυϊκή αδυναμία (κεντρικού τύπου) νευροαισθητηριακή βαρηκοΐ εκκρεμοειδής νυσταγμός μικρού εύρους και μεγάλης συχνότητας. ασύντακτες κινήσεις</p>	<p>Σπασμοί ανθεκτικοί στην αγωγή</p>	<p>del 1p36.33-p36.32 (2.778 Mb) dup 21q21.2-q21.3 (0.58 Mb)</p>	<p>1p36 σύνδρομο μικροελλείμματος</p>	<p>PLCH2, SKI</p>
<p>Δ10 (10 ετών)</p>	<p>μικροκεφαλία σύνοφρυς μεγάλο-προέχον μέτωπο δυσπλαστικά ότα κλινοδακτυλία 5ου</p>	<p>σοβαρή ΨΚΚ (περπατάει με βοήθεια και αστάθεια-δεν μιλάει) έντονα αυτιστικά στοιχεία-στερεοτυπίες</p>	<p>έντονα αυτιστικά στοιχεία-στερεοτυπίες</p>	<p>Σπασμοί υπό αγωγή</p>	<p>del 5p15.33 (1.01 Mb) mat del 12p13.31 (0.086Mb) pat</p>	<p>άπω 5p σύνδρομο ελλείμματος</p>	
<p>Δ11 (18 μηνών)</p>	<p>επίκτητη μικροκεφαλία επίκανθος καθίζηση της βάσης της μύτης μικρή μύτη θολωτή υπερώρα χαμηλή πρόσφυση ώτων</p>	<p>σοβαρή ΨΚΚ</p>	<p>κεντρική υποτονία-περιφερική μεγάλη υπερτονία τρόμος Χοριοαθέτωση αταξία</p>	<p>Σπασμοί υπό αγωγή από την ηλικία των 9 μηνών</p>	<p>del 5p15.33 (0.133 Mb) de novo del12p13.31(0.231Mb) de novo</p>	<p>άπω 5p σύνδρομο ελλείμματος</p>	<p>ZDDHC11</p>

Δ12 (2 ετών)	επίκτητη μικροκεφαλία (από την ηλικία των 10 μηνών σταμάτησε να αυξάνεται η ΠΚ και από 17 μηνών η ΠΚ<3 ^η ΕΘ) συνοστέωση μετωπιαίας ραφής--> Τριγωνοκεφαλία θολωτή υπερώρα, μικρογναθία χαμηλή πρόσφυση ώτων με επιπέδωση του λοβίου του ωτός ουδετεροπενία	ήπια ΨΚΚ (περπάτησε 14 μηνών)		σπασμοί από 10 μηνών, από τότε δηλαδή που σταμάτησε να αυξάνει η ΠΚ --> Υπό αγωγή (Epanutin-Sabril) Το ΗΕΓ είναι Υψαρρυθμικό-βραδυαρρυθμία και συμπλέγματα αιχμής κύματος	dup 3q27.1 (0.010 Mb) dup 16p12.1 (0.593Mb)		
Δ13 (2 ετών)	συγγενής μικροκεφαλία (από τον 7 ^ο μήνα, ολιγοδράμιο και ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης) Πλαγιοκεφαλία κοντό φίλτρο θολωτή υπερώρα μυτερό πηγούνι χαμηλά, αφεστώτα ότα με ανώμαλη ελίκωση ανωμαλίες δερματογλυφικών	μετρίου βαθμού ΨΚΚ	-	-	dup 5p14.1 (0.31 Mb) de novo del 15q13.2 (0.071Mb) de novo	15q13.2 σύνδρομο μικροελλείμματος	ARHGAP11B
Δ14 (20 μηνών)	επίκτητη μικροκεφαλία (η ΠΚ σταμάτησε να μεγαλώνει από την ηλικία των 5-6 μηνών) επίκανθος γεμάτα μάγουλα μικρή μύτη θολωτή υπερώρα μικρό στόμα μικρογναθία βραχύς λαιμός ετερόπλευρα ανώμαλα δερματογλυφικά έντονη παχυσαρκία (PW -)	ΨΚΚ	μεγάλη υπερτονία (περιφερική) Υποτονία κορμού	Μεχρι την ηλικία των 3 χρονών→όχι επεισόδια σπασμών ΗΕΓ: βραδύς ρυθμός)	del 3p21.31 (0.023 Mb) de novo del 10q25.2 (0.082Mb) de novo		
Δ15 (2,5 ετών)	επίκτητη μικροκεφαλία (ήπια-λίγο κάτω από την 3 ^η ΕΘ)	ΨΚΚ (ασύντακτες κινήσεις-υπερκινητικότητα-αστάθεια βαδίσματος) υποτονία απώλεια δεξιοτήτων αφηρημένο βλέμμα	ΨΚΚ (ασύντακτες κινήσεις-υπερκινητικότητα-αστάθεια βαδίσματος) Υποτονία	-	del 22q13.31-q13.33 (4,7 Mb)	22q13 σύνδρομο ελλείμματος (σύνδρομο Phelan McDermid)	

Δ16 (28 μηνών)	συγγενής μικροκεφαλία ανεπαρκής πρόσληψη βάρους προέχον μέτωπο στραβισμός ευρεία βάση της μύτης υποπλαστικά πτερύγια ρινός θολωτή υπερώα χαμηλά ότα θηλές με απόσταση βλαισοποδία κοντό ανάστημα	σοβαρή ΨΚΚ (σε ηλικία 3 ετών τρώνει αλεσμένα)	σοβαρή ΨΚΚ	Σπασμοί υπό αγωγή με Depakine	del 4p16.3 (2.1 Mb)	Σύνδρομο Wolf- Hirschhorn	WHSC1, WHSC2, SLBP
Δ17 (5 ετών)	επίκτητη μικροκεφαλία κοντό ανάστημα τριγωνικό προσωπείο προέχουσα nasal bridge και nasal collumela κοντό φίλτρο λεπτό άνω χείλος κρυφορχία Χαρακτηριστικά που θυμίζουν Floating Harbor Syndrome υποθυρεοειδισμός	ΨΚΚ υπερκινητικότητα	Υπερκινητικότητα Ήπια υπερτονία	-	del 12p12.2 (0.386 Mb)		
Δ18 (6 ετών)	επίκτητη μικροκεφαλία κοντό ανάστημα τριγωνικό πρόσωπο πυκνά φρύδια, θολωτή υπερώα, χαμηλά ότα υπερελαστικότητα αρθρώσεων φαλάγγων λαμβάνει αυξητική ορμόνη	ήπια-μέτρια ΨΚΚ (σε ηλικία 6,5 ετών→νηπιαγωγείο	-	-	del 1p36.33-q36.31 (5.7 Mb)	1p36 σύνδρομο μικροελλείμ- ματος	PLCH2, SKI, CHD5
Δ19 (2 ετών)	συγγενής μικροκεφαλία κοντό ανάστημα χαμηλά ότα υπερτελοτισμός με ευθυσμό του ριζορινίου, ομφαλοκήλη ανώμαλα δερματογλυφικά κοντός λαιμός	ΨΚΚ (σε ηλικία 2,5 ετών κάνει βήματα με υποστήριξη)	Έντονη υπερτονία	Σπασμοί υπό αγωγή	del 19p13.3 (0.075Mb)		EFNA2
Δ20 (15 μηνών)	επίκτητη μικροκεφαλία (από την ηλικία των 8 μηνών η ΠΚ<3 ^η ΕΘ)	ΨΚΚ (καθυστέρηση στο λόγο- σε ηλικία 2,5 ετών δεν περπατάει, μόνο λίγα βήματα)	υποτονία κορμού καθυστέρηση τόσο των κινητικών όσο και των λεκτικών δεξιοτήτων	επιπλεγμένοι πυρετικοί σπασμοί σε ηλικία 4 μηνών	del16q24.2-q24.3 (3.0 Mb)	16q24.3 σύνδρομο μικροελλείμ- ματος	MAP1LC3B, FBX031
Δ21 (8 ετών)	συγγενής μικροκεφαλία κοντό ανάστημα (ανεπάρκεια αυξητικής) ελάσσονα δυσμορφικά χαρακτηριστικά	σοβαρή ΨΚΚ (φτωχός λόγος, αυτιστικά στοιχεία, επαναλαμβανόμενες κινήσεις)	αυτιστικά στοιχεία επαναλαμβανόμενες κινήσεις φοβίες	-	del 17q23.3 (0.015 Mb)		
Δ22 (5 ετών)	συγγενής μικροκεφαλία πλαγιοκεφαλία	σοβαρή ΨΚΚ . (περπάτησε σε ηλικία 4 ετών -σε ηλικία 5,5		επεισόδια πυρετικών και απύρετων σπασμών	del 4p16.3 (2.4Mb) dup 4p16.3 (3.02 Mb)	Σύνδρομο Wolf-	WHSC1, WHSC2, SLBP

	στραβισμός ΔΕ κοντό και λείο φίλτρο θολωτή υπερώρα, κλινοδακτυλία 5 ^{ου} εφίπλευση δακτύλων ανωμαλίες δερματογλυφικών Αρ χαμηλή πρόσφυση ώτων χαλαρές αρθρώσεις ανωμαλίες οδόντων. σκολίωση σπονδυλικής στήλης	ετών τρώει αλεσμένα-δεν μιλάει)		(υπό θεραπεία με keppra)		Hirschhorn	
Δ23 (10 μηνών)	Μικροκεφαλία (3 ^η ΕΘ στη γέννηση και 5,5 μηνών. Από τον 10 ^ο μήνα όλα τα σωματομετρικά <3 ^η ΕΘ) Υπερωισχιστία μικρά στρογγυλά μάτια με εμβάθυνση επίκανθο καθίζηση της ρίζας της μύτης μικρή μύτη μικρό στόμα υποπλαστική άνω γνάθος (το ίδιο και η μητέρα, ήπια χαμηλή) ανώμαλη ελίκωση ώτων μικροί όρχεις ανώμαλα δερματογλυφικά ΔΕ. Ηπατομεγαλία (λιπώδης διήθηση) Υπερτριγλυκεριδαμία Υποκλινικός υποθυρεοειδισμός	-	-	-	dup 1p36.33 (1.7 Mb) del 22q11.22-q11.23 (655.9Kb]	22q11.2 σύνδρομο μικροελλείμ- ματος (άπω DiGeorge) 1p36 σύνδρομο μικροδιπλα- σιασμού	RAB36
Δ24 (2 ετών)	Μικροκεφαλία μικρό-στενό μέτωπο βλεφαρικές σχισμές προς τα άνω χαμηλά ότα	ΨΚΚ	-	-	dup 9p24.3 (67.12Kb)		DOCK8
Δ25 (21 μηνών)	επίκτητη μικροκεφαλία μακριές βλεφαρίδες επίκανθος έντονο βλέμμα προβάλλοντες οφθαλμοί θολωτή υπερώρα, μικρογναθία οριζόντια αύλακα στο πηγούνι χαμηλά αφεστώτα ότα εισέχουσες θηλές χαλαρές αρθρώσεις trident appearance στον τράχηλο cowlicu μπροστά στα μαλλιά	σοβαρή ΨΚΚ	-	ανθεκτικοί σπασμοί υπό τριπλή αντιεπιληπτική αγωγή	dup 14q24.2 (0.031Mb)		
Δ26 (4 ετών)	μικροκεφαλία κοντό ανάστημα (λόγω έλλειψης αυξητικής)	ήπια-μέτρια ΨΚΚ	-	-	dup Χρ22.31 (1.648 Mb)	Χρ22.3 σύνδρομο μικροδιπλα-	

						σιασμού	
Δ27 (6 ετών)	επίκτητη μικροκεφαλία (πτώση της ΠΚ<3 ^η ΕΘ από την ηλικία των 8 μηνών)	σοβαρή ΨΚΚ αυτιστικά στοιχεία συμπεριφοράς	Υποτονία κεντρικού τύπου (χωρίς μυική αδυναμία)	-	del 17q21.31-q21.32 (0.472Mb) de novo	Σύνδρομο Koolen De Vries	KANSL1
Δ28 (6 ετών)	μικροκεφαλία έλλειψη βλεφαρίδων λαγώχειλος-χειλοεσχιστία χειρουργηθήσα υπερτροφία ούλων υποπλαστική κάτω γνάθος μικρό πέος-κρυφορχία χειρουργηθήσα εκσεσημασμένη σκολίωση αρθρογρύπωση άνω και κάτω άκρων χαμηλό βάρος κοντό ανάστημα (συζητητική ορμόνη: κφ)	ΨΚΚ υπερκινητικότητα	υπερκινητικότητα	-	del 1q25.1-q25.3 (9.04Mb) de novo dup5p13.1p12 (1.4Mb) pat	Ενδιάμεσο 1q σύνδρομο ελλείμματος	ASTN1
Δ29 (5 μηνών)	μικροκεφαλία μικρές βλεφαρικές σχισμές επίκανθος καθίζηση της ρίζας της μύτης μικρή μύτη με ανεστραμμένα πτερύγια θολωτή υπερώα λεπτά χείλη βραχυδακτυλία ανωμαλίες δερματογλυφικών εφίπλευση 2 ^{ου} δακτύλου βραχύς λαιμός δισχρωμίες σώματος και άκρων	ΨΚΚ	υποτονία κεντρικού τύπου με συνοδό περιφερική υπερτονία	επεισόδια σπασμών από την ηλικία του 1 ^{ου} μηνός (υπό trileptal, sabril και Keppra)	del 1p36.33p36.22 (10.3Mb) de novo dup 16p11.2 (0.401Mb) de novo	1p36 σύνδρομο ελλείμματος	PLCH2, SKI, CHD5, RE(RE)
Δ30 (7 μηνών)	επίκτητη μικροκεφαλία κλειστή πρόσθια πηγή στραβισμός καθίζηση της ρίζας της μύτης κοντό φίλτρο λεπτά χείλη θολωτή υπερώα μυτερό πηγούνι ώτα χαμηλά με οπίσθια κλίση ουδετεροπενία μικρή μεσοκοιλιακή επικοινωνία	ΨΚΚ (σε ηλικία 6,5 μηνών → δεν εστιάζει, δεν παρακολουθεί)	βαριά υποτονία (σε ηλικία 6,5 μηνών στον αναπνευστήρα) μόνιμο Babinski ασθενές κλάμα οπισθότονος παθολογικά οπτικά και ακουστικά δυναμικά Νυσταγμοειδείς κινήσεις οφθαλμών	-	dup 3q13.32 (0.074Mb) pat del 10q26.3 (0.043Mb) mat dup 16p12.1 (0.024Mb) mat		
Δ31 (6 μηνών)	μικροκεφαλία υπερτελορισμός επίκανθος καθίζηση της ρίζας της μύτης ανωμαλίες δερματογλυφικών συνδακτυλία 2 ^{ου} -3 ^{ου} άμφω	σοβαρή ΨΚΚ (έλλειψη προσήλωσης, αδιαφορία, μη στήριξη κορμού και κεφαλής)	γενικευμένη υποτονία εγκεφαλική παράλυση τύπου τετραπληγίας	Βρεφικοί σπασμοί (καταποτικές κινήσεις, βολβοστροφή, κάμψη άνω άκρων HEG : αποδιοργανωμένο με εικόνα υσαρρυθμίας)	del 1p36.33-p36.32 (1.46 Mb)	1p36 σύνδρομο μικροελλείμματος	SKI

Δ32 (18 μηνών)	επίκτητη μικροκεφαλία μεγάλο προέχον μέτωπο επίκανθο μικρογναθία ανεπαρκής πρόσληψη βάρους	ΨΚΚ (σε ηλικία 2 ετών δεν περπατάει, δεν λέει λέξεις)		Σπασμοί (υπό Depakine)	del 4p16.3p16.1 (5.2 Mb) (homozygous)	Σύνδρομο Wolf-Hirschhorn	WHSC1, WHSC2, SLBP
Δ33 (25 μηνών)	συγγενής μικροκεφαλία γεμάτα χείλη χαμηλή πρόσληψη βάρους	ΨΚΚ		-	del 5p15.33 (0.135 Mb) del 9p21.1 (0.023 Mb)	άπω 5p σύνδρομο ελλείμματος	ZDHHC11
Δ34 (4 χρονών)	συγγενής μικροκεφαλία δυσραφισμός αμφιβρεγματικά εντυπώματα στενό μέτωπο μικρές βλεφαρικές σχισμές με φορά προς τα πάνω υπερτελορισμός επίκανθος καθίζηση της βάσης της μύτης φαρδύ ακρορρίνιο ανεστραμμένα πτερύγια λείο φίλτρο χαμηλά με ανώμαλο σχήμα ώτα οίδημα άνω και κάτω άκρων υψίσυχο κλάμα μεσοκοιλιακή επικοινωνία αγενεσία ΔΕ λοβού θυρεοειδούς αδένα κοιλιοκάκη	σοβαρή ΨΚΚ (εγκεφαλική παράλυση (σπαστική διπληγία) στερεότυπες κινήσεις χεριών	εγκεφαλική παράλυση (σπαστική διπληγία στερεότυπες κινήσεις χεριών διαταραχές ύπνου	Σπασμοί (υπό αγωγή)	del 18q21.1qter (34,6 Mb)	Σύνδρομο Pitt-Hopkins	TCF4
Δ35 (15 μηνών)	συγγενής μικροκεφαλία επίκανθος μικρές βλεφαρικές σχισμές υπερτελορισμός καθίζηση της ρίζας της μύτης υποπλαστικά ρινικά πτερύγια μικρή μύτη μικρό στρογγυλό στόμα με καρδιόμορφο άνω χείλος θολωτή υπερώα μικρογναθία βραχύς λαιμός έκτοπη θηλή αριστερά υποπλαστική τελική φάλαγγα ΑΑ ανώμαλα δερματογλυφικά	σοβαρή ΨΚΚ και νοητική υστέρηση	<u>στη βρεφική ηλικία</u> <u>υπερτονία άκρων-</u> <u>υποτονία κορμού</u> <u>σε ηλικία 8 χρονών:</u> γενικευμένη υποτονία	-	dup 12p13.3 (5Mb) del 13q33-q34 (17Mb)	13q33-q34 σύνδρομο μικροελλείμματος	ARHGEF7

Δ36 (5 ετών)	επίκτητη μικροκεφαλία γαμψή μύτη καθίζηση της ρίζας της μύτης θολωτή υπερώα μικρογναθία χαμηλά ότα με επιπέδωση του λοβίου tapering fingers ευρεία δευτερογενή μεσοκολπική επικοινωνία μικροοφθαλμία συγγενής καταρράκτη άμφω σκελετικές ανωμαλίες	Πολύ σοβαρή ΨΚΚ	σημαντική υπερτονία άκρων	-	del 22q11.21 (2.5 Mb) dup 11q23.3 (0.024 Mb) del 14q23.3 (0.074 Mb) del 14q23.3 (0.101 Mb)	Σύνδρομο DiGeorge	RANBP1
Δ37 (3 ετών)	επίκτητη μικροκεφαλία τριγωνοκεφαλία υποτελορισμός προς τα άνω βλεφαρικές σχισμές ανωμαλία Duane καθίζηση της ρίζας της μύτης θολωτή υπερώα χαμηλή πρόσφυση ώτων βραχύς λαιμός σπίλος με τρίχες στην πλάτη αραιά μαλλιά χαμηλή πρόσφυση μαλλιών στον τράχηλο κοντό ανάστημα (3 ^η ΕΘ)	ΨΚΚ (περπάτησε σε ηλικία 20 μηνών, σε ηλικία 3 χρονών δεν μιλάει ακόμα) Σε ηλικία 6 χρονών υστερεί σοβαρά στο λόγο	-	-	del 19q13.43 (0.107 Mb)		TRIM28 CHMP2A UBE2M
Δ38 (7 ετών)	επίκτητη μικροκεφαλία θολωτή υπερώα μικρογναθία ελαφρώς προέχοντα ότα σκαφοειδής θώρακας χαλαρές αρθρώσεις μικρό 5 ^ο δάκτυλο χειρουργηθήσα κρानιοσυνοστέωση (2 φορές) πλαγιοκεφαλία μικροοφθαλμία AP ανώμαλο ρινικό διάφραγμα AP	σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ	κεντρική υποτονία	-	dup 4p16.3p15.33 (11.6 Mb) del 22q13.31q13.33 (4.4 Mb)	Άπω μερική 4p τρισωμία 22q13 σύνδρομο ελλείμματος (σύνδρομο Phelan McDermid)	

Πίνακας 6. Περιγραφή ασθενών με συνδρομική μικροκεφαλία αγνώστου αιτιολογίας και φυσιολογικά array-CGH

Ασθενής (No/ηλικία)	Μορφολογικά στίγματα/Συγγενείς ανωμαλίες/άλλα προβλήματα	Ψυχοκινητική εξέλιξη	Νευρολογική σημειολογία	Σπασμοί	Αποτέλεσμα array-CGH→ Negative (N)
Δ39 (4 ετών)	μικροκεφαλία μικρό μέτωπο στενές-προς τα κάτω βλεφαρικές σχισμές επίκανθος υποτελορισμός μεγάλη μύτη θολωτή υπερώα μυτερό πηγούνι μεγάλα ώτα	ήπια-μέτρια ΨΚΚ	-	-	3 ελλείμματα και 1 διπλασιασμό σε περιοχές με άγνωστη κλινική σημασία μέχρι στιγμής
Δ40 (3 χρονών)	μικροκεφαλία μεγάλο μέτωπο επίκανθος στραβισμός μικρή μύτη με καθίζηση της βάσης αυτής θολωτή υπερώα ανωμαλίες δερματογλυφικών βαρηκοΐα	σοβαρή ΨΚΚ κεντρικού τύπου υποτονία	κεντρικού τύπου υποτονία αυτιστικά στοιχεία	-	N
Δ41 (3,5 ετών)	επίκτητη μικροκεφαλία	σοβαρή ΨΚΚ στον τομέα της αντίληψης και του λόγου (παρουσιάζει ήπια βελτίωση με το χρόνο) υπερκινητικότητα αυτιστικά στοιχεία	υπερκινητικότητα αυτιστικά στοιχεία	-	N
Δ42 (3 ετών)	επίκτητη μικροκεφαλία	σοβαρή ΨΚΚ	-	-	N
Δ43 (3 ετών)	επίκτητη μικροκεφαλία	σοβαρή ΨΚΚ	-	σπασμοί υπό αγωγή με Trileptal	N
Δ44 (21 μηνών)	συγγενής μικροκεφαλία	σοβαρή ΨΚΚ	κεντρομελική αδυναμία με απουσία αντανάκλαστικών στα γόνατα	σπασμοί υπό αγωγή με Tegretol	N

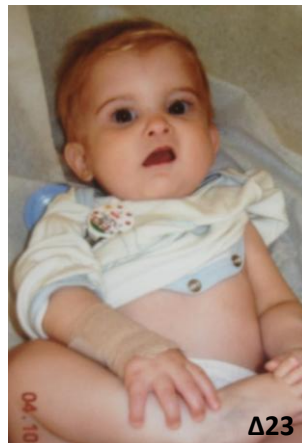
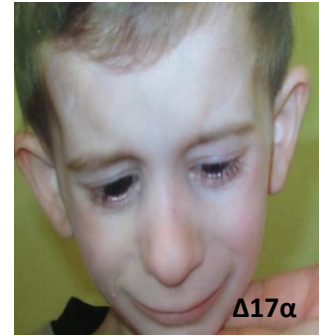
<p>Δ45 (10 μηνών)</p>	<p>επίκτητη μικροκεφαλία στενό μικρό μέτωπο βρεγματικά εντυπώματα αντιμογγολοειδής φορά βλρφαρικών σχισμών μακριές βλεφαρίδες γεμάτα μάγουλα αποστρογγυλομένο έντονο ακρορίνιο, θολωτή πτερώα, προέχον άνω χείλος οπισθο-μικρογναθία χαμηλή πρόσφυση ώτων βραχύς λαϊμός καμπτοδακτυλία αντίχειρας σε προσαγωγή πάχυνση του μεσοκοιλιακού διαφράγματος κάτωθεν της αορτικής βαλβίδας με ήπια στένωση</p>	<p>σοβαρή ΨΚΚ (σε ηλικία 10 μηνών → δεν παρακολουθεί, δεν κάθεται)</p>	<p>κεντρική υποτονία οπισθότονο βολβοστροφή</p>	<p>Κρίσεις "Ε" με Status (αγωγή με Φαινοβαρβιτάλη) ΗΕΓ: <u>ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟ</u>--> Ανεξάρτητη επιληπτογένεση των 2 ημισφαιρίων κυρίως του ΔΕ ημισφαιρίου</p>	<p>N</p>
<p>Δ46 (Α10) (11 μηνών)</p>	<p>συγγενής μικροκεφαλία μικρό πρόσωπο με ήπια υπερτρίχωση μακριές βλεφαρίδες σύνοφρυς καθίζηση της ρίζας της μύτης μικρή μύτη μικρό στόμα μικρό άνω χείλος μικρογναθία χαμηλά ώτα βραχύς λαϊμός</p>	<p>ήπια-μέτρια ΨΚΚ υπερκινητικότητα</p>	<p>υπερκινητικότητα</p>	<p>-</p>	<p>N</p>
<p>Δ47 (13 μηνών)</p>	<p>μικροκεφαλία ψηλαφητή μετωπιαία ραφή κλειστή πρόσθια πηγή ανώμαλα δερματογλυφικά</p>	<p>ήπια ΨΚΚ</p>	<p>-</p>	<p>-</p>	<p>N</p>
<p>Δ48 (23 μηνών)</p>	<p>μικροκεφαλία σύγκλιση μετωπιαίας ραφής επίκανθος καθίζηση της ρίζας της μύτης μικρή μύτη ανεστραμμένα πτερύγια μύτης αποστρογγυλεμένο ακρορίνιο υπερώα θολωτή, ανώμαλα δερματογλυφικά, συνδακτυλία 2ου-3ου στο ΔΕ κάτω άκρο</p>	<p>ήπια ΨΚΚ υπερκινητικότητα</p>	<p>υπερκινητικότητα</p>	<p>-</p>	<p>N</p>

Δ49 (8 ετών)	συγγενής μικροκεφαλία κοντό ανάστημα (ανεπάρκεια αυξητικής) ελάσσονα δυσμορφικά χαρακτηριστικά	μέτρια-σοβαρή ΨΚΚ (φτωχός λόγος, αυτιστικά στοιχεία, επαναλαμβανόμενες κινήσεις)	αυτιστικά στοιχεία επαναλαμβανόμενες κινήσεις		N
Δ50 (A13) (10 ετών)	μικροκεφαλία αμφιβληστροειδοπάθεια	σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ (σε ηλικία 10 ετών περπατάει υποβασταζόμενη)	σπαστική τετραπληγία	σπασμούς από 3 μηνών (υπό αγωγή με Derakine-Kerrra και Innovelion) . Θετικό οικογενειακό ιστορικό από την πλευρά του πατέρα για επιληψία (και ο πατέρας έχει επιληψία)	N
Δ51 (24 μηνών)	Μικροκεφαλία κοντό ανάστημα μικρό μέτωπο πτώση βλεφάρων μακριές βλεφαρίδες σύνοφρυς ευρεία κορυφή μύτης μικρό στόμα θολωτή υπέρωα υπερτροφία ούλων χαμηλή πρόσφυση ώτων με ανώμαλη ελίκωση ευρεία απόσταση θηλών ανώμαλα δερματογλυφικά συνδακτυλία μεταξύ 2-3 δακτύλου κρυφορχία γενικευμένη υπερτρίχωση έλλειμμα μεσοκοιλιακού διαφράγματος	σοβαρή ΨΚΚ	αμφοτερόπλευρη οπτική ατροφία, ανώμαλα προκλητά ακουστικά δυναμικά	σπασμοί ανθεκτικοί στην αγωγή	N
Δ52 (5 ετών)	μικροκεφαλία	σοβαρή ΨΚΚ	-	σπασμοί υπό αγωγή	N
Δ53 (7,5 ετών)	μικροκεφαλία βλεφαρικές σχισμές προς τα κάτω μεγάλη μύτη κοντό φίλτρο θολωτή υπέρωα μυτερό πηγούνι χασμοδοντία χαμηλά ώτα tapering fingers	σοβαρή ΨΚΚ	υπερτονία κάτω άκρων	σπασμοί ανθεκτικοί υπό αγωγή	N

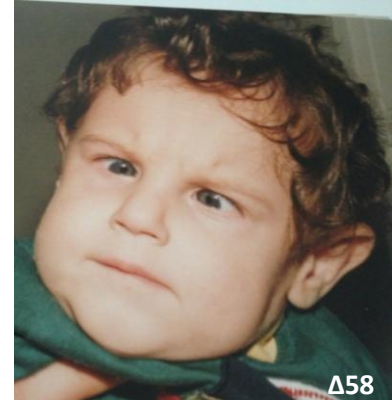
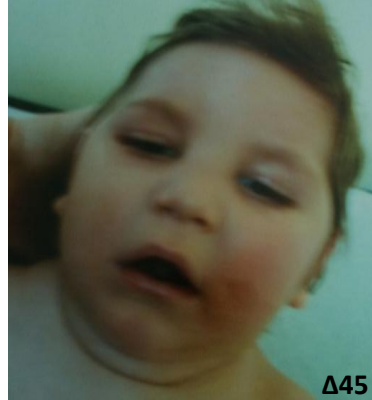
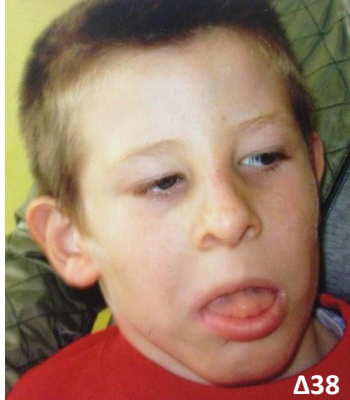
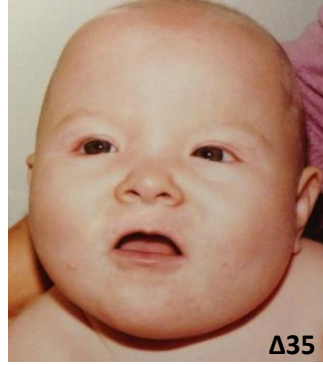
Δ54 (A9) (22 μηνών)	συγγενής μικροκεφαλία σύνοφρυς Υπερτρίχωση τοξωτά φρύδια μακριές βλεφαρίδες καθίζηση ρινός οπισθομικρογναθία λεπτό άνω χείλος με προς τα κάτω φορά της γωνίας του στόματος μικρομέλεια σοβαρή ΓΟΠ συχνές λοιμώξεις αναπνευστικού ήπια στένωση αριστερής πνευμονικής αρτηρίας	σοβαρή ΨΚΚ	σοβαρή ΨΚΚ	-	N
Δ55 (12 χρονών)	συγγενής μικροκεφαλία κοντό ανάστημα ήπια βλεφαροφίμωση επίκανθος καθίζηση της ρίζας της μύτης μικρή μύτη θολωτή υπερώα χαμηλά ώτα χαμηλή αυξητική ορμόνη νεφρασβέστωση (οικογενής) ιδιοπαθής διάταση ΔΕ ουρητήρα	ΨΚΕ στα όρια του φυσιολογικού	-	-	N
Δ56 (15 ετών)	μικροκεφαλία	σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ	πυραμιδική συνδρομή (κυρίως στα κάτω άκρα)	-	N
Δ57 (2,5 ετών)	μικροκεφαλία χαμηλή πρόσληψη βάρους	ΨΚΚ Αυτιστικά στοιχεία	αυτιστικά στοιχεία	-	N
Δ58 (A15) (12 ετών)	συγγενής μικροκεφαλία κοντό ανάστημα προέχοντα ώτα με χαμηλή πρόσφυση συγγενής καταρράκτης άμφω και στραβισμός δέρμα έντονα ρυτιδωμένο με υπερελαστικότητα των αρθρώσεων προγηροειδής εμφάνιση	σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ (τρώει μόνο αλεσμένα) αυτοκαταστροφική συμπεριφορά πυραμιδική συνδρομή	πυραμιδική συνδρομή αυτοκαταστροφική συμπεριφορά	-	N

<p>Δ59 (15 μηνών)</p>	<p>σοβαρή μικροκεφαλία δολιχοκεφαλία κοντό ανάστημα χαμηλό βάρος καθίζηση της ρίζας της μύτης bulbous nose (φαρδιά μύτη) θολωτή υπερώα μικρογναθία μυτερό τριγωνικό πηγούνι επιπέδωση του λοβίου του ωτός γέρνωντες ώμοι ελαστικότητα αρθρώσεων βραχυδακτυλία χαμηλή πρόσφυση μαλλιών στον τράχηλο</p>	<p>ΨΚΚ (μίλησε σε ηλικία 4 χρονών) Σε ηλικία 6 χρονών η νοημοσύνη στα φυσιολογικά όρια</p>	<p>-</p>	<p>-</p>	<p>N</p>
<p>Δ60 (B19) (5 μηνών)</p>	<p>μικροκεφαλία μεγάλο μέτωπο προς τα κάτω βλεφαρικές σχισμές επίκανθο καθίζηση της ρίζας της μύτης μικρή μύτη ανεστραμμένα ρινικά πτερύγια αποστρογγυλεμένο ακρορρίνιο κοντό φίλτρο παχιά σαρκώδη χείλη άνω χείλος εν είδει σκηνής (^) κάτω χείλος ανεστραμμένο θολωτή υπερώα μικρογναθία tapering fingers κρυφορχία μικρή ASD</p>	<p>ΨΚΚ/ΝΥ</p>	<p>υποτονία</p>	<p>σπασμοί υπό αγωγή με φαινυτοίνη και φαινοβαρβιτάλη</p>	<p>N</p>

Όπου N: φυσιολογικά ευρήματα



Εικόνα 23 : Φωτογραφίες ασθενών με συνδρομική μικροκεφαλία που διερευνήθηκαν με τη μέθοδο Array –



Εικόνα 23 : Φωτογραφίες ασθενών με συνδρομική μικροκεφαλία που διερευνήθηκαν με τη μέθοδο Array –

Σχολιασμός αποτελεσμάτων Μοριακού καρυοτύπου

Με την γραπτή συγκατάθεση των γονέων, εφαρμόστηκε η μέθοδος array-CGH (επίπεδο ευκρίνειας 7-13 Mb) σε 60 ασθενείς που παρουσιάστηκαν στα εξωτερικά ιατρεία της κλινικής γενετικής του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής ΕΚΠΑ με εικόνα συνδρομικής μικροκεφαλίας αγνώστου αιτιολογίας. Από τους 60 ασθενείς στους οποίους και εφαρμόστηκαν array-CGH, στους 38 (63,34%)(13 αγόρια/25 κορίτσια) αναγνωρίστηκαν σημαντικές υπομικροσκοπικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες/αναδιατάξεις (μικροελλείμματα ή/και μικροδιπλασιασμοί) με μέγεθος που κυμάνθηκε μεταξύ 0.008 Mb και 34.6 Mb, ενώ στους υπόλοιπους 22 (36,6%) ασθενείς, δεν διαπιστώθηκαν χρωμοσωμικά ελλείμματα ή/και διπλασιασμοί που να δικαιολογούν την κλινική τους εικόνα με τις έως τώρα γνώσεις μας. Σε 20 από τους 38 ασθενείς με παθολογικά array-CGH, περισσότερες από μία χρωμοσωμικές αναδιατάξεις συνέβαλλαν στη κλινική έκφραση του φαινοτύπου. Τελικά, στο σύνολο των 38 ασθενών αναγνωρίστηκαν 43 μικροελλείμματα και 19 μικροδιπλασιασμοί.

Από τα συνολικά αποτελέσματα προκύπτει ότι σε 37 από τους 38 ασθενείς η μικροκεφαλία συνοδεύονταν από ψυχοκινητική ή/και διανοητική καθυστέρηση. Δυσμορφικά χαρακτηριστικά αναγνωρίστηκαν σε 33 ασθενείς, από επιληψία έπασχαν 14 ασθενείς, κεντρική υποτονία ήταν έκδηλη σε 13 ασθενείς, ενώ συγγενής καρδιοπάθεια και άλλες συγγενείς ανωμαλίες αναγνωρίστηκαν σε 7 και 12 ασθενείς αντίστοιχα.

Σε 18 από τους 38 ασθενείς (Δ1, Δ3, Δ6, Δ7, Δ8, Δ9, Δ13, Δ16, Δ18, Δ22, Δ28, Δ29, Δ31, Δ32, Δ34, Δ35, Δ36, Δ38) ανιχνεύτηκαν γνωστές χρωμοσωμικές ανωμαλίες (μικροελλείμματα ή/και μικροδιπλασιασμοί) που συνδέονται με φαινότυπο συνδρομικής μικροκεφαλίας όπως: Wolf-Hirschhorn syndrome, 1p36 microdeletion, 9p duplication, 9q subtelomeric (Kleefstra syndrome), Pitt-Hopkins syndrome, 13q33-q34 microdeletion, 16q21-q22.1 microdeletion, 15q13.2 microdeletion, intermediate, 1q microdeletion syndrome, σύνδρομο DiGeorge και άπω μερική τρισωμία 4p). Σε 11 (Δ2, Δ4, Δ5, Δ11, Δ19, Δ20, Δ23, Δ24, Δ27, Δ33, Δ37) ασθενείς, οι υπομικροσκοπικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες που ανεβρέθησαν δεν έχουν προηγουμένως συσχετιστεί με μικροκεφαλία, αλλά περιέχουν σημαντικά γονίδια

που εκφράζονται στον εγκέφαλο και πιθανώς συμβάλουν στην μη φυσιολογική ανάπτυξη του εγκεφάλου. Εν συνεχεία, σε 7 (Δ12, Δ14, Δ15, Δ17, Δ21, Δ25, Δ26) από τους 38 ασθενείς, οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες που ανιχνεύτηκαν, ενώ συμβάλλουν στο συνολικό φαινότυπο του ασθενούς, σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, δεν έχουν συσχετιστεί με μικροκεφαλία αλλά ούτε και με μικροκεφαλία-σχετιζόμενα γονίδια. Τέλος σε 2 (Δ10, Δ30) ασθενείς, η συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου παρεμποδίστηκε από το γεγονός ότι όλα τα μικροελλείμματα και οι μικροδιπλασιασμοί που βρέθηκαν είχαν κληρονομηθεί από τους «φαινομενικά» φυσιολογικούς γονείς. Τέλος σημαντικά γονίδια που πιθανόν συμβάλλουν στην υποανάπτυξη του εγκεφάλου αναγνωρίστηκαν σε 26 ασθενείς. Σε 11 από τους 27 ασθενείς τα πιθανά για τη μικροκεφαλία υπεύθυνα γονίδια έχουν ήδη προταθεί από άλλους συγγραφείς σε προηγούμενες αναφορές ως γονίδια με σημαντικό ρόλο στη μη φυσιολογική ανάπτυξη του εγκεφάλου. Στους υπόλοιπους 15 ασθενείς τα πιθανά για το μικρό μέγεθος του εγκεφάλου υπεύθυνα γονίδια προτείνονται για πρώτη φορά στη παρούσα μελέτη. Όμως, τα γονίδια αυτά εκφράζονται σε μεγάλο ποσοστό στον εγκέφαλο και η λειτουργία τους είναι γνωστό ότι εμπλέκεται σε μηχανισμούς που αποδεδειγμένα σχετίζονται με τη φυσιολογική νευροανάπτυξη, όπως είναι τα γονίδια που σχετίζονται με τη σωστή λειτουργία του κυτταρικού κύκλου και το διπλασιασμό του DNA, τους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς του DNA, το μονοπάτι σηματοδότησης μέσω GTP-ασών, τη δομή και τη λειτουργία των μικροσωληνίσκων, των κεντριολίων και των καντροσωμάτων. Η λειτουργία και ο ρόλος των γονιδίων αυτών αναφέρονται συγκεντρωτικά στον πίνακα 7.

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι 16 από του 38 ασθενείς με array-CGH ευρήματα παρουσίαζαν μικροκεφαλία από τη γέννηση (συγγενής μικροκεφαλία) ενώ σε 15 από αυτούς η μικροκεφαλία παρουσιάστηκε μετά τη γέννηση, κυρίως μέσα στα δύο πρώτα χρόνια της ζωής, μια περίοδο η οποία χαρακτηρίζεται από ταχεία εγκεφαλική ανάπτυξη. Στους υπόλοιπους 7 ασθενείς η χρονική περίοδος εμφάνισης της μικρής περιμέτρου κεφαλής παραμένει άγνωστη. Τα σχεδόν παρόμοια ποσοστά συγγενούς και επίκτητης μικροκεφαλίας στους ασθενείς μας υποστηρίζουν την άποψη των συγγραφέων ότι η καλύτερη ταξινόμηση της μικροκεφαλίας είναι αυτή που την κατατάσσει σε συγγενή και επίκτητη και όχι η έως πρότινος ισχύουσα

κατάταξη της σε πρωτοπαθή (γενετικά αίτια) και δευτεροπαθή (περιβαλλοντικά αίτια), μιας και οι δυο κατηγορίες περιλαμβάνουν τόσο γενετικά όσο και περιβαλλοντικά αίτια.

Μελέτη δείγματος γενετικού υλικού από τους γονείς με τη μέθοδο array-CGH πραγματοποιήθηκε σε 10 μόνο ασθενείς. Στους υπόλοιπους 28 ασθενείς οι γονείς αρνήθηκαν περαιτέρω έλεγχο είτε λόγω του υψηλού κόστους της εξέτασης είτε διότι δεν επιθυμούσαν περαιτέρω διερεύνηση.

Τέλος, σε 22 από τους 60 ασθενείς με συνδρομική μικροκεφαλία αγνώστου αιτιολογίας (37,2%) η μέθοδος array-CGH δεν ανέδειξε παθολογικά ευρήματα. Η παρατήρηση αυτή είναι ενδεικτική του ότι κάποιου άλλου είδους γενετική διαταραχή, όπως ελλείμματα και διπλασιασμοί μικρότερα από τη μέση ευκρίνεια της μεθόδου array-CGH που εφαρμόστηκε (μέση ευκρίνεια 7-13 Kb), σημειακές μεταλλάξεις σε γονίδια που ευθύνονται για συνδρομικού τύπου μικροκεφαλία και επιγενετικοί μηχανισμοί μπορεί να ευθύνονται για τον παθολογικό φαινότυπο των ασθενών αυτών. Νεότερες μέθοδοι προηγμένης μοριακής διαγνωστικής όπως αυτή των Next Generation Sequencing θα συμβάλλουν περαιτέρω στην ανεύρεση της υποκείμενης διαταραχής.

Σε 1 (ασθενής Δ40) από τους 22 ασθενείς με φυσιολογικά ευρήματα από τα array-CGH, ο έλεγχος συνεχίστηκε με την προσπάθεια εύρεσης σημειακών μεταλλάξεων σε 32 γονίδια που έχουν ενοχοποιηθεί για συνδρομικού τύπου μικροκεφαλία καθώς και σε 10 γονίδια που σχετίζονται με την αυτοσωμική υπολειπόμενη μορφή μικροκεφαλίας (autosomal recessive primary microcephaly)(MCPH). Το αποτέλεσμα έδειξε την ύπαρξη ετερόζυγων *novel* μεταλλάξεων στα γονίδια *CDK5RAP2* και *MCPH1* τα οποία ευθύνονται για δύο από τους τύπους αυτοσωμικής υπολειπόμενης πρωτοπαθούς μικροκεφαλίας, MCPH3 και MCPH1 αντίστοιχα. Συνεπώς οι μεταλλάξεις αυτές δεν μπορούν να δικαιολογήσουν την κλινική εικόνα του ασθενούς μιας και το νόσημα είναι υπολειπόμενο και απαιτούνται μεταλλάξεις και στα δύο αλληλόμορφα για την εκδήλωσή του.

Τα αποτελέσματα της εφαρμογής της μεθόδου array-CGH σε 60 ασθενείς με συνδρομική μικροκεφαλία αγνώστου αιτιολογίας, εστάλησαν προς δημοσίευση στο επιστημονικό περιοδικό "Molecular Cytogenetics". Τίτλος άρθρου: "Application of

array comparative genomic hybridization in children with syndromic microcephaly of known etiology”. Το άρθρο βρίσκεται υπό ανασκόπηση.

Κατηγορία Ε

Ασθενείς με φαινότυπο συνδρομικής μικροκεφαλίας αγνώστου αιτιολογίας στους οποίους εφαρμόστηκε μέθοδος array-CGH με επίπεδο ευκρίνειας 1Mb και δεν ανιχνεύτηκαν παθολογικά ευρήματα.	5 ασθενείς (Ε1,Ε2,Ε3,Ε4,Ε5)
--	--------------------------------

Κατηγορία ΣΤ

Ασθενείς στους οποίους πραγματοποιήθηκε εκτενής εργαστηριακός έλεγχος (ο οποίος δεν περιελάμβανε array-CGH) και δεν τέθηκε οριστική διάγνωση	2 ασθενείς (ΣΤ1, ΣΤ2)
--	--------------------------

Κατηγορία Ζ

Ασθενείς με μεμονωμένη μικροκεφαλία, χωρίς κανένα άλλο κλινικό εύρημα	12 ασθενείς (Ζ1-12)
---	------------------------

Κατηγορία Η

Ασθενείς με δυσπλασίες-δυσραφίες εγκεφάλου	2 ασθενείς (Η1, Η2)
--	------------------------

Κατηγορία Θ

Ασθενείς με πρωτοπαθή κρανιοσυστοστέωση και μικροκεφαλία	1 ασθενής (Θ1)
--	-------------------

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1 Μοριακά ευρήματα

Η εισαγωγή της εφαρμογής του υψηλής ανάλυσης γενωμικού συγκριτικού υβριδισμού (array-CGH) σε ασθενείς με νοητική υστέρηση και/ή πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες, άνοιξε έναν καινούργιο δρόμο στη διερεύνηση του γονιδιώματος. Η τεχνική array-CGH είναι μια προηγμένη γενετική διαγνωστική τεχνολογία που επιτρέπει την αναγνώριση μικρών χρωμοσωμικών ανωμαλιών (μικροελλειμμάτων και μικροδιπλασιασμών), μικρότερων από 5-10 Mb, που δεν είναι δυνατόν να ανιχνευτούν με τον κλασικό καρυοτύπου. Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη μελέτη που περιγράφει την εφαρμογή των array-CGH σε παιδιά με συνδρομική μικροκεφαλία αγνώστου αιτιολογίας, με σκοπό την αναγνώριση:

α) σχετικών με την κλινική εικόνα του ασθενούς, παραλλαγών αριθμού αντιγράφων (copy number variations-CNVs) (μικροελλειμμάτων και μικροδιπλασιασμών) και

β) υποψήφιων γονιδίων, η απλοανεπάρκεια (ελαττωμένη δόση) των οποίων πιθανόν συμβάλλουν στη μη φυσιολογική ανάπτυξη του εγκεφάλου και την εκδήλωση μικροκεφαλίας.

Στα περισσότερα χρωμοσωμικά σύνδρομα μικροελλείμματος και μικροδιπλασιασμού, η συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου αποτελεί μια αρκετά δύσκολη διαδικασία. Αυτό οφείλεται:

α) Στο διαφορετικό μέγεθος των χρωμοσωμικών ανωμαλιών (άρα και στον αριθμό των γονιδίων που βρίσκονται σε απλοανεπάρκεια ή διπλασιασμό)

β) Στην διαφορετική κλινική εικόνα μεταξύ ασθενών με παρόμοιο μέγεθος μικροελλειμμάτων και μικροδιπλασιασμών (πιθανότατα λόγω ποικίλης εκφραστικότητας και μειωμένης διεισδυτικότητας)

γ) Στην πιθανή ύπαρξη υπολειπόμενων μεταλλάξεων στα γονίδια που βρίσκονται σε απλοανεπάρκεια

δ) Στην πιθανή συνύπαρξη μεταλλάξεων σε άλλα γονίδια (π.χ ρυθμιστικά και τροποποιητικά)

ε) Στη συνύπαρξη πολλαπλών μικροελλειμμάτων και μικροδιπλασιασμών

στ) Στην επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων

Παρόλα αυτά, ελλείμματα σε ορισμένες κατηγορίες γονιδίων που εκφράζονται στον ανθρώπινο εγκέφαλο στα πρώιμα ή σε μεταγενέστερα στάδια της ανάπτυξης, έχουν ενοχοποιηθεί για την υπολειπόμενη ανάπτυξη του εγκεφάλου λόγω διαταραχής στη νευρογένεση. Αποτέλεσμα αυτού είναι η πρόωρη σύγκλιση των ραφών του κρανίου και την κλινική εκδήλωση μικροκεφαλίας. Τέτοιες κατηγορίες γονιδίων είναι αυτές που εμπλέκονται στις παρακάτω κυτταρικές δομές και λειτουργίες:

- 1) Σε μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA ³
- 2) Σε μηχανισμού απόκρισης στην καταστροφή του DNA ³
- 3) Σε μηχανισμούς αντιγραφής και διπλασιασμού του DNA ³
- 4) Σε μηχανισμούς ορθής εξέλιξης της S φάσης του κυτταρικού κύκλου ³
- 5) Στη σωστή δομή του δικτύου των μικροσωληνίσκων, των κεντριολίων και των κεντροσωμάτων ³
- 6) Στη ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων απαραίτητων για την ανάπτυξη του εγκεφάλου (ρυθμιστικά γονίδια) ⁷⁴
- 7) Στη τροποποίηση των ιστονών όπως ακετυλοτρανσφεράσες και μεθυλοτρανσφεράσες των ιστονών (τροποποιητικά γονίδια-επιγενετικοί μηχανισμοί) ⁷⁴
- 8) Στο μονοπάτι μεταγωγής σήματος μέσω GTP-ασών ⁷⁴
- 9) Στην ορθή νευρωνική μετανάστευση ⁷⁴
- 10) Στην ορθή νευρωνική διαφοροποίηση ⁷⁴
- 11) Στην σωστή έκφυση των νευριτών ⁷⁴

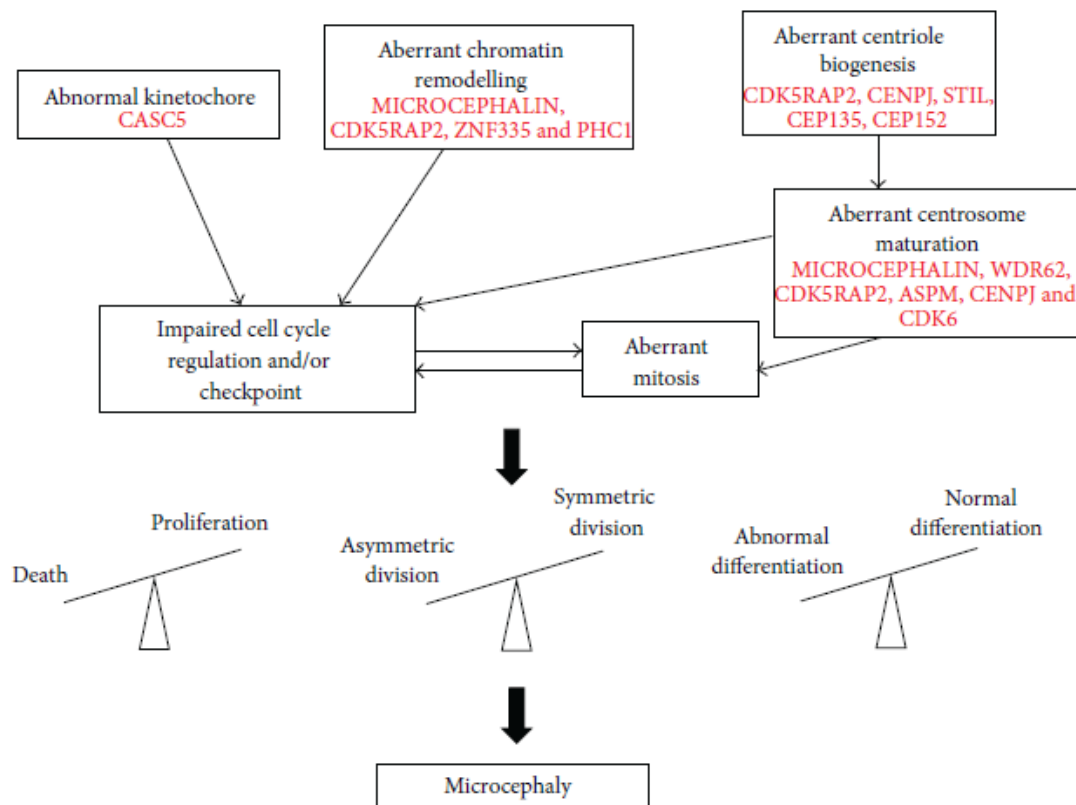
12) Στη σωστή δομή των συνάψεων ⁷⁴

Γονίδια που έχουν συνδεθεί με εκ γενετής συνδρομική μορφή μικροκεφαλίας είναι τα ακόλουθα:

ARFGEF2, ATR, CASK, CDC6, ORC1, ORC4, ORC6, CEP63, NDE1, PCNT, PNKP, SLC25A19, STAMBP, ZEB2.

Πρόσφατα οι Barbelanne et al., 2014 ⁷⁵ ανακοίνωσαν τον παθολογικό μηχανισμό στον οποίο πιθανότητα οφείλεται η συγγενής μικροκεφαλία που χαρακτηρίζει την εκ γενετής μη συνδρομική αυτοσωμική υπολειπόμενη πρωτοπαθή μικροκεφαλία (MCPH). Τα πρωτεϊνικά προϊόντα των 12 γονιδίων (*MCPH1, WDR62, CDK5RAP2, CASC5, ASPM, CENPJ, STIL, CEP135, CEP152, ZNF335, PHC1, CDK6*) που ευθύνονται για την ανάπτυξη της νόσου, έχει αποδειχτεί ότι εκφράζονται σε μεγάλο ποσοστό στα νευροεπιθηλιακά και στα νευροπρογονικά κύτταρα κατά τη διάρκεια της πρώιμης ανάπτυξης του εγκεφάλου. Το μέγεθος του εγκεφάλου κατά τη γέννηση εξαρτάται πρωτίστως από την ικανότητα των νευροπρογονικών κυττάρων να πολλαπλασιάζονται και να αυτοανανεώνονται. Όσον αφορά τη κυτταρική διαίρεση, αυτή μπορεί να είναι είτε συμμετρική είτε ασύμμετρη. Η συμμετρική διαίρεση ενός νευροπρογονικού κυττάρου έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή δύο πανομοιότυπων νευροπρογονικών κυττάρων (αυξάνοντας έτσι την πηγή των προγονικών κυττάρων). Η ασύμμετρη κυτταρική διαίρεση οδηγεί στην παραγωγή ενός νευροπρογονικού κυττάρου και ενός πρόδρομου κυττάρου το οποίο τελικά μεταναστεύει και διαφοροποιείται σε νευρώνες. Έτσι, οτιδήποτε μπορεί να διαταράξει την ισορροπία μεταξύ συμμετρικής και ασύμμετρης κυτταρικής διαίρεσης, μπορεί να ελαττώσει δραστικά τον αριθμό τόσο των νευροπρογονικών όσο και των νευρωνικών κυττάρων, οδηγώντας σε ελαττωμένο μέγεθος εγκεφάλου και μικροκεφαλία. Αν και ο μηχανισμός αυτός είναι αρκετά ελκυστικός, πιστεύεται ότι ελλείμματα σε επιπρόσθετους μηχανισμούς όπως διαταραχές στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, αυξημένη κυτταρική απόπτωση και θάνατο, μη φυσιολογική

νευρωνική μετανάστευση ή/και διαφοροποίηση, μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ανάπτυξη του εγκεφάλου και να οδηγήσει σε μικρό μέγεθος κεφαλής. Αυτό συμβαίνει διότι όπως είναι γνωστό οι πρωτεΐνες που ευθύνονται για τη εμφάνιση της MCPH εξυπηρετούν πολλαπλές κυτταρικές λειτουργίες (Εικ.24).

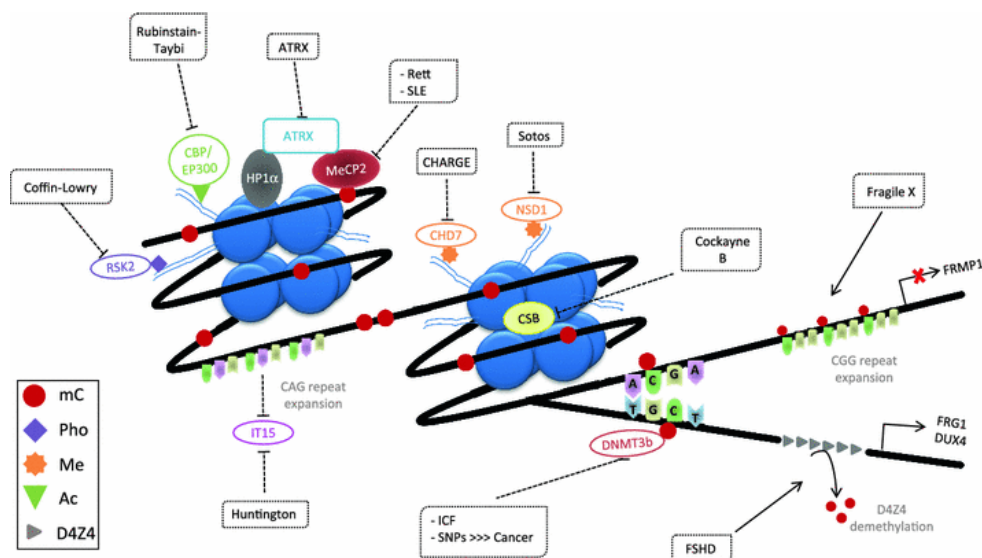


Εικ.24 Σχηματική αναπαράσταση των κυτταρικών λειτουργιών που οδηγούν σε ελλιπή νευρογένεση και μικροκεφαλία. **Barbelanne et al. Biomed Res Int. 2014**

Είναι επίσης σημαντικό να τονιστεί ότι ελλείμματα που διαταράσσουν τη ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων απαραίτητων για την ανάπτυξη του εγκεφάλου, τη τροποποίηση των ιστονών, το μονοπάτι μεταγωγής σήματος μέσω GTP-ασών, την ορθή νευρωνική μετανάστευση, την ορθή νευρωνική διαφοροποίηση, την σωστή έκφυση των νευριτών και τη σωστή δομή των συνάψεων, έχουν ενοχοποιηθεί κυρίως για την εμφάνιση συνδρομικής μικροκεφαλίας μετά τη γέννηση (επίκτητη μικροκεφαλία) ⁷⁴.

Τέτοια γονίδια είναι τα ακόλουθα: *CDKL5*, *MECP2*, *FOXG1*, *ATRX*, *MED17*, *RAB18*, *RAB3GAP1*, *RAB3GAP2*, *SLC2A1*, *SLC9A6*, *TSEN34*, *TSEN54*, *UBE3A*, *TCF4*, *NRXN1*, *CNTNAP2*, *CREBBP*, *EP300*, *ERCC6*, *ERCC8*.

Στην παρακάτω εικόνα (Εικ.25) φαίνονται σχηματικά γενετικά νοσήματα τα οποία προκαλούνται από μεταλλάξεις σε γονίδια των οποίων οι κωδικοποιούσες πρωτεΐνες λαμβάνουν μέρος σε επιγενετικούς μηχανισμούς, όπως η τροποποίηση των ιστονών και η αναδιάταξη της χρωματίνης και σχετίζονται με επίκτητη μικροκεφαλία (σύνδρομο Rubinstein Taybi, ATRX, RETT, Charge, Coffin Lowry και Cockayne).



Εικ. 25 Huidobro C, et al., 2013 The role of genetics in the establishment and maintenance of the epigenome

Στη συνέχεια αναφέρονται ανά ασθενή τα γονίδια που είτε λόγω της υψηλής έκφρασής τους στον αναπτυσσόμενο εγκέφαλο στα διάφορα αναπτυξιακά στάδια, είτε λόγω του μηχανισμού δράσης και της λειτουργίας τους πιθανόν εμπλέκονται και συμβάλλουν στην ανεπαρκή ανάπτυξη του εγκεφάλου και την κλινική εκδήλωση μικροκεφαλίας (Πιν.7). Ένας αριθμός γονιδίων πιθανά υπεύθυνων για πρόκληση μικροκεφαλίας έχει ήδη αναφερθεί από τους συγγραφείς (μαύρο χρώμα). Τα υπόλοιπα γονίδια προτείνονται ως πιθανά υπεύθυνα για την πρόκληση μικροκεφαλίας πρώτη φορά στη παρούσα μελέτη.

Πίνακας 7. Γονίδια, η απλοανεπάρκεια των οποίων πιθανόν συμβάλλει στην εκδήλωση μικροκεφαλίας

Γονίδιο	Χρωμοσωμικής περιοχή	Πρωτεϊνική λειτουργία	Νο ασθενούς/ών
WHSC1	4p16.3	Τριμεθυλοτρανσφεράση των ιστονών η οποία εκφράζεται στα πρώιμα στάδια της ανάπτυξης και ρυθμίζει τη γονιδιακή έκφραση. Σημαντικό ρόλο στην απάντηση στην καταστροφή του DNA καθώς και στο διπλασιασμό αυτού ^{2,76}	Δ8, Δ16, Δ22, Δ32
WHSC2	4p16.3	Η κωδικοποιούσα πρωτεΐνη ρυθμίζει θετικά και αρνητικά τη γονιδιακή έκφραση. Επίσης είναι σημαντική για τη σύνθεση του DNA και τη πρόοδο της S φάσης του κυτταρικού κύκλου ³ .	Δ8, Δ16, Δ22, Δ32
SLBP	4p16.3	Πρωτεΐνη υπεύθυνη για τη ρύθμιση της σύνθεσης των ιστονών και τη διαθεσιμότητά τους κατά τη διάρκεια της S φάσης του κυτταρικού κύκλου. Σημαντική για το διπλασιασμό του DNA ³ .	Δ8, Δ16, Δ22, Δ32
DOCK8	9p24.3	Η πρωτεΐνη αλληλεπιδρά με τις Rho-GTP άσες.	1Δ, Δ3, Δ24
ARHGEF7	13q34	Πρωτεΐνη που ενεργοποιεί τις Rho-GTP άσες ⁷⁷	Δ3, Δ37
FREM1	9p22.3	Ο διπλασιασμός του γονιδίου έχει συσχετιστεί με τις κρανιοπροσωπικές ανωμαλίες που συνδέονται με το σύνδρομο 9p διπλασιασμού.	Δ1, Δ3
NRXN2	11;13.1	Το γονίδιο αυτό αναφέρεται ότι συμβάλλει στην οργάνωση των προσυναπτικών απολήξεων των νευρώνων	Δ5
RAC3	17q25.3	Πρόκειται για Rho-GTP-άση η οποία εμπλέκεται στη δυναμική οργάνωση των μικροσωληνίσκων του κυτταροσκελετού, στην ενεργοποίηση των κινασών και των έλεγχο της κυτταρικής ανάπτυξης.	Δ2

<i>FO XK2</i>	17q25.3	Η κωδικοποιημένη πρωτεΐνη είναι ένας Forkhead μεταγραφικός παράγοντας ο οποίος εκφράζεται στο αναπτυσσόμενο κεντρικό νευρικό σύστημα και είναι σημαντικός για τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη κυτταρική επιβίωση ⁷⁹ .	Δ2
<i>RBFOX1 (FOX1) (A2BP1)</i>	16p13.2	Το γονίδιο κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που συνδέεται με το RNA και είναι υπεύθυνη για τη ρύθμιση του ματίσματος των pre-mRNA αρκετών σημαντικών αναπτυξιακών γονιδίων που εκφράζονται στους νευρώνες κατά τη διάρκεια της πρώιμης νευρωνικής ανάπτυξης ⁸⁰ .	Δ4
<i>FOXP1</i>	3p13	Forkhead μεταγραφικός παράγοντας της P υποοικογένειας ο οποίος εμπλέκεται στην πρώιμη νευρωνική ανάπτυξη	Δ6
<i>EHMT1</i>	9q34.3	Μεθυλοτρανσφεράση των ιστονών η οποία καταστέλλει τη μεταγραφή	Δ6
<i>RE(RE)</i>	1p36.23	Η κωδικοποιημένη πρωτεΐνη ανήκει στην οικογένεια των ατροφινών (atrophin family) που περιέχουν επαναλήψεις του διπεπτιδίου αργινίνης-γλουταμινικού οξέος. Έλλειμμα του RERE γονιδίου οδηγεί σε μειωμένο όγκο και βάρος εγκεφάλου ⁷⁸	Δ29
<i>SKI</i>	1p36.32	Αποτελεί ρυθμιστή της μεταγραφής ο οποίος εκφράζεται δυναμικά κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του φλοιού του εγκεφάλου. Ο φαινότυπος των φλοιών του εγκεφάλου στους οποίους λείπει το SKI γονίδιο περιλαμβάνει προβλήματα στη νευρογένεση, στη σωστή εξειδίκευση των νευρώνων και αλλοιώσεις στο κυτταρικό κύκλο των νευρωνικών προγονικών κυττάρων.	Δ9, Δ18, Δ29, Δ31
<i>CHD5</i>	1p36.31	Η πρωτεΐνη που κωδικοποιείται	Δ18, Δ29

		παίζει σημαντικό ρόλο στην αναδιάταξη της χρωματίνης και στη μεταγραφή των γονιδίων Η πρωτεΐνη παρουσιάζει υψηλή έκφραση στους νευρώνες.	
<i>PLCH2</i>	1p36.33	Προάγει την κυτταρική κινητοποίηση του ασβεστίου στον εγκέφαλο μετά τη γέννηση, συνεισφέροντας στην ανάπτυξη των νευροαξόνων και το σχηματισμό των συνάψεων.	Δ9, Δ18, Δ29
<i>ZDHHC11</i>	15p13.3	Προάγει την παλμιτοποίηση της Ncdn πρωτεΐνης, μιας πρωτεΐνης που ρυθμίζει την επιμήκυνση των νευριτών (neurite outgrowth) και την πλαστικότητα των συνάψεων.	Δ33
<i>ARHGAP11B</i>	15q13.2	Η πρωτεΐνη ενεργοποιεί τις Rho-GTPase και κατέχει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των νευρώνων.	Δ13
<i>MAP1LC3B</i>	16q24.2	Πρόκειται για μία πρωτεΐνη που συνδέεται με τους μικροσωληνίσκους και παίζει καθοριστικό ρόλο στη σύνδεση των μικροσωληνίσκων (microtubule assembly). Ως εκ τούτου είναι σημαντική για τη νευρογένεση.	Δ20
<i>FBXO31</i>	16q24.2	Πρόκειται για μία F-box πρωτεΐνη που ρυθμίζει την νευρωνική ανάπτυξη μέσω ποικίλων μηχανισμών όπως η νευρωνική μορφογένεση, η αξονική ακεραιότητα, η νευρωνική μετανάστευση και η επιμήκυνση των δενδριτών (dendrite growth) στον αναπτυσσόμενο παρεγκεφαλιδικό φλοιό.	Δ20
<i>ASTN1</i>	1q25.2	Μόριο νευρωνικής συγκόλλησης, σημαντικό για την καθοδηγούμενη από τα νευρογλοιακά κύτταρα μετανάστευση των μεταμιτωτικών νευροβλαστών σε φλοιικές περιοχές του αναπτυσσόμενου εγκεφάλου.	Δ28
<i>EFNA2</i>	19p13.3	Ρύθμιση της καθοδήγησης των κλώνων ανάπτυξης των	Δ19

		νευραξόνων (axon growth cones) στον αναπτυσσόμενο εγκέφαλο με τη δέσμευση με τους “erhrin” υποδοχείς μέσω άμεσης κυτταρο-κυτταρικής αλληλεπίδρασης	
<i>RAB36</i>	22q11.2	Πρόκειται για μία Ras-σχετιζόμενη GTP-άση (Ras-related GTPase) που είναι ένας από τους βασικούς διαμεσολαβητές για την επιμήκυνση των νευριτών μέσω του RAB καταρράκτη.	Δ22
<i>TCF4</i>	18q21.1	Μεταγραφικός παράγοντας με σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος.	Δ36
<i>RANBP1</i>	22q11.2	Ran (Ras σχετική πυρηνική πρωτεΐνη)-GTP-άση συνδετική πρωτεΐνη η οποία συμμετέχει στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και στη νευρογένεση.	Δ34

Με μαύρο χρώμα βρίσκονται τα γονίδια τα οποία σε προηγούμενες αναφορές έχει ήδη προταθεί ότι παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση μικροκεφαλίας.

5.2 Συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου

Όπως προαναφέρθηκε, στον πίνακα 7 αναγράφονται τα γονίδια, η απλοανεπάρκεια των οποίων πιθανόν συμβάλλει στην εκδήλωση της μικροκεφαλίας στους ασθενείς που συμπεριλήφθησαν στην παρούσα διδακτορική διατριβή. Με μαύρο χρώμα αναγράφονται τα γονίδια **WHSC1**, **WHSC2**, **SLBP**, **ARHGEF7**, **FREM1**, **EHMT1**, **TCF4**, **RERE**, **RANBP1**, τα οποία σε προηγούμενες αναφορές έχουν ήδη προταθεί ότι παίζουν ένα σημαντικό ρόλο και συμβάλλουν στην εκδήλωση μικροκεφαλίας.

Το γονίδιο **WHSC1** κωδικοποιεί την Ιστονίνη H3 λυσίνη 36 τριμεθυλοτρανσφεραση των ιστονών και βρίσκεται στην κριτική περιοχή του συνδρόμου Wolf Hirschhorn. Εκφράζεται κατά τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης και ρυθμίζει τη γονιδιακή έκφραση με το να συνδέεται στο DNA και να καταστέλλει τη μεταγραφή. Οι Hajdu et al., 2011⁷⁶ υποστήριξαν ότι η συγκεκριμένη πρωτεΐνη παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στο διπλασιασμό του DNA όσο και στην απάντηση σε τυχόν βλάβη αυτού. Υποστήριξαν επίσης ότι τα αναπτυξιολογικά και νευρολογικά προβλήματα που

συνδέονται με το συνδρόμο Wolf Hirschhorn προφανώς οφείλονται στα ελλείμματα που παρουσιάζονται στις παραπάνω λειτουργίες. Οι Okamoto et al., 2013² ανακοίνωσαν περίπτωση ασθενούς με σύνδρομο Wolf Hirschhorn που έφερε ένα από τα μικρότερα ελλείμματα στη χρωμοσωμική περιοχή 4p16.3 μεγέθους 109 Kb. Το έλλειμμα περιελάμβανε τα γονίδια *FGFR3*, *LETM1* και το 5' άκρο του *WHSC1* γονιδίου το οποίο οδηγεί σε απλοανεπάρκεια της συγκεκριμένης πρωτεΐνης. Και τα τρία γονίδια βρίσκονται στη κριτική περιοχή του συνδρόμου. Ο ασθενής παρουσίαζε κοντό ανάστημα, μικροκεφαλία, χαρακτηριστικά φαινοτυπικά γνωρίσματα και ήπια ψυχοκινητική καθυστέρηση. Οι συγγραφείς υπέθεσαν ότι η απλοανεπάρκεια του *WHSC1* γονιδίου είναι κατά πάσα πιθανότητα υπεύθυνη για την εμφάνιση της μικροκεφαλίας και των φαινοτυπικών γνωρισμάτων.

Όσον αφορά τα γονίδια *WHSC2* και *SLBP*, η απλοανεπάρκεια του καθενός ξεχωριστά ή και των δύο μαζί στο σύνδρομο Wolf Hirschhorn, έχει συσχετιστεί με μειωμένη εναπόθεση ιστονών και αναδιαμόρφωση αυτών κατά τη διάρκεια της S φάσης του κυτταρικού κύκλου, με αποτέλεσμα ελαττωμένη DNA σύνθεση και μη αποτελεσματική αντιγραφή αυτού. Οι διαταραχές αυτές οδηγούν σε ελαττωμένη νευρογένεση⁷⁵. Σύμφωνα με τους Kerzendorfer C et al., 2013³ η απλοανεπάρκεια των *WHSC2* και *SLBP* γονιδίων συμβάλλει μαζί με την απλοανεπάρκεια του *WHSC1* γονιδίου (βασικού υποψήφιου γονιδίου) στην εμφάνιση μικροκεφαλίας αλλά και άλλων κύριων γνωρισμάτων του συνδρόμου.

Ελλείμματα στη χρωμοσωμική περιοχή 13q33-q34 είναι σπάνια και κλινικά χαρακτηρίζονται από μικροκεφαλία, νοητική υστέρηση και χαρακτηριστικό προσωπίο. Οι άρρενες ασθενείς συχνά παρουσιάζουν και ανωμαλίες των γεννητικών οργάνων. Οι Walczak Sztulraj et al., 2008 περιέγραψαν τέσσερις ασθενείς με ελλείμματα στη περιοχή 13q33-q34 και μικροκεφαλία. Η αναγνώριση των ελλειμμάτων έγινε με τη μέθοδο array-CGH και βρέθηκε η κοινή και για τους τέσσερις ασθενείς επικαλυπτόμενη περιοχή (overlapping region). Οι συγγραφείς πρότειναν το γονίδιο *ARHGEF7* το οποίο βρίσκεται στην επικαλυπτόμενη περιοχή ως υπεύθυνο για την εκδήλωση της μικροκεφαλίας και της νοητικής υστέρησης στους ασθενείς με ελλείμματα στη περιοχή 13q33-q34. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί

μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη που ενεργοποιεί την οικογένεια των Ras-like Rho GTP ασών ⁷⁷.

Όσον αφορά το μικρό μέγεθος του εγκεφάλου και την ανάπτυξη μικροκεφαλίας στους ασθενείς με 1p36 σύνδρομο μικροελλείμματος, ο Kim και οι συνεργάτες του το 2013 υποστήριξαν ότι το γονίδιο **REFE** ή (**RE**) το οποίο χαρτογραφείται στη χρωμοσωμική μπάντα 1p36.23 (εγγύς 1p36 χρωμοσωμική περιοχή) αποτελεί ένα σημαντικό υποψήφιο γονίδιο. Συγκεκριμένα οι ανωτέρω συγγραφείς απέδειξαν ότι στα ποντίκια στα οποία έλλειπε μερικώς η πρωτεΐνη *REFE*, το μέγεθος του εγκεφάλου και της παρεγκεφαλίδας ήταν σημαντικά μικρότερο συγκριτικά με τα *wild type* ποντίκια στα οποία και τα δύο γονίδια REFE ήταν παρόντα ⁷⁸.

Πρόσφατα οι Paronett et al., 2014 χαρακτήρισαν το **RANBP1** γονίδιο ως το υπεύθυνο γονίδιο για τη μικροκεφαλία που συναντάμε στο σύνδρομο DiGeorge καθώς και στο ευρύτερο 22q11.2 σύνδρομο ελλείμματος. Πρόκειται για μία Ran GTP-άση συνδετική πρωτεΐνη που εμπλέκεται στην πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά και παρουσιάζει πολύ υψηλή έκφραση στον αναπτυσσόμενο εγκέφαλο. Το έλλειμμά της συμβάλλει σε μη φυσιολογικό πολλαπλασιασμό των πρόδρομων κυττάρων του εγκεφαλικού φλοιού επηρεάζοντας σημαντικά τη νευρογένεση ⁸¹.

Τα υπόλοιπα γονίδια που αναφέρονται στον πίνακα 1b, προτείνονται ως πιθανά υπεύθυνα για την πρόκληση μικροκεφαλίας πρώτη φορά στη παρούσα μελέτη. Κάποια από αυτά παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον και θα περιγραφούν με περισσότερες λεπτομέρειες στις ενδιαφέρουσες περιπτώσεις που ακολουθούν.

5.3 Περιπτώσεις ασθενών με συνδρομική μικροκεφαλία και παθολογικά CNVs στα array-CGH

5.3.1 Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών όπου ανιχνεύτηκαν μικροελλείμματα ή/και μικροδιπλασιασμοί που συνδέονται με φαινότυπο συνδρομικής μικροκεφαλίας.

Ασθενής Δ7

Η ασθενής Δ7 εξετάστηκε πρώτη φορά στα ιατρεία της κλινικής γενετικής του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής ΕΚΠΑ σε ηλικία 28 μηνών λόγω μικροκεφαλίας, καθυστέρησης της ανάπτυξης, σοβαρής ΨΚΚ και αυτιστικών στοιχείων συμπεριφοράς.

Πρόκειται για το πρώτο παιδί δύο φαινοτυπικά υγιών γονέων που δεν φέρουν καμία συγγένεια μεταξύ τους. Γεννήθηκε μετά από 39 εβδομάδες κύησης με καισαρική τομή. Το βάρος γέννησης ήταν 3.140 gr (25^η -50^η ΕΘ), το ύψος της ήταν 49 cm (25^η -50^η ΕΘ) ενώ η περίμετρος κεφαλής ήταν οριακή 32 cm (3^η ΕΘ). Ο προγραμματισμένος προγεννητικός έλεγχος ο οποίος περιελάμβανε και κλασσικό καρυότυπο χρωμοσωμάτων του εμβρύου (αμνιοπαρακέντηση λόγω ηλικίας της μητέρας >35 ετών) δεν ανέδειξε ουδέν παθολογικό εύρημα.

Μετά τη γέννηση, το νεογνό παρουσίασε υποτονία και διαταραχές σίτισης λόγω σχιστίας στη μαλακή υπερώα η οποία και αποκαταστάθηκε χειρουργικά τη 15^η ημέρα ζωής.

Η ασθενής σε ηλικία 28 μηνών παρουσίαζε σαφή καθυστέρηση της ανάπτυξης με βάρος σώματος 9 kg (<3^η ΕΘ), μήκος σώματος 87 cm (10^η -25^η ΕΘ) και περίμετρο κεφαλής 46cm (3^η ΕΘ). Η κλινική εξέταση αποκάλυψε γενικευμένη υποτονία με σαφή ψυχοκινητική καθυστέρηση και αυτιστική συμπεριφορά. Η ασθενής δεν περπατούσε, αλλά μπορούσε να στέκεται με υποστήριξη. Δεν μιλούσε και δεν έλεγε μεμονωμένες λέξεις. Ωστόσο, διαπιστώθηκε ότι αντιλαμβάνονταν απλές εντολές. Διαπιστώθηκε αδυναμία στην κατάποση (σίτιση μόνο με αλεσμένες τροφές) και

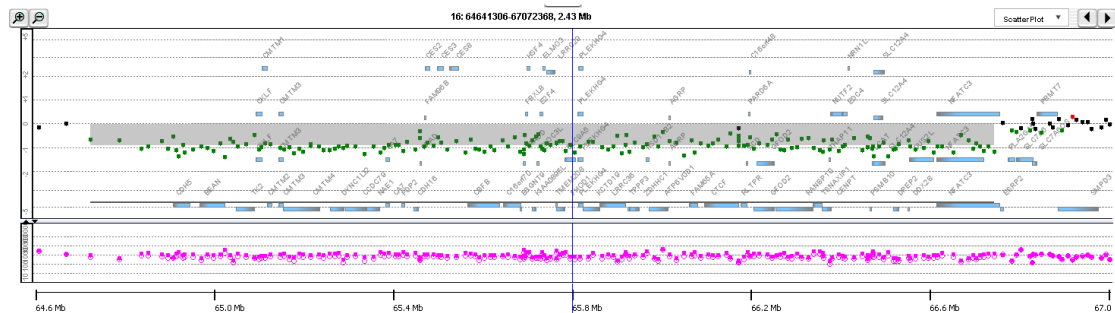
σοβαρή δυσκοιλιότητα με μεγάλη διάταση κοιλίας. Η εξέταση του καρδιαγγειακού του αναπνευστικού και του ουροποιητικού συστήματος δεν ανέδειξε παθολογικά ευρήματα. Ο αιματολογικός και ο βιοχημικός έλεγχος ήταν φυσιολογικός ενώ ο βιοχημικός έλεγχος ανέδειξε χαμηλή τιμή HDL χοληστερόλη (HDL= 27 mg/dl) και υπερτριγλυκεριδαίμια (τριγλυκερίδια ορού=164 mg/dl). Η μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου (MRI) δεν αποκάλυψε παθολογική ανατομία στο ανώτερο κεντρικό νευρικό σύστημα.

Η επανεξέταση της ασθενούς σε ηλικία 3 ετών έδειξε μη βελτίωση της κλινικής της εικόνας. Το βάρος της ήταν σταθερό στα 9 Kgr (<< 3^η ΕΘ), το ύψος στα 89cm (10^η ΕΘ) και η περίμετρος κεφαλής στα 47 cm (<3^η ΕΘ). Δεν περπατούσε, δεν μιλούσε και παρουσίαζε έντονα στερεοτυπικές κινήσεις,

Πραγματοποιήθηκε μοριακή ανάλυση των χρωμοσωμάτων (array-CGH) με μέση ανάλυση 8 kb η οποία αποκάλυψε την ύπαρξη *de novo* ελλείμματος μεγέθους 2.03 Mb στη χρωμοσωμική περιοχή 16q21q22.1 μεταξύ των θέσεων 64772843→66806006 (human genome build 18) (Εικ.26).

Το σύνδρομο 16q21q22.1 μικροελλείμματος (interstitial 16q21q22.1 microdeletion syndrome) είναι ένα πολύ σπάνιο σύνδρομο (περίπου 30 δημοσιευμένες περιπτώσεις) το οποίο χαρακτηρίζεται από ορισμένα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά που είναι κοινά στους περισσότερους ασθενείς, όπως μικροκεφαλία, καθυστέρηση ανάπτυξης, ΨΚΚ/ΝΥ και ιδιόμορφα μορφολογικά γνωρίσματα όπως μεγάλη πρόσθια πηγγή, ψηλό προέχον μέτωπο, υπερτελορισμό, μικρογναθία και χαμηλή πρόσφηση ώτων. Συγγενείς καρδιοπάθειες έχουν παρατηρηθεί σε περισσότερους από το 50% των ασθενών, ενώ ανωμαλίες από το γαστρεντερικό και το ουροποιητικό έχουν καταγραφεί σε μικρότερα ποσοστά ⁹⁰. Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, μέχρι στιγμής υπάρχουν 4 δημοσιευμένες περιπτώσεις ασθενών με καλά χαρακτηρισμένα (με array-CGH) επικαλυπτόμενα ελλείμματα στις περιοχές 16q21q22.1 και 16q22.1 ^{91, 92}. Και οι 4 αυτοί ασθενείς παρουσιάζουν μικροκεφαλία. Συνεπώς πιθανολογούμε ότι στη περιοχή 16q22.1 η οποία είναι και περιοχή πλούσια σε γονίδια, πιθανότατα υπάρχει κάποιο γονίδιο του οποίου η απλοανεπάρκεια (dosage sensitive gene), συμβάλλει στην υποανάπτυξη του εγκεφάλου και την εκδήλωση μικροκεφαλίας.

Έτσι, κάθε φορά όπου ένας ασθενής συνδυάζει μικροκεφαλία, υποτονία, αδυναμία αύξησης, σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ και ελάσσονα δυσμορφικά χαρακτηριστικά, το 16q21q22.1 σύνδρομο ελλείμματος πρέπει πάντα να μπαίνει στη διαφορική μας διάγνωση. Λόγω της σπανιότητας του συνδρόμου, η συγκεκριμένη περίπτωση χαρακτηρίστηκε ως ενδιαφέρουσα και δημοσιεύτηκε στο European Journal of Paediatric Neurology το 2013⁹¹.



Εικ.26 Έλλειμμα μεγέθους 2.03 Mb στη χρωμοσωμική περιοχή 16q21q22.1 μεταξύ των θέσεων 64772843 →66806006 (human genome build 18)

Ασθενής Δ36

Η ασθενής Δ36 πάσχει από σύνδρομο DiGeorge και φέρει επίσης τρία CNVs, δύο εκ των οποίων περιέχουν γονίδια που εμπλέκονται σε νευροαναπτυξιακές διαταραχές και πιθανόν συμβάλλουν στη βαρύτητα του φαινοτύπου.

Η ασθενής γεννήθηκε με φυσιολογικό τοκετό μετά από 39 εβδομάδες κύησης με βάρος γέννησης 2.800gr (25^η-50^η ΕΘ) και περίμετρο κεφαλή 32cm (3^η ΕΘ). Εξετάστηκε πρώτη φορά στα εξωτερικά ιατρεία της κλινικής γενετικής του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής ΕΚΠΑ σε ηλικία 5 ετών όπου η ασθενής παρουσίαζε σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ, μικροκεφαλία (ΠΚ <3^η ΕΘ), ιδιόμορφα εξωτερικά γνωρίσματα όπως: γαμψή μύτη με καθίζηση της ρίζας αυτής, θολωτή υπερώα, μικρογοναθία, χαμηλά ώτα με επιπέδωση του λοβίου και tapering fingers, καθώς και πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες, όπως συγγενή καρδιοπάθεια (ευρεία δευτερογενή μεσοκοιλιακή επικοινωνία), μικροφθαλμία με συγγενή καταρράκτη άμφω και αρκετές σκελετικές ανωμαλίες. Η νευρολογική εξέταση αποκάλυψε σημαντική

υπερτονία άκρων. Ο ανοσολογικός έλεγχος αποκάλυψε χαμηλά Τ λεμφοκύτταρα ενώ ο ακοολογικός έλεγχος και η MRI εγκεφάλου ήταν φυσιολογικά.

Ο γενετικός έλεγχος με την τεχνική του φθορίζοντος *in situ* υβριδισμού (FISH) αποκάλυψε έλλειμμα στη περιοχή 22q11.2 ενδεικτικό συνδρόμου DiGeorge. Αρχικά θεωρήθηκε ότι η ασθενής πάσχει από τη βαρύτερη μορφή του συνδρόμου DiGeorge, με πλήρη έκφραση όλων των χαρακτηριστικών κλινικών γνωρισμάτων του. Λόγω όμως της βαρύτητας της κλινική εικόνας της ασθενούς πραγματοποιήθηκε περαιτέρω διερεύνηση των χρωμοσωμάτων με μοριακό καρύοτυπο (array-CGH) ο οποίος εκτός από το έλλειμμα μεγέθους 2.5 Mb στην περιοχή 22q11.21 (υπεύθυνο για το σύνδρομο DiGeorge) αποκάλυψε και τρεις επιπλέον χρωμοσωμικές παραλλαγές (CNV). Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε μικροδιπλασιασμός μεγέθους 0.024 Mb στην περιοχή 11q23.3 η οποία περιέχει το γονίδιο *CADM1* (OMIM#605685) το οποίο και έχει συσχετιστεί με νευροαναπτυξιακές διαταραχές και κυρίως με αυτές που ανήκουν στο φάσμα του αυτισμού⁹³. Παρατηρήθηκε επίσης έλλειμμα μεγέθους 0.074 Mb στην περιοχή 14q23.3 η οποία περιέχει τα γονίδια *FNTB* (OMIM#134636) και *MAX* (OMIM#154959). Έλλειψη του γονιδίου *FNTB* έχει συσχετιστεί με δερματικές βλάβες και αλωπεκία⁹⁴, ενώ μεταλλάξεις στο γονίδιο *MAX* έχουν συσχετιστεί με κληρονομικό φαιοχρωμοκύττωμα⁹⁵. Τέλος, διαπιστώθηκε και η ύπαρξη ελλείμματος 0.101 Mb στην περιοχή 14q23.3, παρακείμενα του ανωτέρω ελλείμματος, περιέχει το γονίδιο *GRHN* (OMIM#603930) του οποίου το έλλειμμα έχει συσχετιστεί με νευροαναπτυξιακές διαταραχές⁹⁶ και επιληψία⁹⁷ και πιθανόν συμβάλλει στη βαρύτητα του φαινοτύπου της ασθενούς. Μεταλλάξεις του συγκεκριμένου γονιδίου έχουν συσχετιστεί με μια νευρολογική κατάσταση γνωστή ως υπερεκπληξία⁹⁸.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι το έλλειμμα στο 22q11.2 περιέχει το γονίδιο *RANBP1* (OMIM#601180) το οποίο βρίσκεται στην κριτική περιοχή του DiGeorge/22q11.2 σύνδρομο ελλείμματος και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που συνδέεται με μία Ran πρωτεΐνη και έχει λειτουργία GTP ase (μεταβολίζει το GTP). Το ανωτέρω σύμπλοκο συμμετέχει στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου με το να ρυθμίζει τη μεταφορά πρωτεϊνών και νουκλειικών οξέων από το κυτταρόπλασμα

στον πυρήνα. Συνεπώς το γονίδιο αυτό πιθανότατα συμμετέχει στη νευρογένεση και το έλλειμμά του έχει χαρακτηριστεί ως υπεύθυνο για τη μικροκεφαλία που συνδέεται με το σύνδρομο DiGeorge/22q11.2 σύνδρομο ελλείμματος⁹⁹. Στο έλλειμμα συμπεριλαμβάνεται και το *TBX1* γονίδιο, έλλειμμα του οποίου θεωρείται υπεύθυνο για τη συγγενή καρδιοπάθεια που συνδέεται με το σύνδρομο¹⁰⁰.

Η ασθενής απεβίωσε σε ηλικία περίπου 7 ετών.

5.3.2 Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών στους οποίους τα array-CGH ανέδειξαν CNVs τα οποία δεν έχουν προηγουμένως συσχετιστεί με μικροκεφαλία, αλλά περιέχουν σημαντικά γονίδια που εκφράζονται στον εγκέφαλο και πιθανώς συμβάλουν στην μη φυσιολογική ανάπτυξη του εγκεφάλου.

Ασθενής Δ19

Αγόρι ηλικίας 2,5 χρονών (ασθενής 19), παρουσιάστηκε στο ιατρείο της κλινικής γενετικής με σημαντική μικροκεφαλία, χαμηλό βάρος και ύψος, δυσμορφικά χαρακτηριστικά, ΨΚΚ, υπέρταση και επιληψία. Η μέθοδος array-CGH αποκάλυψε ένα από τα μικρότερα 19p13.3 υπομικροσκοπικά ελλείμματα, μεγέθους 0.057Mb, μεταξύ των νουκλεοτιδίων 1,223,651 και 1,280,683 (hg 18). Το έλλειμμα περιλαμβάνει μόνο τρία γονίδια: *CIRBP*, *C19orf24* και *EFNA2*. Ελαττωμένα επίπεδα *CIRBP* πρωτεΐνης αυξάνουν την ευαισθησία των κυττάρων στην αναστολή, μέσω TNF, της υψηλής έκφρασης των “clock” γονιδίων, ρυθμίζοντας έτσι την επαγόμενη από τον TNF, απόκριση των κυτοκινών¹⁰⁴. Η *C19orf24* πρωτεΐνη, είναι μία υποθετική πρωτεΐνη, η οποία εκφράζεται μόνο στο ανθρώπινο ήπαρ¹⁰⁵. Το γονίδιο *EFNA2* κωδικοποιεί μία μεμβρανική πρωτεΐνη που συνδέεται με τους υποδοχείς “*ehrin*”, επίσης μεμβρανικές πρωτεΐνες, μέσω άμεσης κυτταρο-κυτταρικής αλληλεπίδρασης. Ενεργοποιείται έτσι ένα μονοπάτι σηματοδότησης, το οποίο ρυθμίζει μια ποικιλία βιολογικών διαδικασιών κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του εμβρύου, συμπεριλαμβανομένου του προσανατολισμού των κώνων επιμήκυνσης

των νευροαξόνων. Λαμβάνοντας υπόψη ότι ο ασθενής μας έχει ένα πολύ βαρύ φαινότυπο, πρέπει να ξανασκεφτούμε την υπόθεση των Resta N et al., 2010¹⁰⁶, ότι η απλοανεπάρκεια των *CIRBP*, *c19orf* και *EFNA2* γονιδίων δεν επηρεάζει τον φαινότυπο των ασθενών. Ο Peddibhotla et al., 2013¹⁰⁷ δημοσίευσε σε ανακοίνωσή του, 8 ασθενείς με 19p13.3 μικροελλείμματα. Ένας από αυτούς ήταν μικροκέφαλος, αλλά το έλλειμμά του δεν επικαλύπτονταν με το έλλειμμα το δικού μας ασθενούς. Μόνο ένας από τους 8 αυτούς ασθενείς έφερε έλλειμμα που επικαλύπτονταν με το έλλειμμα του δικού μας ασθενούς, αλλά η περίμετρος κεφαλής του ήταν φυσιολογική. Επιπρόσθετα, στη βάση δεδομένων DECIPHER υπάρχουν 5 ασθενείς οι οποίοι φέρουν μεγάλα ελλείμματα που επικαλύπτουν αυτό του ασθενούς μας. Όμως δεν υπάρχει καμία αναφορά στη περίμετρο της κεφαλής των ασθενών αυτών. Στη πραγματικότητα, χρειαζόμαστε περισσότερες καλά, φαινοτυπικά και γονοτυπικά, χαρακτηρισμένες περιπτώσεις ασθενών με έλλειμμα στο 19p13.3 ώστε να καταλάβουμε εάν υπάρχει κάποια συσχέτιση μεταξύ μικροκεφαλίας και 19p13.3 ελλειμμάτων.

Ασθενής Δ23

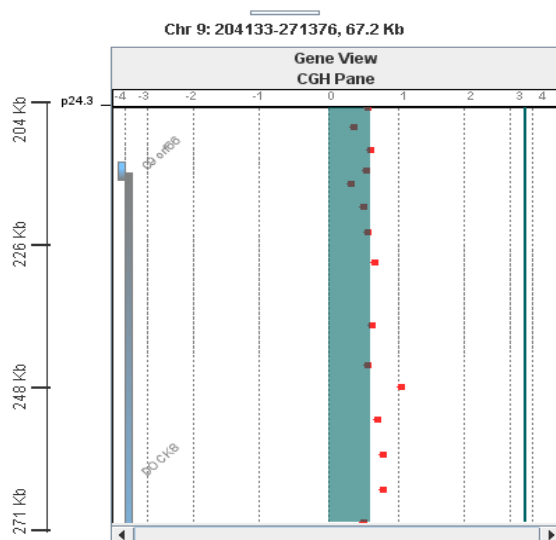
Ο ασθενής Δ23 παρουσιάζει μικροκεφαλία (γεννήθηκε με περίμετρο κεφαλής στη 3^η ΕΘ και από το 10^ο μήνα ζωής όλες οι σωματικές παράμετροι βρίσκονται κάτω από την 3^η ΕΘ), ιδιόμορφα μορφολογικά γνωρίσματα όπως μικρά στρογγυλά μάτια με εμβάθυνση, επίκανθο, καθίζηση της ρίζας της μύτης, μικρή μύτη, μικρό στόμα, ανώμαλη ελίκωση ώτων, μικροί όρχεις, υπερωισχιστία, ηπατομεγαλία λόγω λιπώδους διήθησης και υπερτριγλυκεριδαιμία. Η ψυχοκινητική του εξέλιξη βρίσκεται εντός των φυσιολογικών ορίων για την ηλικία του. Τα array-CGH αποκάλυψαν την ύπαρξη διπλασιασμού στη περιοχή 1p36.33 (1p36 σύνδρομο διπλασιασμού) μεγέθους 1.7 Mb και μικρού ελλείμματος στη περιοχή 22q11.22q11.23 (distal DiGeorge syndrome), μεγέθους 655.9 Kb. Η περίπτωση αυτή αποτελεί ενδιαφέρουσα περίπτωση γιατί σύμφωνα με τη βιβλιογραφία ο συνδυασμός των δύο αυτών συνδρόμων δεν έχει περιγραφεί ξανά στη διεθνή βιβλιογραφία. Οι αναφορές σε ασθενείς με καθαρούς 1p36 διπλασιασμούς είναι

πολύ σπάνιες και συνεπώς είναι άγνωστο ένα υπάρχει συσχέτιση των διπλασιασμών αυτών με τη μικροκεφαλία. Τα ελλείμματα στην άπω περιοχή της χρωμοσωμικής περιοχής 22q11.2 είναι χρωμοσωμικές αναδιατάξεις που εντοπίζονται στην περιοχή άπω της περιοχής των $\approx 3\text{Mb}$ που είναι υπεύθυνη για το σύνδρομο DiGeorge και Velocardiofacial syndrome. Τα ελλείμματα αυτά πιθανόν να προκύπτουν από μη αλληλικό ομόλογο ανασυνδυασμό (nonallelic homologous recombination)(NAHR) μεταξύ των τεσσάρων άπω-προς το τελομερίδιο 22q11.2 LCRs, LCR22-4 και LCR22-8^{86, 87}. Στον δικό μας ασθενή, η μέθοδος array-CGH αποκάλυψε ένα πολύ μικρό 22q11.2 έλλειμμα μεταξύ των LCR22-5 B και LCR22-6, μεγέθους 655.9 kb και περιέχει τέσσερα σημαντικά γονίδια: *BCR*, *RAB36*, *GNAZ*, *RTDR1*. Το γονίδιο *RAB36* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη η οποία είναι ένας από τους βασικούς μεσολαβητές για τον καταρράκτη της *RAB35* πρωτεΐνης⁸⁸ που σχετίζεται με την επιμήκυνση των νευριτών (neurite outgrowth downstream of RAB35) και μπορεί να συμβάλλει στην εκδήλωση μικροκεφαλίας. Αντιθέτως, η απλοανεπάρκεια των γονιδίων *BCR*, *GNAZ* και *RTDR1* δεν φαίνεται να σχετίζεται με την μικρή περίμετρο κεφαλής⁸⁹.

Ασθενής Δ24

Ένα από τα σύνδρομα που σχετίζονται με μικροκεφαλία είναι το 9p σύνδρομο διπλασιασμού (9p partial duplication syndrome) του οποίου τα κύρια χαρακτηριστικά γνωρίσματα εκτός της μικροκεφαλίας περιλαμβάνουν ιδιόμορφα φαινοτυπικά γνωρίσματα, καθυστέρηση αύξησης και ΨΚΚ/ΝΥ. Υπεύθυνη για τον φαινότυπο της μερικής 9p τρισωμίας είναι η κριτική περιοχή του συνδρόμου, η οποία κυμαίνεται μεταξύ των χρωμοσωμικών περιοχών 9p22.3 και 9p22.2¹². Είναι ενδιαφέρον ότι ο ασθενής Δ24 φέρει ένα πολύ μικρό διπλασιασμό στο 9p24.3, μεγέθους 67.12 Kb, που περιλαμβάνει τα γονίδια *c9orf66* και *DOCK8* (Εικ.27). Ο διπλασιασμός αυτός δεν συνοδεύεται από κάποιο άλλο έλλειμμα ή διπλασιασμό. Το γονίδιο *c9orf66* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη της οποίας η λειτουργία δεν έχει ακόμα αναγνωριστεί. Το γονίδιο *DOCK8* ανήκει στην υποομάδα DOCK-C της οικογένειας DOCK που κωδικοποιούν παράγοντες ανταλλαγής νουκλεοτιδίων

γουανίνης (DOCK family of guanine nucleotide exchange factors) οι οποίοι αλληλεπιδρούν με τις Rho-GTP-ασες και είναι συστατικά του ενδοκυττάρου δικτύου σηματοδότησης ⁸². Μεταλλάξεις στο γονίδιο *DOCK8* προκαλούν το αυτοσωμικό υπολειπόμενο σύνδρομο «Υπερ IgE» που προκαλεί υποτροπιάζουσες λοιμώξεις (*Hyper IgE recurrent infection syndrome*)(OMIM#243700), ενώ το έλλειμμα του γονιδίου *DOCK8* έχει αναφερθεί ως η αιτία της αυτοσωμικής επικρατητικής νοητικής υστέρησης τύπου 2 (autosomal dominant mental retardation type 2) (OMIM#614113). Όσον αφορά το 9p μερικό σύνδρομο διπλασιασμού, έχει προταθεί ότι το γονίδιο *DOCK8* συμβάλλει στην εμφάνιση των συμπτωμάτων που υπάγονται στο φάσμα του αυτισμού ¹². Βασιζόμενοι στο γεγονός ότι ο ασθενής Δ24 συνδυάζει μικροκεφαλία με ΨΚΚ/ΝΥ και στο ότι το μόνο διπλασιασμένο γονίδιο με γνωστή λειτουργία είναι το γονίδιο *DOCK8*, υποθέτουμε ότι το γονίδιο αυτό μπορεί να παίζει ρόλο στη μικροκεφαλία και τη νοητική υστέρηση που συνδέεται με το 9p σύνδρομο διπλασιασμού.



Εικ.27 Διπλασιασμός στη χρωμοσωμική περιοχή 9p24.3, μεγέθους 67.12 Kb.

Ασθενείς Δ11 και Δ33

Ελλείμματα στο άπω τμήμα του βραχέως σκέλους του χρωμοσώματος 5 έχουν συνδεθεί με το σύνδρομο Cri du Chat. Ελλείμματα στη περιοχή 5p15.2 είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση μικροκεφαλίας, νοητικής υστέρησης και των χαρακτηριστικών δυσμορφικών γνωρισμάτων που συνδέονται με το σύνδρομο, ενώ ελλείμματα στη περιοχή 5p15.3 είναι γνωστό ότι είναι σημαντικά για την εμφάνιση του χαρακτηριστικού κλάματος «δίκην γαλής» (σελ.28). Ελλείμματα τα οποία εντοπίζονται αποκλειστικά στην περιοχή 5p15.3 έχουν συνδεθεί με τη μη τυπική μορφή του συνδρόμου, «άτυπο Cri du chat σύνδρομο», το οποίο χαρακτηρίζεται από κλάμα «δίκην γαλής» και φυσιολογική νοημοσύνη ή ήπια νοητική υστέρηση. Πρόσφατα, οι Amira E. et al., 2014 ⁷ πρότειναν ότι το φαινοτυπικό φάσμα του «άτυπο Cri du chat σύνδρομο» πρέπει να επεκταθεί και να περιλαμβάνει μικροκεφαλία, καθυστέρηση αύξησης και ιδιόμορφα χαρακτηριστικά προσώπου. Δυστυχώς, δεν έχει βρεθεί μέχρι στιγμής κάποια “κριτική περιοχή” στη χρωμοσωμική περιοχή 5p15.3 που να θεωρείται υπεύθυνη για την εμφάνιση του συγκεκριμένου φαινότυπου, διότι όλες οι προηγούμενες περιπτώσεις δεν έχουν διερευνηθεί με τεχνικές προηγμένης μοριακής διαγνωστικής. Στους ασθενείς Δ11 και Δ33 η ανάλυση με array-CGH αποκάλυψε την ύπαρξη δύο αλληλεπικαλυπτόμενων 5p15.33 μικροελλειμμάτων τα οποία εντοπίζονται μεταξύ των νουκλεοτιδίων 725,942-859,233 και 737,829-873,424 (hg18, build36) αντιστοίχως. Στον ασθενή Δ11 το έλλειμμα περιελάμβανε τα γονίδια *ZDHHC11* και *TPPP*, ενώ στον ασθενή Δ33 το έλλειμμα περιελάμβανε μόνο ένα γονίδιο, το γονίδιο *ZDHHC11*. Στον ασθενή Δ11, το 5p15.33 μικροέλλειμμα συνοδεύονταν από ένα επίσης μικρό έλλειμμα στη χρωμοσωμική περιοχή 12p13.31, μεταξύ των νουκλεοτιδίων 9,446,682-9,678,209 (hg18, build36), το οποίο περιείχε δύο γονίδια, τα γονίδια *DDX11/CHLR1* και *KLRB1/NKRP1*. Στον ασθενή Δ33 το έλλειμμα στο 5p15.33 συνοδεύονταν από ένα έλλειμμα στο 9p21.1 μεταξύ των νουκλεοτιδίων 28,864,695-28,887,509 το οποίο περιελάμβανε μόνο την περιοχή που κωδικοποιεί το micro RNA 873. Μεταλλάξεις στο γονίδιο *DDX11* είναι υπεύθυνες για το σύνδρομο Warsaw breakage syndrome, ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα που χαρακτηρίζεται από μικροκεφαλία, προ- και μεταγεννητική καθυστέρηση αύξησης

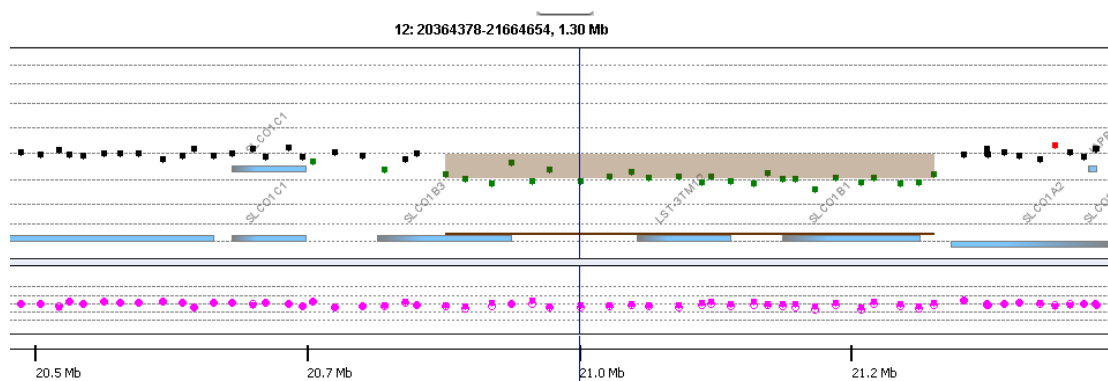
και ανώμαλο χρωματισμό δέρματος⁸³. Το γονίδιο *KLRB1/NKRP1* κωδικοποιεί έναν lectin-like υποδοχέα της υποοικογένειας B, μέλος 1, το οποίο εκφράζεται από τα κύτταρα φυσικούς φονείς (natural killer cells)(NK) και πιθανότατα εμπλέκονται στη ρύθμιση της κυτταρικής λειτουργίας των NK κυττάρων. Επιπλέον, η απλοανεπάρκεια του miR-873/miR-876 micro RNA συμπλέγματος έχει προσφάτων συσχετιστεί με κρανιοπροσωπικές ανωμαλίες όπως η μακροκεφαλία και ο υπερτελορισμός⁸⁴. Συμπερασματικά, πιστεύουμε ότι η απλοανεπάρκεια του *ZDHC11* γονιδίου, το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη σημαντική για την παλμιτοποίηση της Ncdh πρωτεΐνης η οποία ρυθμίζει την επιμήκυνση των νευριτών και την πλαστικότητα των συνάψεων, θα μπορούσε να συμβάλλει στο μικρό μέγεθος του εγκεφάλου.

5.3.3 Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών όπου τα array-CGH ανέδειξαν CNVs τα οποία ενώ συμβάλλουν στο συνολικό φαινότυπο του ασθενούς, σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, δεν έχουν συσχετιστεί με μικροκεφαλία αλλά ούτε και με μικροκεφαλία-σχετιζόμενα γονίδια.

Ασθενής Δ17

Ενδιάμεσα ελλείμματα στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 12 αποτελούν πολύ σπάνιες δομικές ανωμαλίες. Ο ασθενής Δ17 παρουσιάστηκε με φαινότυπο παρόμοιο με αυτόν του συνδρόμου Floating Harbor (πολύ χαμηλό βάρος γέννησης, κοντό ανάστημα, μικροκεφαλία, νοητική υστέρηση, υποθυρεοειδισμό και δυσμορφικά γνωρίσματα όπως τριγωνικό πρόσωπο, προέχουσα γέφυρα της μύτης και ρινική columella, κοντό φίλτρο, λεπτό άνω χείλος και κρυφορχία στους άρρενες ασθενείς. Η ανάλυση των χρωμοσωμάτων με array-CGH αποκάλυψε έλλειμμα στη περιοχή 12p12.2p12.1 μεγέθους 0.386 Mb μεταξύ των νουκλεοτιδίων 20,908,843-21,295,433 (hg18) που περιλαμβάνει δύο γονίδια, τα γονίδια *SLCO1B3*⁸⁵ και *SLCO1B1* (Εικ.28). Και τα δύο γονίδια ανήκουν στην οικογένεια μεταφορέων οργανικών ανιόντων (organic anion transporter family)(OATP) και εμπλέκονται στη

μεμβρανική μεταφορά των χολικών οξέων, στεροειδών και θυρεοειδικών ορμονών καθώς και ποικίλων φαρμάκων. Οι γονείς αρνήθηκαν έλεγχο με array-CGH και συνεπώς δεν μπορούμε να γνωρίζουμε εάν το έλλειμμα έχει κληρονομηθεί από κάποιο γονέα ή έχει εμφανιστεί de novo στον ασθενή. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι περιστατικό με παρόμοιο de novo έλλειμμα στη περιοχή 12p12.2p12.1 με παρόμοια σημεία θραύσης και παρόμοιο φαινότυπο έχει αναφερθεί στη βάση DECIPHER. Συνεπώς ο συγκεκριμένο έλλειμμα μπορεί να εμπλέκεται στην εμφάνιση του συγκεκριμένου φαινοτύπου. Ωστόσο το χρωμοσωμικό αυτό έλλειμμα είναι πολύ σπάνιο και περισσότερα περιστατικά πρέπει να καταγραφούν για να μπορέσουμε να κάνουμε πιο σωστή και πιο ακριβή συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου.



Εικ.28 Έλλειμμα μεγέθους 0.386 Mb στη περιοχή 12p12.2p12.1 μεταξύ των νουκλεοτιδίων 20,908,843-21,295,433 (hg18).

5.4 Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών με φαινότυπο συνδρομικής μικροκεφαλίας και φυσιολογικά ευρήματα στα array-CGH

Ασθενής Δ58

Ο ασθενής Δ58 ηλικίας 12 ετών, εμφανίζει σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ με έντονη αυτοκαταστροφική συμπεριφορά, μικροκεφαλία, πυραμιδική συνδρομή, κοντό ανάστημα, χαρακτηριστικό προγηροειδές προσωπείο, και δέρμα έντονα ρυτιδωμένο με υπερελαστικότητα των αρθρώσεων. Η οφθαλμολογική εξέταση

ανέδειξε συγγενή καταρράκτη άμφω και στραβισμό. Ο απεικονιστικός έλεγχος του εγκεφάλου (MRI) ανέδειξε υποπλασία βόθρου υπόφυσης κα υποπλασία οδόντα με εικόνα αρχόμενου υπεξαρθρήματος στον A1-A2. Ο πλήρης βιοχημικός, μεταβολικός και χρωμοσωμικός (κλασσικός και μοριακός καρυότυπος) έλεγχος ήταν αρνητικός. Πραγματοποιήθηκε επίσης έλεγχος χημειοταξίας και φαγοκυττάρωσης, ο οποίος ήταν αρνητικός. Η κλινική εικόνα του ασθενούς είναι συμβατή με το σύνδρομο πρόωρης γήρανσης, σύνδρομο De Barys, ένα συτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα το οποίου τα κύρια χαρακτηριστικά γνωρίσματα είναι η ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης, η σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ, οι οφθαλμολογικές διαταραχές με συχνότερη αυτή του συγγενούς καταρράκτη, τα προγηροειδή χαρακτηριστικά και το χαλαρό-ελαστικό δέρμα (cutis laxa) ¹⁰¹. Μια ποικιλία άλλων κλινικών σημείων και συμπτωμάτων έχουν καταγραφεί στους ασθενείς με σύνδρομο De Barys, συμπεριλαμβανομένου και της μικροκεφαλίας σε ορισμένες περιπτώσεις (National Organization for Rare Disorders). Μέχρι στιγμής έχουν επιβεβαιωθεί 2 τύποι του συνδρόμου, De Barys syndrome A (autosomal recessive cutis laxa type IIIA-ARCL3A)(OMIM#219150) το οποίο οφείλεται στην ύπαρξη ομόζυγων ή διπλά ετερόζυγων μεταλλάξεων στο γονίδιο *ALDH18A1* και De Barys syndrome B (autosomal recessive cutis laxa type IIIB-ARCL3B)(OMIM#614438) το οποίο οφείλεται στην ύπαρξη ομόζυγων ή διπλά ετερόζυγων μεταλλάξεων στο γονίδιο *PYCR1*. Η διάγνωση του συνδρόμου στο δικό μας ασθενή είναι αμιγώς κλινική αφού δεν έχει επιβεβαιωθεί με μοριακό έλεγχο.

Ασθενής Δ60

Ασθενής άρρεν 5 μηνών παραπέμφθηκε στο ιατρείο κλινικής γενετικής για διερεύνηση οριακής μικροκεφαλίας (ΠΚ: 3^η ΕΘ), σοβαρής αναπτυξιακής καθυστέρησης, υποτονίας και ιδιόμορφων εξωτερικών γνωρισμάτων.

Ο ασθενής γεννήθηκε μετά από κύηση 40 εβδομάδων με καισαρική τομή λόγω θέσης. Το βάρος γέννησης ήταν 2.800gr (10^η ΕΘ) το μήκος σώματος 51 cm (50^η ΕΘ) και η περίμετρος κεφαλής 33cm(3^η-10^η ΕΘ). Εισήχθη στη ΜΑΦ νεογνών το 2^ο 24 ωρο ζωής λόγω νωθρότητας, όπου και παρέμεινε για δύο 24ωρα.Ο απαραίτητος κλινικοεργαστηριακός έλεγχος απέβη αρνητικός.

Η κλινική εξέταση επιβεβαίωσε την οριακή μικροκεφαλία, την υποτονία και την αναπτυξιακή καθυστέρηση και ανέδειξε την ύπαρξη δυσμορφικών γνωρισμάτων όπως μεγάλο μέτωπο, προς τα κάτω βλεφαρικές σχισμές, επίκανθο, καθίζηση της ρίζας της μύτης, μικρή μύτη, ανεστραμμένα ρινικά πτερύγια, αποστρογγυλεμένο ακρορρίνιο, κοντό φίλτρο, παχιά σαρκώδη χείλη, άνω χείλος εν είδει σκηνής (^), κάτω χείλος ανεστραμμένο, θολωτή υπερώα, μικρογναθία, tapering fingers, κρυψορχία (σελ.115).

Από τον αρχικό παρακλινικό έλεγχο προέκυψαν τα ακόλουθα ευρήματα:

MRI εγκεφάλου: Πιθανή κύστη (5X5x5mm) μεταξύ ΔΕ θαλάμου και οπισθίου κέρατος της σύστοιχης πλαγίας κοιλίας

Καρδιολογική εκτίμηση: μικρή ASD

Απλός καρυότυπος: 46, XY

Ο ασθενής επανεξετάστηκε σε ηλικία 9 μηνών όπου εισήχθη στην Παιδιατρική κλινική λόγω επεισοδίου τονικοκλονικών σπασμών. Το επεισόδιο επαναλήφθηκε κατά το πρώτο εικοσιτετράωρο νοσηλείας και έγινε έναρξη αγωγής με φαινοτοΐνης-φαινοβαρβιτάλης. Από την κλινική εξέταση, ΒΣ: 11.200 gr (90^η ΕΘ), ΥΣ: 81 cm (90-97^η ΕΘ), ΠΚ: 42.5 cm (<3^η ΕΘ). Διαπιστώθηκε συστολικό φύσημα 1/6 και κεντρική υποτονία. Η πρόσθια πηγή ήταν ανοιχτή. Τα υπόλοιπα κλινικά ευρήματα ήταν φυσιολογικά.

Από τον εργαστηριακό έλεγχο, προέκυψαν τα ακόλουθα:

Γενική αίματος: RBC: 4850/μl, Hb: 11.2 gr/dl, Hct: 36.8%, MCV: **64.3 fl**, MCH: **19.6 pg**, MCHC: **30.4 gr/dl**, υποχρωμία +++, ανισοκυττάρωση +++, μικροκυττάρωση ++. Οι υπόλοιπες σειρές του αίματος ήταν φυσιολογικές.

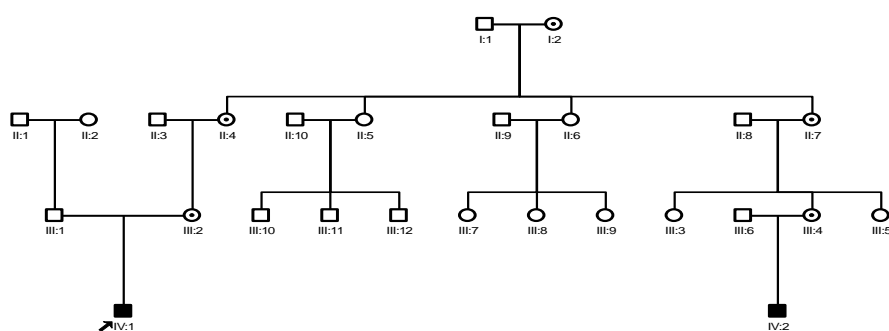
Πλήρης βιοχημικός και μεταβολικός έλεγχος: Δεν ανέδειξε παθολογικά ευρήματα.

Ηλεκτροεγκεφαλογράφημα (ΗΕΓ): Βραδυαρρυθμίες στις κεντρικές και οπίσθιες περιοχές των δύο ημισφαιρίων (μετεκριτική δραστηριότητα)

Ο γενετικός έλεγχος συνεχίστηκε με εξέταση δείγματος DNA για το σύνδρομο Angelman (Methylation Specific PCR 15q11-13) λόγω της επίκτητης μικροκεφαλίας, της υποτονίας, της ΨΚΚ, του επεισοδίου σπασμών και του ξανθού χρώματος των μαλλιών και ήταν αρνητικός. Περαιτέρω έλεγχος των χρωμοσωμάτων σε μοριακό επίπεδο (array-CGH) δεν ανέδειξε παθολογικά ευρήματα.

Μετά από επανειλημμένες ερωτήσεις, η μητέρα αποκάλυψε ότι ένας 20 μηνών δεύτερος ξάδερφος του ασθενούς από την πλευρά της μητέρας είχε αναπτυξιακή καθυστέρηση, υποτονία από τη γέννηση και παρόμοια χαρακτηριστικά προσώπου

Το γενεαλογικό δένδρο της οικογένειας είχε ως εξής:



Όπου M1: ο ασθενής μας και M2: ο 2^{ος} ξάδερφός του.

Όπως παρατηρούμε από το γενεαλογικό δένδρο, σε περίπτωση που δεχτούμε ότι οι δύο ασθενείς λόγω του πανομοιότυπου φαινότυπου πάσχουν από το ίδιο νόσημα, θα πρέπει να σκεφτούμε την φυλοσύνδετη κληρονομικότητα μιας και το νόσημα μεταφέρεται από θήλεα άτομα της οικογένειας σε άρρενα.

Συνδυάζοντας το γεγονός ότι και οι δύο ασθενείς έπασχαν από υπόχρωμη μικροκυτταρική αναιμία με χαμηλούς ερυθροκυτταρικούς δείκτες και φυσιολογική αιμοσφαιρίνη και αιματοκρίτη, στη διαφορική μας διάγνωση εντάχθηκε το σύνδρομο που συνδυάζει α-θαλασσαιμία και νοητική υστέρηση (Alpha-Thalassemia X-linked disability syndrome) (ATRX syndrome)(OMIM#301040), ένα φυλοσύνδετο υπολειπόμενο νόσημα που οφείλεται στην ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο *ATRX* (Χq12-q21.31) και χαρακτηρίζεται κυρίως από μικροκεφαλία, σοβαρή αναπτυξιακή καθυστέρηση/ΝΥ, δυσμορφικά χαρακτηριστικά, ήπια- διαφόρου βαθμού α θαλασσαιμία, σκελετικές ανωμαλίες και ανωμαλίες του ουρογεννητικού

συστήματος. Το γονίδιο *ATRX* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που σχετίζεται με την αναδιάταξη της χρωματίνης και λαμβάνει μέρος σε επιγενετικούς μηχανισμούς. Οι μεταλλάξεις στο *ATRX* γονίδιο προκαλούν ποικίλες αλλαγές στο πρότυπο της DNA μεθυλίωση και συνεπώς στην αναδιάταξη της χρωματίνης και στην έκφραση γονιδίων σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια και αναπτυξιακές λειτουργίες¹⁰².

Το πρώτο βήμα στη διερεύνηση του ασθενούς προς αυτή τη κατεύθυνση ήταν η διερεύνηση της υποκείμενης υπόχρωμης μικροκυτταρικής λειτουργίας. Έτσι πραγματοποιήθηκε ο ακόλουθος εργαστηριακός έλεγχος:

HbA2: **1.5%** (φτ 2.2-3.3%)

HbF: **18.9%** (φτ 0.5-2.0%)

Ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης: HbA-F-A2 Ταχύ κλάσμα **HbH**

Test Δρεπάνωσης: ΑΡΝΗΤΙΚΟ

Έγκλειστα HbH: **ΠΟΛΥΑΡΙΘΜΑ**

Από τα ανωτέρω ευρήματα τίθεται η διάγνωση της αιμοσφαιρινοπάθειας H (τύπος α-θαλασσαιμίας).

Εν συνεχεία πραγματοποιήθηκε DNA ανάλυση με αλληλούχιση της πρωτοταγούς δομής του DNA του *ATRX* γονιδίου με την μέθοδο sequencing η οποία ανέδειξε την ύπαρξη της μετάλλαξης **c.839 G>A (p.Cys280Tyr), exon 9 ATRX gene.**

Έτσι τέθηκε η διάγνωση του φυλοσύνδετου συνδρόμου α-θαλασσαιμίας/νοητικής υστέρησης (σύνδρομο *ATRX*).

5.5 Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών στους οποίους έχει γίνει ο ενδεδειγμένος γενετικός έλεγχος (εκτός από array-CGH) και δεν ανευρέθηκαν παθολογικά ευρήματα.

Ασθενής ΣΤ1

Θήλυ το οποίο παρουσιάστηκε για πρώτη φορά στα εξωτερικά ιατρεία της Κλινικής Γενετικής στο Χωρέμειο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής σε ηλικία 12 ετών, παρουσιάζει μικροκεφαλία (ΠΚ: 50 cm (ηλικία 12 ετών) και ΠΚ:51 cm σε ηλικία 20 ετών, οριακή νοημοσύνη με διαταραχές στο λόγο, τη μάθηση και τη συμπεριφορά, σοβαρή νευροαισθητηριακού τύπου βαρηκοΐα, καθώς και σοβαρή, προοδευτικά επιδεινούμενη υαλοειδοαμφιβληστροειδοπάθεια. Από τον υπόλοιπο κλινικοεργαστηριακό έλεγχο δεν προέκυψαν παθολογικά ευρήματα.

Ο φαινότυπος της ασθενούς είναι συμβατός με το σύνδρομο Usher. Το σύνδρομο Usher αποτελεί τη πιο συχνή αιτία στις περιπτώσεις όπου συνυπάρχει τύφλωση και κώφωση στην ενήλικη ζωή³³. Αποτελεί ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα το οποίο χαρακτηρίζεται από νευροαισθητηριακού τύπου απώλεια ακοής, παρούσα ήδη από τη γέννηση, ενώ αργότερα αναπτύσσεται προοδευτικά επιδεινούμενη υαλοειδοαμφιβληστροειδοπάθεια. Το σύνδρομο Usher παρουσιάζει γενετική ετερογένεια μιας και μπορεί να οφείλεται στην ύπαρξη παραλλαγών (variants) στα ακόλουθα 9 γονίδια: *USH2A*, *VLGR1*, *MYO7A*, *CDH23*, *USH1C*, *USH1G*, *WHRN*, *PCDH15* και *SANS*.

Δείγμα αίματος της ασθενούς στάλθηκε σε κέντρο του εξωτερικού προς ανίχνευση 807 παραλλαγών/SNPs στα γονίδια που προαναφέρθηκαν. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν PCR amplification και arrayed primer extension (APEX) analysis σε μικροσυστοιχίες. Δυστυχώς δεν ανιχνεύτηκε καμία από τις παραπάνω παραλλαγές. Το αποτέλεσμα όμως αυτό δεν αποκλείει την ύπαρξη παραλλαγών που δεν είναι ανιχνεύσιμες με την ανωτέρω μέθοδο. Έγινε σύσταση για περαιτέρω διερεύνηση με next generation sequencing platform για το σύνδρομο Usher. Λόγω του υψηλού κόστους της εξέτασης, δεν έχει διεκπεραιωθεί ακόμα.

Επίσης έχει αποσταλεί δείγμα αίματος της ασθενούς σε ερευνητικό κέντρο της Γαλλίας που μελετά τη πιθανή ύπαρξη μεταλλάξεων συμβατών με το σύνδρομο Cockayne, ένα άλλο γενετικό σύνδρομο στο οποίο μικροκεφαλία, ΨΚΚ/οριακή ΝΥ, νευροαισθητηριακή βαρηκοΐα και αμφιβληστροειδοπάθεια μπορεί να συνυπάρχουν. Μέχρι στιγμής δεν έχει βρεθεί καμία μετάλλαξη.

Ευρήματα στη Μαγνητική Τομογραφία εγκεφάλου ασθενών με συνδρομική μικροκεφαλία

θα ακολουθήσει περιγραφή και σχολιασμός των ευρημάτων της μαγνητικής τομογραφίας εγκεφάλου των ασθενών με συνδρομική μικροκεφαλία στους οποίους εφαρμόστηκε η μέθοδος array-CGH.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΕΥΡΗΜΑΤΩΝ ΣΤΗ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ (MRI) ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΣΤΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ CNVs ΣΤΑ ARRAY-CGH

Ασθενής (No/ηλικία)	Ψυχοκινητική εξέλιξη /Νευρολογική σημειολογία	Σπασμοί	Μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου (MRI)	Αποτέλεσμα array-CGH	Γνωστά σύνδρομα
Δ1 (3 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> ήπια ΨΚΚ 	-	Ήπια ατροφία μεσολοβίου κυρίως στο σπληνίο	del 4q35.1q35.2 (5.2Mb) dup 9p24.3p21.1 (31.6 Mb)	9p σύνδρομο διπλασιασμού
Δ2 (11 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> ΨΚΚ υπερκινητικότητα 	-	Μικρή κολλοειδής κύστη διαμέτρου 5 mm στην περιοχή του τρήματος του Μονγο	del 17q25.3 (1.38 Mb) dup 12q24.32q24.33 (7.076 Mb)	
Δ3 (2 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> σοβαρή ΨΚΚ 	-	1) Συμμετρική λέπτυνση του μεσολοβίου, με φυσιολογική μορφολογία, πιθανότατα λόγω πίεσης από διάταση κοιλιακών συστημάτων 2) Διάταση σημαντικού βαθμού πλαγίων κοιλιών και 3ης κοιλίας 3) Υποεπενδυματικό οίδημα στην περικοιλιακή λευκή ουσία των ινιακών κεράτων. Λοιπα: κφ	dup 9p24.3-p22.1 (19.01Mb) del13q33.1-q34 (13.6 Mb)	9p σύνδρομο διπλασιασμού 13q33-q34 έλλειμμα
Δ4 (28ημερών)	<ul style="list-style-type: none"> υποτονία κορμού-υπερτονία άνω και κάτω άκρων 	-	-	del 16p13.2 (0.093 Mb)	
Δ5 (14 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> σοβαρή ΨΚΚ διαταραχές συμπεριφοράς 	Επεισόδια σπασμών--> λαμβάνει αντιεπιληπτική αγωγή HEΓ": διαγραμμα ελαφρα και διάχυτα ανώμαλο με παροξυντικές εκφορτισεις χωρίς ημισφαιρική πλαγίωση	Φυσιολογικά ευρήματα	del 10q22.3(0.5Mb) mat, del 11q13.1(1.07Mb) pat del Xq28 (0.152 Mb) mat	
Δ6 (15 μηνών)	<ul style="list-style-type: none"> σοβαρή ΨΚΚ 	Μεχρι την ηλικία των 15 μηνών δεν είχε κάνει σπασμούς	1) Εικόνα εγκεφαλικής ατροφίας 2) Αλλοιώσεις περικοιλιακής λευκομαλακίας (PVL) 3) Λέπτυνση του οπισθίου τμήματος του μεσολοβίου 4) Ατροφία γέφυρας	del 3p13 (0.083 Mb) del 9q34.3(3.12 Mb)	9q υποτελομεριδιακό σύνδρομο (σύνδρομο Kleefstra)

Δ7 (3 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> • σοβαρή ΨΚΚ • αυτιστικά στοιχεία • σοβαρή υποτονία 	-	Φυσιολογικά ευρήματα	del 16q21q22.1 (2.03Mb) de novo	16q21q22.1 σύνδρομο μικροελλείμματος
Δ8 (3,5 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> • σοβαρή ΨΚΚ 	Από την ηλικία των 8 μηνών → σπασμοί (υπό keppra και Derakine)	Καθυστερημένη μυελίνωση	del 4p16.3-p16.1 (7.39 Mb)	σύνδρομο Wolf-Hirschhorn
Δ9 (το παιδί απεβίωσε σε ηλικία 5,5 ετών από μη ελεγχόμενους σπασμούς)	<ul style="list-style-type: none"> • σοβαρή ΨΚΚ • τετραπληγία • υποτονία χωρίς μυϊκή αδυναμία (κεντρικού τύπου) • νευροαισθητηριακή βαρηκοΐ • εκκρεμοειδής νυσταγμός μικρού εύρους και μεγάλης συχνότητας. • ασύντακτες κινήσεις • 	Σπασμοί ανθεκτικοί στην αγωγή	Αύξηση των υπαραχνοειδών χώρων και διάταση κοιλιών (ένδειξη εγκεφαλικής ατροφίας)	del 1p36.33-p36.32 (2.778 Mb) dup 21q21.2-q21.3 (0.58 Mb)	1p36 σύνδρομο μικροελλείμματος
Δ10 (10 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> • σοβαρή ΨΚΚ • έντονα αυτιστικά στοιχεία-στερεοτυπίες 	Σπασμοί υπό αγωγή	Διεύρυνση υπαραχνοειδούς χώρου και κοιλιών	del 5p15.33 (1.01 Mb) mat del 12p13.31 (0.086Mb) pat	άπω 5p σύνδρομο ελλείμματος
Δ11 (18 μηνών)	<ul style="list-style-type: none"> • σοβαρή ΨΚΚ • κεντρική υποτονία-περιφερική μεγάλη υπερτονία • τρόμος • χοριοαθέτωση • αταξία 	Σπασμοί υπό αγωγή από την ηλικία των 9 μηνών	Γεφυροπαρεγκεφαλιδική ατροφία	del 5p15.33 (0.133 Mb) de novo del12p13.31(0.231Mb) de novo	άπω 5p σύνδρομο ελλείμματος
Δ12 (2 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> • ήπια ΨΚΚ 	Σπασμοί από 10 μηνών, από τότε δηλαδή που σταμάτησε να αυξάνει η ΠΚ --> Υπό αγωγή (Epanutin-Sabril) Το ΗΕΓ είναι Υψαρρυθμικό-βραδυαρρυθμία και συμπλέγματα αιχμής κύματος	Συμμετρική μείωση του όγκου της λευκής ουσίας	dup 3q27.1 (0.010 Mb) dup 16p12.1 (0.593Mb)	

Δ13 (2 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> ΨΚΚ 	-	Φυσιολογικά ευρήματα	dup 5p14.1 (0.31 Mb) de novo del 15q13.2 (0.071Mb) de novo	15q13.2 σύνδρομο μικροελλείμματος
Δ14 (20 μηνών)	<ul style="list-style-type: none"> ΨΚΚ μεγάλη υπέρταση (περιφερική) υποτονία κορμού 	Μεχρι την ηλικία των 3 χρονών→όχι επεισόδια σπασμών ΗΕΓ: βραδύς ρυθμός)	Καθυστέρηση μυελίνωσης	del 3p21.31 (0.023 Mb) de novo del 10q25.2 (0.082Mb) de novo	
Δ15 (2,5 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> ΨΚΚ (ασύντακτες κινήσεις-υπερκινητικότητα-αστάθεια βαδίσματος) υποτονία 	-	Φυσιολογικά ευρήματα	del 22q13.31-q13.33 (4,7 Mb)	22q13 σύνδρομο ελλείμματος (σύνδρομο Phelan McDermid)
Δ16 (28 μηνών)	<ul style="list-style-type: none"> σοβαρή ΨΚΚ 	Σπασμοί υπό αγωγή με Depakine	1) Περιοχές δυσμυελίνωσης και λίγοι σχετικά διευρυμένοι περιαγγειακοί χώροι 2) Ήπια σημεία λέπτυνσης αναγνωρίζονται στο περιφερικό τμήμα του σώματος του μεσολοβίου.	del 4p16.3 (2.1 Mb)	σύνδρομο Wolf-Hirschhorn
Δ17 (5 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> ΨΚΚ υπερκινητικότητα ήπια υπέρταση 	-	Φυσιολογικά ευρήματα	del 12p12.2 (0.386 Mb)	
Δ18 (6 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> ήπια-μέτρια ΨΚΚ 	-	Φυσιολογικά ευρήματα	del 1p36.33-q36.31 (5.7 Mb)	1p36 σύνδρομο μικροελλείμματος
Δ19 (2 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> ΨΚΚ έντονη υπέρταση 	Σπασμοί υπό αγωγή	Φυσιολογικά ευρήματα	del 19p13.3 (0.075Mb)	
Δ20	<ul style="list-style-type: none"> ΨΚΚ υποτονία κορμού καθυστέρηση τόσο των κινητικών όσο και των λεκτικών δεξιοτήτων 	Επιπλεγμένοι πυρετικοί σπασμοί σε ηλικία 4 μηνών	1) Λέπτυνση μεσολοβίου. 2) Ελάττωση του όγκου της περικοιλιακής λευκής ουσίας. 3) Ελαφριά διεύρυνση του πλαγίου κοιλιακού συστήματος 4) Μικροκυστικές περιοχές επί τα εκτός των βασικών γαγγλίων άμφω.	del16q24.2-q24.3 (3.0 Mb)	16q24.3 σύνδρομο μικροελλείμματος
Δ21 (8 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> σοβαρή ΨΚΚ αυτιστικά στοιχεία επαναλαμβανόμενες κινήσεις φοβίες 	-	Φυσιολογικά ευρήματα	del 17q23.3 (0.015 Mb)	
Δ22 (5 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> σοβαρή ΨΚΚ 	επεισόδια πυρετικών και απύρετων σπασμών (υπό θεραπεία με	Περικοιλιακή λευκομαλακία (PVL)	del 4p16.3 (2.4Mb) dup 4p16.3 (3.02 Mb)	σύνδρομο Wolf-Hirschhorn

		keppra)			
Δ23 (10 μηνών)	-	-	Καθυστέρηση μυελίνωσης	dup 1p36.33 (1.7 Mb) del 22q11.22-q11.23 (655.9Kb)	22q11.2 σύνδρομο μικροελλείμματος (άπω DiGeorge σύνδρομο) 1p36 σύνδρομο μικροδιπλασιασμού
Δ24 (2 ετών)	• ΨΚΚ	-		dup 9p24.3 (67.12Kb)	
Δ25 (21 μηνών)	• σοβαρή ΨΚΚ	Ανθεκτικοί σπασμοί υπό τριπλή αντιεπιληπτική αγωγή	Φυσιολογικά ευρήματα	dup 14q24.2 (0.031Mb)	
Δ26 (4 ετών)	• ήπια-μετρια ΨΚΚ	-	Φυσιολογικά ευρήματα	dup Xp22.31 (1.648 Mb)	Xp22.3 σύνδρομο μικροδιπλασιασμού
Δ27 (6 ετών)	• σοβαρή ΨΚΚ • υποτονία κεντρικού τύπου (χωρίς μυική αδυναμία) • αυτιστικά στοιχεία	-	Ex -vacuo κοιλιακή διάταση	del 17q21.31-q21.32 (0.472Mb) de novo	Σύνδρομο Koolen de Vries
Δ28 (6 ετών)	• ΨΚΚ • υπερκινητικότητα	-	Φυσιολογικά ευρήματα	del 1q25.1-q25.3 (9.04Mb) de novo dup 5p13.1p12 (1.4Mb) pat	Ενδιάμεσο 1q σύνδρομο μικροελλείμματος
Δ29 (5 μηνών)	• ΨΚΚ • υποτονία κεντρικού τύπου με συνοδό περιφερική υπερτονία	Επεισόδια σπασμών από την ηλικία του 1 ^{ος} μηνός (υπό trileptal, sabril και Keppra)	Δυσπλαστική μορφολογία ΔΕ εγκεφαλικού ημισφαιρίου με μειωμένες διαστάσεις και παχυγυρία	del 1p36.33p36.22 (10.3Mb) de novo dup 16p11.2 (0.401Mb) de novo	1p36 σύνδρομο μικροελλείμματος
Δ30 (7 μηνών)	• ΨΚΚ • βαριά υποτονία (σε ηλικία 6,5 μηνών στον αναπνευστήρα) • μόνιμο Babinski • ασθενές κλάμα • οπισθότονος • παθολογικά οπτικά και ακουστικά δυναμικά • νυσταγμοειδείς κινήσεις οφθαλμών	-	Περικοιλιακή λευκομαλακία	dup 3q13.32 (0.074Mb) pat del 10q26.3 (0.043Mb) mat dup 16p12.1 (0.024Mb) mat	

Δ31 (6 μηνών)	<ul style="list-style-type: none"> • σοβαρή ΨΚΚ • γενικευμένη υποτονία • εγκεφαλική παράλυση τύπου τετραπληγίας 	Βρεφικοί σπασμοί (καταποτικές κινήσεις, βολβοστροφή, κάμψη άνω άκρων HEG : αποδιοργανωμένο με εικόνα υφαρρυθμίας	Εγκεφαλική δυσγενεσία (λυσσεγκεφαλία τύπου 1 και παχυγυρία)	del 1p36.33-p36.32 (1.46 Mb)	1p36 σύνδρομο μικροελλείμματος
Δ32 (18 μηνών)	<ul style="list-style-type: none"> • ΨΚΚ 	Σπασμοί (υπό Derakine)	Λέπτυνση μεσολοβίου Διάταση εγκεφαλικών κοιλιών	del 4p16.3p16.1 (5.2 Mb) (homozygous)	Σύνδρομο Wolf-Hirschhorn
Δ33 (25 μηνών)	<ul style="list-style-type: none"> • ΨΚΚ 	-	Φυσιολογικά ευρήματα	del 5p15.33 (0.135 Mb) del 9p21.1 (0.023 Mb)	Άπω 5p σύνδρομο ελλείμματος
Δ34 (4 χρονών)	<ul style="list-style-type: none"> • σοβαρή ΨΚΚ • εγκεφαλική παράλυση (σπαστική διπληγία) • στερεότυπες κινήσεις χεριών • διαταραχές ύπνου 	Σπασμοί (υπό αγωγή)	Δυσγενεσία μεσολοβίου	del 18q21.1qter (34,6 Mb)	Σύνδρομο Pitt-Hopkins
Δ35 (15 μηνών)	<ul style="list-style-type: none"> • σοβαρή ΨΚΚ/ΝΥ • στη βρεφική ηλικία: υπερτονία άκρων-υποτονία κορμού • σε ηλικία 8 χρονών: γενικευμένη υποτονία 	-	Ανωριμότητα λευκής ουσίας Περικοιλιακή Λευκομαλακία	dup 12p13.3 (5Mb) del 13q33-q34 (17Mb)	13q33-q34 σύνδρομο ελλείμματος
Δ36 (5 ετών)	<ul style="list-style-type: none"> • πολύ σοβαρή ΨΚΚ • σημαντική υπερτονία άκρων 	-	Φυσιολογικά ευρήματα	del 22q11.21 (2.5 Mb) dup 11q23.3 (0.024Mb) del 14q23.3 (0.074Mb) del14q23.3 (0.101 Mb)	Σύνδρομο DiGeorge
Δ37 (34 μηνών)	<ul style="list-style-type: none"> • ΨΚΚ 	-	Φυσιολογικά ευρήματα	del 19q13.43 (0.107 Mb)	

<p>Δ38 (7 ετών)</p>	<ul style="list-style-type: none"> •σοβαρή ΨΚΚ •κεντρική υποτονία 	<p>-</p>	<p>1) Ήπια διεύρυνση του κοιλιακού συστήματος με βαθμό ασυμμετρίας του πλαγίου κοιλιακού (αριστερά>δεξιά). 2) Διεύρυνση των σχισμών του sylvius και του περιφερικού υπαραχνοειδούς χώρου. 3) Πρώιμη σύγκλειση της πρόσθιας πηγής κυρίως, αλλά και των υπόλοιπων ραφών του κρανίου. 4) Μικρός πρόσθιος κρανιακός βόθρος και αβαθείς οφθαλμικοί κόγχοι.</p>	<p>dup 4p16.3p15.33 (11.6 Mb) del 22q13.31q13.33 (4.4 Mb)</p>	<p>Άπω μερική 4p τρισωμία 22q13 σύνδρομο ελλείμματος (σύνδρομο Phelan McDermid)</p>
-------------------------	---	----------	---	--	--

Από τους 38 ασθενείς με συνδρομική μικροκεφαλία και παθολογικά array-CGH ευρήματα, 22 είχαν παθολογική MRI εγκεφάλου, 14 δεν εμφάνιζαν παθολογικά ευρήματα, ενώ σε 2 ασθενείς ο συγκεκριμένος έλεγχος δεν πραγματοποιήθηκε λόγω μη επιθυμίας των γονέων. 14 από τους 38 ασθενείς με συνδρομική μικροκεφαλία και παθολογικά array-CGH ευρήματα εμφάνιζαν επεισόδια σπασμών /επιληψία. Οι 11 από τους 14 αυτούς ασθενείς είχαν παθολογική MRI εγκεφάλου με ευρήματα ποικίλης βαρύτητας όπως: καθυστέρηση μυελίνωσης, διάταση κοιλιών εγκεφάλου, λέπτυνση/υποπλασία μεσολοβίου, γεφυροπαρεγκεφαλιδική ατροφία, περικοιλιακή λευκομαλακία και άλλες διαταραχές της λευκής ουσίας, λισσεγκεφαλία τύπου 1 και παχυγυρία. Οι υπόλοιποι 3 είχαν φυσιολογική MRI εγκεφάλου.

Συνεπώς, από τους 22 ασθενείς με συνδρομική μικροκεφαλία και παθολογικά array-CGH/MRI ευρήματα οι 11 εμφάνιζαν επεισόδια σπασμών /επιληψία, ενώ οι υπόλοιποι 11 ήταν ελεύθεροι σπασμών τουλάχιστον μέχρι την ηλικία της τελευταίας εξέτασης στους

Τα τελευταία χρόνια γίνονται μεγάλες προσπάθειες για συσχέτιση συγκεκριμένων MRI ευρημάτων με συγκεκριμένες χρωμοσωμικές παραλλαγές (υπομικροσκοπικές ή μη) σε ασθενείς με γενετικά νοσήματα συμπεριλαμβανομένων και αυτών με συνδρομική μικροκεφαλία. Η ισχύουσα μέχρι στιγμής τάση είναι ότι συγκεκριμένα MRI ευρήματα μπορεί να υπάρχουν σε ποικίλες χρωμοσωμικές διαταραχές, καθώς και το αντίθετο, ότι δηλαδή ποικιλία MRI ευρημάτων μπορεί να συσχετίζονται με συγκεκριμένες χρωμοσωμικές παραλλαγές, γεγονός που δυσχεραίνει τη συσχέτιση γονοτύπου και ευρημάτων στην MRI εγκεφάλου. Αυτό που αλλάζει σε ορισμένες περιπτώσεις είναι η συχνότητα με τη οποία συναντάμε ένα συγκεκριμένο MRI εύρημα σε κάποια συγκεκριμένη χρωμοσωμική παραλλαγή. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το υψηλό ποσοστό εμφάνισης έλλειψης (αγενεσίας) ή υποπλαστικού (λεπτού) μεσολοβίου σε ασθενείς με σύνδρομο Wolf Hirschhorn. Το εύρημα όμως αυτό δεν είναι ειδικό για το σύνδρομο αυτό μιας και συναντάται συχνά και σε άλλα γενετικά σύνδρομα όπως στο 9p σύνδρομο μικροδιπλασιασμού και το σύνδρομο Kleefstra, το σύνδρομο Aicardi, το σύνδρομο που συνδυάζει μικροκεφαλία, νοητική υστέρηση, λεπτό μεσολόβιο και πυραμιδική συνδρομή (μετάλλαξη στο TAF2 γονίδιο)¹⁰⁸, στο CNS malformation syndrome το οποίο

οφείλεται στην απλοανεπάρκεια του γονιδίου NFIA γονιδίου ¹⁰⁹ και σε πλήθος άλλων γενετικών ανωμαλιών. Όσον αφορά τους δικούς μας ασθενείς με σύνδρομο wolf Hirschhorn, από τους 4 ασθενείς με το σύνδρομο αυτό, οι 2 είχαν λεπτό μεσολόβιο ενώ στους άλλους 2 ασθενείς η MRI εγκεφάλου αποκάλυψε περικοιλιακή λευκομαλακία και καθυστερημένη μυελίνωση αντίστοιχα. Αγενεσία/λέπτυνση μεσολοβίου αποκαλύφθηκε επίσης σε άλλους 3 ασθενείς, εκ των οποίων οι 2 είχαν μεταξύ των άλλων και σύνδρομο 9p μικροδιπλασιασμού, ενώ ο 3^{ος} έφερε έλλειμμα στο 16q24.2q24.3.

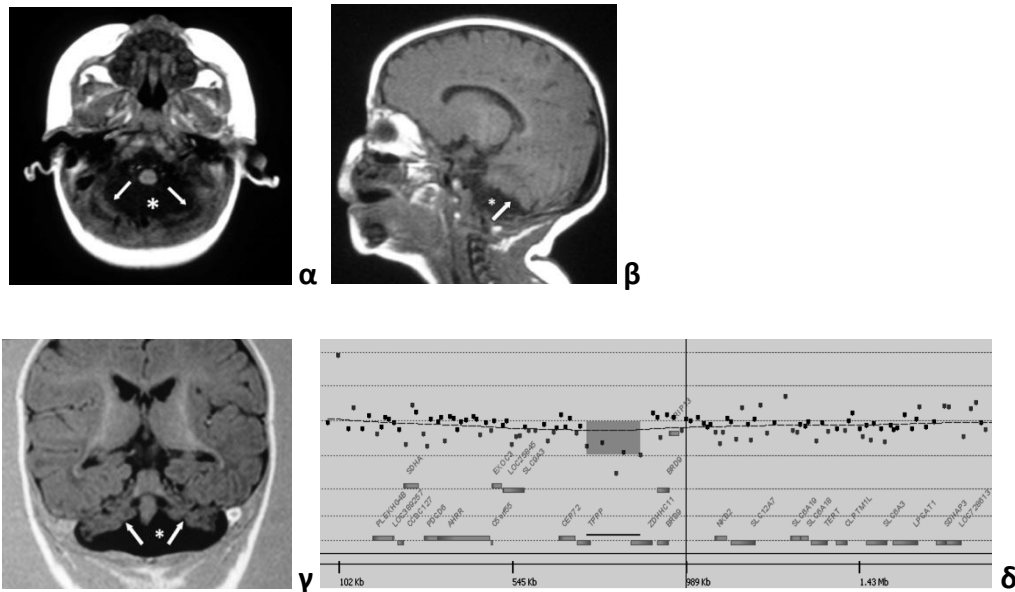
Η γεφυρο ή/και παρεγκεφαλιδική ατροφία/υποπλασία μπορεί να απαντά είτε σαν μεμονωμένη ανωμαλία του κεντρικού νευρικού συστήματος είτε και σε συνδυασμό με άλλες. Αιτιολογικά μπορεί να οφείλεται σε ένα αριθμό γενετικών αλλά και μη παραγόντων (αιμορραγικά και ισχαιμικά επεισόδια). Τα γενετικά αίτια περιλαμβάνουν μεταλλάξεις σε συγκεκριμένα γονίδια αλλά και χρωμοσωμικές ανωμαλίες (μικροσκοπικά ορατές και μη). Συνεπώς στη διαφορική διάγνωση της γεφυρο ή/και παρεγκεφαλιδικής ατροφίας/υποπλασίας συγκαταλέγονται τα σύνδρομα Joubert, REHO και MICPCH, οι 8 τύποι της γεφυροπαρεγκεφαλιδικής υποπλασίας (PCH 1-8), μεταβολικά νοσήματα όπως μιτοχονδριακά ελλείμματα και οι διαταραχές γλυκοζυλίωσης και τέλος χρωμοσωμικά ελλείμματα όπως ελλείμματα στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 5 (συμπεριλαμβανομένων και των άπω ελλειμμάτων γνωστά και ως σύνδρομο Cri du Chat), στην περιοχή 19p13.11p13.12, στο σύνδρομο Kleefstra κ.α

Αν και μια σειρά από ανωμαλίες του κεντρικού νευρικού συστήματος έχουν αναγνωριστεί σε ασθενείς με ελλείμματα στη περιοχή 5p, το πιο συχνό εύρημα στην MRI εγκεφάλου των ασθενών αυτών είναι η γεφυρο ή/και παρεγκεφαλιδική ατροφία/υποπλασία ¹¹⁰. Μέχρι στιγμής υπάρχουν τουλάχιστον 12 αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία. Πρόσφατα μάλιστα οι Chen et al., 2013 υποστήριξαν την άποψη ότι η απλοανεπάρκεια του TRPP γονιδίου πιθανόν συμβάλει στην ανάπτυξη της γεφυρο ή/και παρεγκεφαλιδικής ατροφίας/υποπλασίας στους ασθενείς με ελλείμματα στη χρωμοσωμική περιοχή 5p.

ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΥΣΑ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ

Ασθενής Δ11

Πρόκειται για θύλη 18 μηνών με επίκτητη μικροκεφαλία, νοητική υστέρηση, επεισόδια σπασμών, ελάσσονα δυσμορφικά χαρακτηριστικά και εικόνα γεφυροπαρεγκεφαλιδικής υποπλασίας στην MRI εγκεφάλου (Εικ.29 α, β, γ). Τα array-CGH αποκάλυψαν ένα μικρό έλλειμμα στη περιοχή 5p15.33 μεγέθους 0.133 Mb (Εικ.29 δ) το οποίο περιλαμβάνει τα γονίδια, *ZDHC11* και *TRPP/p25* καθώς και ένα μικρό έλλειμμα στη περιοχή 12p13.31 μεγέθους 0.231 Mb το οποίο περιέχει επίσης δύο γονίδια, τα *DDX11/CHLR1* και *KLRB1/NKRP1*. Το περιστατικό αυτό αποτελεί ενδιαφέρουσα περίπτωση αφενώς γιατί φέρει το μικρότερο έλλειμμα στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 5 που έχει αναφερθεί μέχρι σήμερα στη διεθνή βιβλιογραφία, αφετέρου γιατί λόγω του μικρού αριθμού των γονιδίων που βρίσκονται σε απλοανεπάρκεια και λόγω της λειτουργίας τους, μπορούμε να προσφέρουμε επιπλέον υποστήριξη στην πρόταση των Chen et al., 2013 ότι η απλοανεπάρκεια του TRPP γονιδίου προφανώς συμβάλλει στη δημιουργία της γεφυροπαρεγκεφαλιδικής υποπλασίας στους ασθενείς με ελλείμματα στη χρωμοσωμική περιοχή 5p. Το περιστατικό αυτό έχει υποβληθεί προς δημοσίευση στο επιστημονικό περιοδικό «European Journal of Paediatric Neurology» και είναι σε διαδικασία ανασκόπησης.



Εικόνα.29 α,β και γ. Ατροφία γέφυρας και παρεγκεφαλίδας σε διάφορες λήψεις **δ.**έλλειμμα στη περιοχή 5p15.33, μεγέθους 0.133 Mb, μεταξύ των νουκλεοτιδίων: 725,942 → 859,233, hg 18.

Συμπέρασμα

Στην MRI εγκεφάλου ασθενών με συνδρομική μικροκεφαλία οφειλόμενη σε υπομικροσκοπικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες/παραλλαγές μπορεί να υπάρχουν απεικονιστικά ευρήματα ποικίλης βαρύτητας, από μια απλή καθυστέρηση μυελίνωσης ή/και διάταση κοιλιών μέχρι μείζονες ανατομικές ανωμαλίες όπως λισσεγκεφαλία τύπου 1, παχυγυρία, εγκεφαλική ατροφία, ατροφία/υποπλασία μεσολοβίου, γεφυροπαρεγκεφαλιδική ατροφία, περικοιλιακή λευκομαλακία και άλλες διαταραχές της λευκής ουσίας. Αν και σε ορισμένες χρωμοσωμικές παραλλαγές (CNVs) οι ευρεθείσες MRI εγκεφαλικές ανατομικές ανωμαλίες έχουν αναφερθεί σε άλλοτε άλλο ποσοστό στη βιβλιογραφία, ωστόσο δεν είναι ειδικές και συνεπώς ούτε διαγνωστικές. Τέλος η βαρύτητα των MRI ευρημάτων συνδέεται με τη βαρύτητα της κλινικής εικόνας του ασθενούς, ωστόσο δεν προκαθορίζει την εμφάνιση ή μη των σπασμών

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής μπορούμε με βεβαιότητα να πούμε ότι η εξέταση του μοριακού καρυοτύπου (array-CGH) σε αδιάγνωστα παιδιά με συνδρομικού τύπου μικροκεφαλία είναι απαραίτητα μιας και σε μεγάλο ποσοστό ανευρίσκονται παθολογικά ευρήματα. Όμως, το γεγονός ότι σε ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών με πολύ παθολογικό φαινότυπο τα arrays δεν αποκαλύπτουν παθολογικές παραλλαγές αριθμού αντιγράφων (CNVs) και επίσης, λόγω του ότι μέχρι σήμερα έχει αναγνωριστεί ένας μεγάλος αριθμός γονιδίων, μεταλλάξεις στα οποία ευθύνονται για συνδρομικού τύπου μικροκεφαλία, απαιτείται πλέον περαιτέρω διερεύνηση των ασθενών αυτών με τη μέθοδο Next Generation Sequencing. Η εξέταση αυτή έχει τη δυνατότητα ανεύρεσης μεταλλάξεων σε οποιοδήποτε σημείο του γονιδιώματος. Μπορεί όμως να εφαρμοστεί και πιο στοχευμένα, διερευνώντας ένα συγκεκριμένο αριθμό γονιδίων που μπορεί να ευθύνονται για παρόμοιο φαινότυπο, όπως αυτόν της μικροκεφαλίας. Ιδανικά, θα ήταν χρήσιμη η εφαρμογή της μεθόδου αυτής και σε ασθενείς στους οποίους τα array-CGH έχουν προηγουμένως αναδείξει παθολογικά CNVs. Η επιπρόσθετη εφαρμογή αυτής της μεθόδου, θα μας βοηθούσε να αποκτήσουμε καθαρότερη εικόνα για τη γενετική αιτιολογία του εκάστοτε συνδρομικού φαινοτύπου, μιας και θα είχαμε τη δυνατότητα αναγνώρισης και τη πιθανή ύπαρξη σημειακών μεταλλάξεων, είτε στα γονίδια που βρίσκονται σε απλοανεπάρκεια, είτε σε γονίδια που βρίσκονται σε άλλες θέσεις του γονιδιώματος.

Τέλος σε ασθενείς όπου η μέθοδος array-CGH έχει αναδείξει παθολογικά ευρήματα, η συσχέτιση γονιδίου-φαινοτύπου και η αναγνώριση συγκεκριμένων γονιδίων που απλοανεπαρκούν ή είναι διπλασιασμένα, ως υπεύθυνα για συγκεκριμένα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά και κλινικές εκδηλώσεις, πολλές φορές δεν είναι ούτε δυνατή, ούτε ακριβείας. Αυτό συμβαίνει γιατί μέχρι στιγμής δεν γνωρίζουμε τη λειτουργία και τον αντίκτυπο στην κλινική εικόνα πολλών γονιδίων. Έτσι δεν είναι δυνατόν να προβλέψουμε τις συνέπειες του ελλείμματος ή του διπλασιασμού τους. Επιπρόσθετα, ακόμα και εάν ένα γονίδιο πιστεύεται ότι ευθύνεται για κάποιο

συγκεκριμένο φαινοτυπικό χαρακτηριστικό, δεν σημαίνει ότι το χαρακτηριστικό αυτό θα είναι πάντοτε παρόν. Συνήθως και άλλοι γενετικοί ή/και περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση ή μη του χαρακτηριστικού αυτού.

Για να χαρακτηριστεί η απλοανεπάρκεια ή ο διπλασιασμός ενός γονιδίου ως υπεύθυνος για συγκεκριμένο παθολογικό φαινότυπο απαιτείται επιβεβαίωση με «functional studies».

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abuelo D¹. Microcephaly syndromes. *Semin Pediatr Neurol*. 2007 Sep; 14(3):118-27
- 1^α. Smith's Recognizable Patterns of Human Malformations (sixth edition).
2. Okamoto N¹, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T. 109 kb deletion of chromosome 4p16.3 in a patient with mild phenotype of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013 Jun; 161A(6):1465-9
3. Kerzendorfer C¹, Colnaghi R, Abramowicz I, Carpenter G, O'Driscoll M, Meier-Gorlin syndrome and Wolf-Hirschhorn syndrome: two developmental disorders highlighting the importance of efficient DNA replication for normal development and neurogenesis. *DNA Repair (Amst)*. 2013 Aug; 12(8):637-44
4. South ST¹, Bleyl SB, Carey JC. Two unique patients with novel microdeletions in 4p16.3 that exclude the WHS critical regions: implications for critical region designation. *Am J Med Genet A*. 2007 Sep 15; 143A(18):2137-42.
5. Shimizu K¹, Wakui K, Kosho T, Okamoto N, Mizuno S, Itomi K et al. Microarray and FISH-based genotype-phenotype analysis of 22 Japanese patients with Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet A*. 2014 Mar; 164A (3):597-609
6. Cerruti Mainardi P¹. Cri du Chat syndrome. *Orphanet J Rare Dis*. 2006 Sep 5; 1:33.
7. Elmakky A¹, Carli D¹, Lugli L², Torelli P³, Guidi B³ et al. A three-generation family with terminal microdeletion involving 5p15.33-32 due to a whole-arm 5;15 chromosomal translocation with a steady phenotype of atypical cri du chat syndrome. *Eur J Med Genet*. 2014 Mar; 57(4):145-50
8. Bagherizadeh E¹, Shafaghati Y¹, Hadipour F¹, Behjati F². Phenotypical characterization of 13q deletion syndrome: Report of two cases. *Indian J Hum Genet*. 2014 Apr; 20(2):203-5.

9. Rodvalho-Doriqui MJ¹, Freitas PL, Pinho JD, Cavalli LR, Pereira SR. 3p partial trisomy and 13q partial monosomy with congenital malformations and psychomotor developmental delay. *Genet Mol Res.* 2013 Jul 24; 12(3):2562-6
10. Özsü E¹, Mutlu GY, Yüksel AB, Hatun Ş. Features of two cases with 18q deletion syndrome. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2014;6(1):51-4
11. Hasi M¹, Soileau B, Sebold C, Hill A et al. The role of the TCF4 gene in the phenotype of individuals with 18q segmental deletions. *Hum Genet.* 2011 Dec; 130(6):777-87
12. Dallapiccola B, Mastroiacovo PP, Montali E, Sommer A. Trisomy 4p: five new observations and overview. *Clin Genet.* 1977 Dec;12(6):344-56
13. Sgardoli IC¹, Simioni M, Viguetti-Campos NL et al. A new case of partial 14q31.3-pter trisomy due to maternal pericentric inversion. *Gene.* 2013 Jul 10; 523(2):192-4
14. Bird LM¹ Angelman syndrome: review of clinical and molecular aspects. *Appl Clin Genet.* 2014 May 16;7:93-104
15. Willemsen MH¹, Vulto-van Silfhout AT, Nillesen WM, et al. Update on Kleefstra Syndrome. *Mol Syndromol.* 2012 Apr;2(3-5):202-212
16. Zaveri HP¹, Beck TF¹, Hernández-García A¹, Shelly KE et al. Identification of critical regions and candidate genes for cardiovascular malformations and cardiomyopathy associated with deletions of chromosome 1p36. *PLoS One.* 2014 Jan 15;9(1):e85600
17. Giannikou K¹, Fryssira H, Oikonomakis V, Symou A, Kosma K, et al. Further delineation of novel 1p36 rearrangements by array-CGH analysis: narrowing the breakpoints and clarifying the "extended" phenotype. *Gene.* 2012 Sep 15;506(2):360-8
18. Kim BJ¹, Zaveri HP, Shchelochkov OA, Yu Z, Hernández-García A, et al. An allelic series of mice reveals a role for RERE in the development of multiple organs affected in chromosome 1p36 deletions. *PLoS One.* 2013;8(2):e57460

19. Abu-Amero KK¹, Hellani AM, Salih MA, Seidahmed MZ, et al. A de novo marker chromosome derived from 9p in a patient with 9p partial duplication syndrome and autism features: genotype-phenotype correlation. *BMC Med Genet*. 2010 Sep 21;11:135.
20. Di Bartolo DL¹, El Naggar M, Owen R, Sahoo T, et al. Characterization of a complex rearrangement involving duplication and deletion of 9p in an infant with craniofacial dysmorphism and cardiac anomalies. *Mol Cytogenet*. 2012 Jul 9; 5(1):31
21. Mahgoub L¹, Aziz K², Davies D³, Leonard N. Miller-dieker syndrome associated with congenital lobar emphysema. *AJP Rep*. 2014 May;4(1):13-6.
22. Mei M¹, Yang L¹, Zhan G., et al. Analysis of genomic copy number variations in two unrelated neonates with 8p deletion and duplication associated with congenital heart disease. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2014 Jun;52(6):460-3.
23. Wat MJ¹, Beck TF, Hernández-García A, Yu Z et al. Mouse model reveals the role of SOX7 in the development of congenital diaphragmatic hernia associated with recurrent deletions of 8p23.1. *Hum Mol Genet*. 2012 Sep 15;21(18):4115-25.
24. Kim MK¹, Dudognon C, Smith S. Tankyrase 1 regulates centrosome function by controlling CPAP stability. *EMBO Rep*. 2012 Aug;13(8):724-32
25. Zufferey F¹, Sherr EH, Beckmann ND, Hanson E, Maillard AM, Hippolyte L, Macé A, Ferrari C, et al. A 600 kb deletion syndrome at 16p11.2 leads to energy imbalance and neuropsychiatric disorders. *J Med Genet*. 2012 Oct;49(10):660-8
26. Qureshi AY¹, Mueller S², Snyder AZ³, Mukherjee P⁴, Berman JI⁵, Roberts TP⁵, Nagarajan SS⁴ et al. Opposing brain differences in 16p11.2 deletion and duplication carriers. *J Neurosci*. 2014 Aug 20;34(34):11199-211
27. Michelson M¹, Ben-Sasson A, Vinkler C, Leshinsky-Silver E, et al. Delineation of the interstitial 6q25 microdeletion syndrome: refinement of the critical causative region. *Am J Med Genet A*. 2012 Jun;158A(6):1395-9

28. Nagamani SC¹, Erez A, Eng C, Ou Z, Chinault C, et al. Interstitial deletion of 6q25.2-q25.3: a novel microdeletion syndrome associated with microcephaly, developmental delay, dysmorphic features and hearing loss. *Eur J Hum Genet.* 2009 May;17(5):573-81
29. Sim JC, White SM, Fitzpatrick E, Wilson GR, Gillies G, et al. Expanding the phenotypic spectrum of ARID1B-mediated disorders and identification of altered cell-cycle dynamics due to ARID1B haploinsufficiency. *Orphanet J Rare Dis.* 2014 Mar 27; 9:43
30. Hu P¹, Wang Y, Meng LL, Qin L, Ma DY, Yi L, Xu ZF. 1q25.2-q31.3 Deletion in a female with mental retardation, clinodactyly, minor facial anomalies but no growth retardation. *Mol Cytogenet.* 2013 Aug 6;6(1):30
31. Cognet M¹, Nougayrede A, Malan V, Callier P et al. Dissection of the MYCN locus in Feingold syndrome and isolated oesophageal atresia. *Eur J Hum Genet.* 2011 May; 19(5):602-6
32. Mullegama SV¹, Pugliesi L², Burns B², Shah Z² et al. MBD5 haploinsufficiency is associated with sleep disturbance and disrupts circadian pathways common to Smith-Magenis and fragile X syndromes. *Eur J Hum Genet.* 2014 Oct 1.doi: 10.1038/ejhg.2014.200
33. Williams SR¹, Mullegama SV, Rosenfeld JA, Dagli AI et al. Haploinsufficiency of MBD5 associated with a syndrome involving microcephaly, intellectual disabilities, severe speech impairment, and seizures. *Eur J Hum Genet.* 2010 Apr;18(4):436-41
34. Münevveroglu AP¹, Akgöl BB. Rubinstein-taybi syndrome: a case report. *Case Rep Dent.* 2012; 2012:483867
35. Rusconi D¹, Negri G, Colapietro P, Picinelli C, et al. Characterization of 14 novel deletions underlying Rubinstein-Taybi syndrome: an update of the CREBBP deletion repertoire. *Hum Genet.* 2015 Mar 25

36. Shenoy BH¹, Gupta A¹, Sachdeva V², Kekunnaya R¹. Cornelia de Lange syndrome with optic disk pit: Novel association and review of literature. *Oman J Ophthalmol*. 2014 May;7(2):69-71.
37. Boyle MI¹, Jespersgaard C, Brøndum-Nielsen K, Bisgaard AM, Tümer Z. Cornelia de Lange syndrome. *Clin Genet*. 2014 Sep 11.
38. Nemani L¹, Barik R¹, Patnaik AN¹, Mishra RC², Rao AM², Kapur P². Coffin-Siris syndrome with the rarest constellation of congenital cardiac defects: A case report with review of literature. *Ann Pediatr Cardiol*. 2014 Sep;7(3):221-6
39. Kosho T, Miyake N, Carey JC. Coffin-Siris syndrome and related disorders involving components of the BAF (mSWI/SNF) complex: historical review and recent advances using next generation sequencing. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2014 Sep;166C(3):241-51
40. da Paz JA¹, Kim CA¹, Goossens M², Giurgea I², Marques-Dias MJ³. Mowat-Wilson syndrome: neurological and molecular study in seven patients. *Arq Neuropsiquiatr*. 2015 Jan; 73(1):12-7
41. Stewart DR¹, Pemov A¹, Johnston JJ², et al. Dubowitz syndrome is a complex comprised of multiple, genetically distinct and phenotypically overlapping disorders. *PLoS One*. 2014 Jun 3;9(6):e98686
42. Arora H¹, Chacon AH, Choudhary S, et al. Bloom syndrome. *Int J Dermatol*. 2014 Jul; 53(7):798-802
43. Arroyo-Carrera I¹, de Zaldívar Tristancho MS, et al. Deletion 1q43-44 in a patient with clinical diagnosis of Warburg-Micro syndrome. *Am J Med Genet A*. 2015 Apr 21.
44. Seltzer LE, Paciorkowski AR. Genetic disorders associated with postnatal microcephaly. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2014 Jun;166C(2):140-55
45. Seifert W¹, Kühnisch J², Maritzen T³ et al. Cohen syndrome-associated protein COH1 physically and functionally interacts with the small GTPase RAB6 at the Golgi complex and directs neurite outgrowth. *J Biol Chem*. 2015 Feb 6;290(6):3349-58

46. Alster O¹, Bielak-Zmijewska A¹, Mosieniak G¹ et al. The role of nibrin in doxorubicin-induced apoptosis and cell senescence in Nijmegen Breakage Syndrome patients lymphocytes. *PLoS One*. 2014 Aug 13;9(8):e104964
47. Murray JE¹, Bicknell LS, Yigit G et al. Extreme growth failure is a common presentation of ligase IV deficiency. *Hum Mutat*. 2014 Jan;35(1):76-85
48. Ruaud L¹, Mignot C², Guët A³ et al. DYRK1A mutations in two unrelated patients. *Eur J Med Genet*. 2015 Mar; 58(3):168-74
49. Reynolds JJ¹, Walker AK, Gilmore EC, Walsh CA, Caldecott KW. Impact of PNKP mutations associated with microcephaly, seizures and developmental delay on enzyme activity and DNA strand break repair. *Nucleic Acids Res*. 2012 Aug; 40(14):6608-19
50. Jones GE¹, Ostergaard P², Moore AT³ et al. Microcephaly with or without chorioretinopathy, lymphoedema, or mental retardation (MCLMR): review of phenotype associated with KIF11 mutations. *Eur J Hum Genet*. 2014 Jul; 22(7):881-7
51. Gibbons RJ¹. α -Thalassemia, mental retardation, and myelodysplastic syndrome. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012 Oct 1;2(10)
52. Zappella M¹, Meloni I, Longo I, Canitano R et al. Study of MECP2 gene in Rett syndrome variants and autistic girls. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2003 May 15;119B(1):102-7.
53. Shahbazian MD¹, Antalffy B, Armstrong DL, Zoghbi HY. Insight into Rett syndrome: MeCP2 levels display tissue- and cell-specific differences and correlate with neuronal maturation. *Hum Mol Genet*. 2002 Jan 15;11(2):115-24.
54. Moog U¹, Bierhals T², Brand K³, Bautsch J⁴, Biskup S⁵, Brune T⁶ et al. Phenotypic and molecular insights into CASK-related disorders in males. *Orphanet J Rare Dis*. 2015 Apr 12; 10(1):44
55. Barbelanne M¹, Tsang WY². Molecular and cellular basis of autosomal recessive primary microcephaly. *Biomed Res Int*. 2014;2014:547986

56. Dieks JK¹, Baumer A, Wilichowski E et al. Microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type II (MOPD II) with multiple vascular complications misdiagnosed as Dubowitz syndrome. *Eur J Pediatr.* 2014 Sep;173(9):1253-6
57. Shalev SA¹, Khayat M, Ety DS, Elpeleg O. Further insight into the phenotype associated with a mutation in the ORC6 gene, causing Meier-Gorlin syndrome 3. *Am J Med Genet A.* 2015 Mar;167A(3):607-11
58. Martin CA¹, Ahmad I², Klingseisen A¹ et al. Mutations in PLK4, encoding a master regulator of centriole biogenesis, cause microcephaly, growth failure and retinopathy. *Nat Genet.* 2014 Dec; 46(12):1283-92
59. Kerr AM¹, Nomura Y, Armstrong D, Anvret M, Belichenko PV, et al. Guidelines for reporting clinical features in cases with MECP2 mutations. *Brain Dev.* 2001 Jul;23(4):208-11.
60. Κρανιοσυνοστέωση: Ταξινόμηση, αιτιοπαθογένεια και κλινικές εκδηλώσεις. Ε. Κοντόπουλος, Π.Δραγούμη
61. Lami F¹, Carli D, Ferrari P, Marini M, Alesi V, Iughetti L, Percesepe A. Holoprosencephaly: report of four cases and genotype-phenotype correlations. *J Genet.* 2013 Apr;92(1):97-101.
62. Dharamshi HA¹, Raza T², Mohsin Ali AA³, Lilani Z¹ et al. Premature craniosynostosis in a rare genetic disease- a case report. *Iran J Public Health.* 2015 Mar;44(3):404-6
63. Kee Y¹, D'Andrea AD. Molecular pathogenesis and clinical management of Fanconi anemia. *J Clin Invest.* 2012 Nov;122(11):3799-806
64. Kelly MN, Tuli SY, Tuli SS, Stern MA, Giordano BP. Brothers with Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Pediatr Health Care.* 2015 Jan-Feb;29(1):97-103
65. Chitty L¹, Gardener G, Overton T. Edematous polydactyly in Smith-Lemli-Opitz syndrome Type II. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004 Jun;23(6):629-30

66. Curry CJ, Carey JC, Holland JS, Chopra D, Fineman R, et al. Smith-Lemli-Opitz syndrome-type II: multiple congenital anomalies with male pseudohermaphroditism and frequent early lethality. *Am J Med Genet.* 1987 Jan;26(1):45-57.
67. Grigoriou E¹, DeSabato JJ, Colo D, Dormans JP. Scoliosis in Children With Aicardi Syndrome. *J Pediatr Orthop.* 2014 Dec 9
68. Hou JW¹, Wang TR. Prader-Willi syndrome: clinical and molecular cytogenetic investigations. *J Formos Med Assoc.* 1996 Jun;95(6):474-9.
69. Rosenfeld JA¹, Stephens LE, Coppinger J, Ballif BC. Deletions flanked by breakpoints 3 and 4 on 15q13 may contribute to abnormal phenotypes. *Eur J Hum Genet.* 2011 May;19(5):547-54
70. Phelan MC¹. Deletion 22q13.3 syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2008 May 27; 3:14
71. Wilson HL¹, Wong AC, Shaw SR, Tse WY, Stapleton GA et al. Molecular characterisation of the 22q13 deletion syndrome supports the role of haploinsufficiency of SHANK3/PROSAP2 in the major neurological symptoms. *J Med Genet.* 2003 Aug;40(8):575-84
72. Jung PS¹, Won HS, Cho IJ, Hyun MK, Shim JY, Lee PR, Kim A. A case report of prenatally diagnosed tetrasomy 18p. *Obstet Gynecol Sci.* 2013 May; 56(3):190-3
73. Heydari S¹, Hassanzadeh F¹, Hassanzadeh Nazarabadi M¹. Ring chromosome 18: a case report. *Int J Mol Cell Med.* 2014 Fall;3(4):287-9.
74. Seltzer LE, Paciorkowski AR. Genetic disorders associated with postnatal microcephaly. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2014 Jun;166 C (2):140-55
75. Barbelanne M¹, Tsang WY². Molecular and cellular basis of autosomal recessive primary microcephaly. *Biomed Res Int.* 2014;2014:547986.
76. Hajdu I¹, Ciccia A, Lewis SM, Elledge SJ. Wolf-Hirschhorn syndrome candidate 1 is involved in the cellular response to DNA damage. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 Aug 9;108 (32):13130-4

77. Walczak-Sztulpa J¹, Wisniewska M, Latos-Bielenska A, Linné M et al. Chromosome deletions in 13q33-34: report of four patients and review of the literature. *Am J Med Genet A*. 2008 Feb 1; 146A(3):337-42
78. Kim BJ¹, Zaveri HP, Shchelochkov OA, Yu Z, Hernández-García A, Seymour ML et al. An allelic series of mice reveals a role for RERE in the development of multiple organs affected in chromosome 1p36 deletions. *PLoS One*. 2013; 8(2):e57460
79. Van der Heide LP¹, Wijchers PJ, et al. FoxK2 is required for cellular proliferation and survival. *J Cell Physiol*. 2015 May; 230(5):1013-23
80. Bill BR¹, Lowe JK, Dybuncio CT, Fogel BL. Orchestration of neurodevelopmental programs by RBFOX1: implications for autism spectrum disorder. *Int Rev Neurobiol*. 2013; 113:251-67
81. Paronett EM¹, Meechan DW¹, Karpinski BA², LaMantia AS¹, Maynard TM¹. Ranbp1, Deleted in DiGeorge/22q11.2 Deletion Syndrome, is a Microcephaly Gene That Selectively Disrupts Layer 2/3 Cortical Projection Neuron Generation. *Cereb Cortex*. 2014 Dec 1. pii: bhu285
82. 4.Gilles Gadea, Anne Blangy. Dock family exchange factors in cell migration and disease. *Eur. J.Cell Biol*. (2014)
83. Bharti SK¹, Khan I, Banerjee T, Sommers JA, Wu Y, Brosh RM Jr. Molecular functions and cellular roles of the ChIR1 (DDX11) helicase defective in the rare cohesinopathy Warsaw breakage syndrome. *Cell Mol Life Sci*. 2014 Jul; 71(14):2625-39
84. Koufaris C¹, Papagregoriou G², Kousoulidou L¹, Moutafi M¹, Tauber M et al. Haploinsufficiency of the miR-873/miR-876 microRNA cluster is associated with craniofacial abnormalities. *Gene*. 2015 Apr 25; 561(1):95-100
85. Nagy A¹, Szalai R², Magyari L³, Bene J⁴, Toth K⁵, Melegh B⁶. Extreme differences in SLCO1B3 functional polymorphisms in Roma and Hungarian populations. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2015 May;39(3):1246-51

86. Ben-Shachar S¹, Ou Z, Shaw CA, Belmont JW, Patel MS, Hummel M., et al. 22q11.2 distal deletion: a recurrent genomic disorder distinct from DiGeorge syndrome and velocardiofacial syndrome. *Am J Hum Genet.* 2008 Jan;82(1):214-21
87. Mikhail FM¹, Burnside RD², Rush B², Ibrahim J³, Godshalk R³, et al. The recurrent distal 22q11.2 microdeletions are often de novo and do not represent a single clinical entity: a proposed categorization system. *Genet Med.* 2014 Jan;16 (1):92-100
88. Kobayashi H¹, Etoh K¹, Ohbayashi N¹, Fukuda M². Rab35 promotes the recruitment of Rab8, Rab13 and Rab36 to recycling endosomes through MICAL-L1 during neurite outgrowth. *Biol Open.* 2014 Aug 1;3(9):803-14
89. Wozniak K¹, Piaskowski S, Gresner SM, Golanska E, Bieniek E., et al. BCR expression is decreased in meningiomas showing loss of heterozygosity of 22q within a new minimal deletion region. *Cancer Genet Cytogenet.* 2008 May; 183(1):14-20
90. Yamamoto T¹, Dowa Y, Ueda H, Kawataki M, Asou T et al. Tetralogy of Fallot associated with pulmonary atresia and major aortopulmonary collateral arteries in a patient with interstitial deletion of 16q21-q22.1. *Am J Med Genet A.* 2008 Jun 15; 146A(12):1575-80
91. Tsoutsou E¹, Tzetis M, Giannikou K, Syrmou A, Oikonomakis V, et al. Array-CGH revealed one of the smallest 16q21q22.1 microdeletions in a female patient with psychomotor retardation. *Eur J Paediatr Neurol.* 2013 May;17(3):316-20.
92. Genesio R¹, Ronga V, Castelluccio P, Fioretti G, Mormile A , et al. Pure 16q21q22.1 deletion in a complex rearrangement possibly caused by a chromothripsis event. *Mol Cytogenet.* 2013 Aug 1; 6(1):29
93. Kitagishi Y¹, Minami A², Nakanishi A³, Ogura Y⁴, Matsuda S⁵. Neuron membrane trafficking and protein kinases involved in autism and ADHD. *Int J Mol Sci.* 2015 Jan 30;16(2):3095-115

94. Lee R¹, Chang SY, Trinh H, Tu Y, White AC et al. Genetic studies on the functional relevance of the protein prenyltransferases in skin keratinocytes. *Hum Mol Genet.* 2010 Apr 15;19(8):1603-17
95. Lefebvre M¹, Foulkes WD¹. Pheochromocytoma and paraganglioma syndromes: genetics and management update. *Curr Oncol.* 2014 Feb;21(1):e8-e17
96. Hu J¹, Sathanoori M, Kochmar S, Azage M et al. A novel maternally inherited 8q24.3 and a rare paternally inherited 14q23.3 CNVs in a family with neurodevelopmental disorders. *Am J Med Genet A.* 2015 Apr 10. doi: 10.1002/ajmg.a.37110
97. Dejanovic B¹, Lal D², Catarino CB³, Arjune S¹, Belaidi AA¹ et al. Exonic microdeletions of the gephyrin gene impair GABAergic synaptic inhibition in patients with idiopathic generalized epilepsy. *Neurobiol Dis.* 2014 Jul; 67:88-96
98. Davies JS¹, Chung SK, Thomas RH, Robinson A, Hammond CL et al. The glycinergic system in human startle disease: a genetic screening approach. *Front Mol Neurosci.* 2010 Mar 23;3 :8
99. Paronett EM¹, Meechan DW¹, Karpinski BA², LaMantia AS¹, Maynard TM¹. Ranbp1, Deleted in DiGeorge/22q11.2 Deletion Syndrome, is a Microcephaly Gene That Selectively Disrupts Layer 2/3 Cortical Projection Neuron Generation. *Cereb Cortex.* 2014 Dec 1
100. Chen M¹, Yang YS, Shih JC, Lin WH, Lee DJ, Lin YS et al. Microdeletions/duplications involving TBX1 gene in fetuses with conotruncal heart defects which are negative for 22q11.2 deletion on fluorescence in-situ hybridization. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014 Apr;43(4):396-403
101. Lin DS¹, Chang JH, Liu HL, Wei CH, Yeung et al. Compound heterozygous mutations in PYCR1 further expand the phenotypic spectrum of De Bary syndrome. *Am J Med Genet A.* 2011 Dec; 155A(12):3095-9

102. Gibbons RJ¹. α -Thalassemia, mental retardation, and myelodysplastic syndrome. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012 Oct 1; 2(10)
103. Domanico D¹, Fragiotta S¹, Cutini A¹, Grenga PL¹, Vingolo EM. Psychosis, Mood and Behavioral Disorders in Usher Syndrome: Review of the Literature. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol*. 2015 Summer; 4(2):50-5.
104. Lopez M¹, Meier D, Müller A, Franken P, Fujita J, Fontana A. Tumor necrosis factor and transforming growth factor β regulate clock genes by controlling the expression of the cold inducible RNA-binding protein (CIRBP). *J Biol Chem*. 2014 Jan 31;289(5):2736-44
105. Wang XR¹, Zhou YB, Liu F, Wang KS, Shen Y, Liu JH, Han ZG. A novel recently evolved gene C19orf24 encodes a non-classical secreted protein. *Cell Mol Biol Lett*. 2006;11(2):161-70
106. Resta N¹, Giorda R, Bagnulo R, Beri S, Della Mina E, et al. Breakpoint determination of 15 large deletions in Peutz-Jeghers subjects. *Hum Genet*. 2010 Oct;128(4):373-82
107. Peddibhotla S¹, Khalifa M, Probst FJ, Stein J, Harris LL, et al. Expanding the genotype-phenotype correlation in subtelomeric 19p13.3 microdeletions using high resolution clinical chromosomal microarray analysis. *Am J Med Genet A*. 2013 Dec;161A(12):2953-63
108. Hellman-Aharony S¹, Smirin-Yosef P, Halevy A, Pasmanik-Chor M, et al. Microcephaly thin corpus callosum intellectual disability syndrome caused by mutated TAF2. *Pediatr Neurol*. 2013 Dec;49(6):411-416
109. Lu W¹, Quintero-Rivera F, Fan Y, Alkuraya FS, Donovan DJ. NFIA haploinsufficiency is associated with a CNS malformation syndrome and urinary tract defects. *PLoS Genet*. 2007 May 25;3(5):e80.
110. Chen CP, Huang MC, Chen YY, Chern SR, Wu PS, Su JW, Town DD, Wang W, 2013. Cri-du-chat (5p-) syndrome presenting with cerebellar hypoplasia and

hypospadias: prenatal diagnosis and aCGH characterization using uncultured amniocytes. *Gene.*; 524(2):407-11

111. Tzetis M¹, Kitsiou-Tzeli S, Frysira H, Xaidara A, Kanavakis E. The clinical utility of molecular karyotyping using high-resolution array-comparative genomic hybridization. *Expert Rev Mol Diagn.* 2012 Jun;12(5):449-57

112. Vermeesch JR¹, Fiegler H, de Leeuw N, Szuhai K, Schoumans J, Ciccone R et al. Guidelines for molecular karyotyping in constitutional genetic diagnosis. *Eur J Hum Genet.* 2007 Nov; 15(11):1105-14