

# Fenotipska prezentacija konstitucijskih aberacija gena kromosoma 17

---

**Tomasović, Marin**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:216673>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-23**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Marin Tomasović**

**FENOTIPSKA PREZENTACIJA KONSTITUCIJSKIH ABERACIJA GENA  
KROMOSOMA 17**

**Diplomski rad**

**Akadska godina:  
2022./2023.**

**Mentor:  
izv. prof. prim. dr. sc. Bernarda Lozić, dr. med.**

**Split, Srpanj 2023.**

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Kromosom 17 .....	2
1.2. Fenotipske prezentacije učestalih konstitucijskih aberacija gena kromosoma 17 .....	2
1.2.1. Neurofibromatoza tip 1 .....	3
1.2.2. 17q11.2 delecijski sindrom .....	4
1.2.3. Charcot-Marie-Toothova bolest .....	5
1.2.4. Nasljedna motorna neuropatija sa sklonošću kompresivnoj paralizi .....	7
1.3. Fenotipska prezentacija rijetkih konstitucijskih aberacija gena kromosoma 17 .....	7
1.3.1. Miller-Dieker sindrom .....	7
1.3.2. 17p13.3 duplikacijski sindrom .....	8
1.3.3. Smith-Magenisov sindrom .....	8
1.3.4. Potocki-Lupski sindrom.....	9
1.3.5. Yuan-Harel-Lupski sindrom .....	10
1.3.6. 17q12 mikroduplikacijski sindrom .....	10
1.3.7. 17q12 mikrodelecijski sindrom .....	11
1.3.8. Koolen-de Vries sindrom .....	12
1.4. Metode molekularne citogenetike .....	12
1.4.1. Komparativna genomska hibridizacija .....	12
1.4.2. Metoda istovremenog umnažanja vezanih proba .....	13
1.4.3. Sekvenciranje sljedeće generacije .....	14
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	15
2.1. Ciljevi istraživanja .....	16
2.2. Hipoteza.....	16
3. MATERIJALI I METODE .....	17
3.1. Ispitanici .....	18
3.2. Ustroj istraživanja .....	18
3.3. Etička načela .....	18
3.4. Opis istraživanja.....	18
3.5. Statistička analiza podataka .....	19
4. REZULTATI.....	20
5. RASPRAVA .....	31

6. ZAKLJUČCI.....	36
7. LITERATURA.....	38
8. SAŽETAK .....	48
9. SUMMARY .....	50
10. ŽIVOTOPIS .....	52

## **Zahvala**

*Zahvaljujem se svima koji su bili uz mene na usponu na ovu goru sa sedam krugova.*

*Pogotovo mentorici na (s)trpljenju sa mnom, mojim roditeljima i prijateljima.*

## POPIS OZNAKA I KRATICA:

aCGH – komparativna genomski hibridizacija (engl. *array comparative genomic hybridization*)

ASDII – atrijski septalni defekt tipa secundum (engl. *secundum atrial septal defect*)

CMA – kromosomski *microarray* (engl. *chromosomal microarray*)

CMMRD – sindrom s konstitucijskim nedostatkom gena za popravak pogrešno sparenih baza DNA (engl. *constitutional mismatch repair deficiency*)

CMT – Charcot-Marie-Toothova bolest (engl. *Charcot-Marie-Tooth disease*)

CNV – varijacije u broju kopija (engl. *copy number variations*)

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

DSS – sindrom Dejerine-Sottas (engl. *Dejerine-Sottas syndrome*)

FASI – fokalni hiperintenziteti signala (engl. *focal areas of signal intensity*)

FISH – fluorescentna *in situ* hibridizacija (engl. *fluorescent in situ hybridization*)

HNPP – nasljedna motorna neuropatija sa sklonošću kompresivnoj paralizi (engl. *hereditary motor neuropathy with liability to pressure palsies*)

HT – heterozigot

KdVS – Koolen-de Vries sindrome (engl. *Koolen-de Vries syndrome*)

LCR – ponavljanje malog broja kopija (engl. *low copy repeats*)

MDS – Miller-Diekerov sindrom (engl. *Miller-Dieker syndrome*)

MLPA – metoda istovremenog umnažanja vezanih proba (engl. *multiplex ligation-dependent probe amplification*)

MODY5 – adultni dijabetes u mladih tip 5 (engl. *maturity-onset diabetes of the young type 5*)

NAHR – nealelna homologna rekombinacija (engl. *nonallelic homologous recombination*)

NCV – brzina provodljivosti živca (engl. *nerve conduction velocity*)

NF1 – neurofibromatoza tip 1 (engl. *neurofibromatosis type 1*)

NGS – sekvenciranje sljedeće generacije (engl. *next generation sequencing*, NGS)

OCT – optička koherentna tomografija (engl. *optical coherence tomography*)

PCR – polimerazna lančana reakcija (engl. *polymerase chain reaction*)

PSA – poremećaj iz spektra autizma

PTLS – Potocki-Lupski sindrom (engl. *Potocki-Lupski syndrome*)

SMS – Smith-Magenisov sindrom (engl. *Smith-Magenis syndrome*)

SNV – promjene jednog nukleotida (engl. *single nucleotide variant*)

VUS – varijante nejasnog značenja (engl. *variants of uncertain significance*)

YUHAL – Yuan-Harel-Lupski sindrom (engl. *Yuan-Harel-Lupski syndrome*)

WES - sekvenciranje cijeloga egzoma (engl. *whole exome sequencing*)

WGS - sekvenciranje cijeloga genoma (engl. *whole genome sequencing*)

## **1. UVOD**



## 1.1. Kromosom 17

Molekulu DNA prvi je izolirao i opisao mladi švicarski liječnik Friedrich Mieschel 1869. godine. Nazvao ju je nuklein jer ju je izolirao iz leukocitnih nukleusa (1). Kasnije je otkriveno da DNA čini podlogu nasljeđivanja i biološku osnovu života. U staničnoj je jezgri svake tjelesne ljudske stanice DNA kondenzirana u 23 para kromosoma od kojih 22 para čine autosomni, a jedan par čine spolni kromosomi (2, 3). Jedan kromosom u paru nasljeđujemo od majke, a drugi od oca (4).

Kromosom 17 sadrži 83 257 441 parova baza, 1186 kodirajućih gena i 1331 nekodirajućih gena (5). Treći je kromosom po gustoći segmentalnih duplikacija, a drugi po gustoći gena (6). Čini oko 2,8% eukromatinskog genoma. Parove baza prekida deset eukromatskih praznina (engl. *eucromatic gaps*) veličine 854 kb od kojih je jedna u centromernoj regiji (7, 8). Usporedba s ortolognim regijama mišjeg kromosoma ukazuje da je humani kromosom prošao kroz reorganizaciju mehanizmom brojnih segmentalnih duplikacija. Njegova ga struktura čini podložnim nealelnoj homolognoj rekombinaciji (engl. *nonalelic homologous recombination*, NAHR), koja je uzrok većine mikrodelecijskih i mikroduplikacijskih sindroma (8, 9).

## 1.2. Fenotipske prezentacije učestalih konstitucijskih aberacija gena kromosoma 17

Gubitak genskog materijala u regiji 17p12 uzrokuje nasljednu motornu neuropatiju sa sklonošću kompresivnoj paralizi (engl. *hereditary motor neuropathy with liability to pressure palsies*, HNPP) (8, 10). Delecija 17p11.2 regije uzrokuje Smith-Magenisov sindrom (engl. *Smith-Magenis syndrome*, SMS) (8, 11, 12), a mikrodelecija regije 17p13.3 povezana je sa svim slučajevima Miller-Dieker sindroma (engl. *Miller-Dieker syndrome*, MDS) i velikim brojem slučajeva izolirane lizencefalije (8, 13).

Najpoznatija je bolest koja nastaje dobitkom genetskog materijala na kromosomu 17 Charcot-Marie-Tooth tip 1A (engl. *Charcot-Marie-Tooth type 1A*, CMT1A). Uzrokovana je duplikacijom gena *PMP22* (engl. *peripheral myelin protein 22*, *PMP22*) (8, 14, 15). Također, kompleksna arhitektura kromosoma 17 može dovesti do formacije izodicentričkog dugog kraka kromosoma 17 koji je povezan s nekoliko malignih bolesti (8, 16).

Nadalje, važno je spomenuti da se gen *BRCA1* (engl. *breast cancer gene*, *BRCA1*), koji je uzročnik ranog raka dojke, gen *NF1* (engl. *neurofibromin 1*), čija aberacija dovodi do razvoja neurofibromatoze tip 1 i tumor supresor gen *TP53* (engl. *tumor protein p53*, *TP53*) također nalaze na kromosomu 17 (8).

### 1.2.1. Neurofibromatoza tip 1

Neurofibromatoza tip 1 (NF1) neurokutana je bolest autosomno dominantnog mehanizma nasljeđivanja (17, 18). Prvi je opisao von Recklinhausen 1882. godine (19). Prevalencija bolesti bila je oko 1:3000 djece u istraživanju koje je proučavalo prevalenciju neurofibromatoze tipa 1 u populaciji djece pri upisu u osnovnu školu (20). Uzrok je bolesti konstitucijska aberacija tumor supresorskog gena *NF1* lociranog u regiji 17q11.2 (19). Gen *NF1* veličine je 350 kb i sadrži 60 eksona (21, 22). Kodira citoplazmatski protein neurofibromin koji se najviše eksprimira u neuronima, Schwanovim stanicama, oligodendrocitima i leukocitima (#MIM 613113). Neurofibromin regulira RAS signali put, ERK/MAP kinaznu kaskadu, adenilat-ciklazu i citoskeletni sklop (23) (#MIM 613113). Heterozigotne delecije ili patološke varijante gena *NF1* uzrokuju neurofibromatozu tip 1, neurofibromatozu Noonan sindrom, obiteljsku neurofibromatozu spinalnog tipa i sindrom Watson (#MIM 613113). Potpora je teorije da neurofibromin djeluje kao tumor supresor mutacija gena *NF1* po Knudsonovom modelu drugog pogotka u benignim i malignim tumorima bolesnika s neurofibromatozom tip 1 (22, 24, 25). *De novo* varijanta uzrok je bolesti u 40 - 50% slučajeva (18). Karakteristika neurofibromatoze tip 1 je vrlo visoka penetrantnost i varijabilna ekspresivnost (18).

Tipične su dermatološke promjene u osoba s neurofibromatozom tip 1: *café au lait* pjege, dermalni neurofibromi i aksilarna ili ingvinalna pjegavost. Neurofibromi mogu biti kutani, supkutani, nodularni ili difuzni pleksiformni i spinalni (19). Intrakutani neurofibromi ne alteriraju maligno, dok pleksiformni imaju sklonost malignoj alteraciji (19). Ekstradermalne promjene uključuju Lischove nodule, optički gliom, pleksiformne neurofibrome i koštane abnormalnosti. Bolesnici se mogu prezentirati simptomima iz neuropsihijatrijskog spektra, poremećajima učenja i deficit pažnje/hiperaktivnim poremećajem (26). Benigni i maligni tumori središnjeg i perifernog živčanog sustava te ostalih dijelova tijela češći su u osoba s neurofibromatozom tip 1 (19, 27).

Dijagnoza neurofibromatoze tip 1 postavlja se na temelju skupine revidiranih kriterija objavljenih 2021. godine u radu Legiusa i suradnika (28). Kriteriji su objavljeni kao zajednička odluka stručnjaka u području neurofibromatoze. Uvjeti za postavljanje dijagnoze postojanje su dvaju ili više navedenih kriterija ako se radi o osobi koja nema roditelja dijagnosticiranog s NF1 ili postojanje jednog ili više kriterija u slučaju da osoba ima roditelja koji ima dijagnosticiranu NF1 (Tablica 1) (28). Kriteriji imaju nižu osjetljivost u djece jer se neki dijagnostički znakovi pojave tek u kasnijoj dobi (28, 29). U slučaju da osoba zadovoljava samo pigmentne kriterije, treba diferencijalno dijagnostički razmotriti Legiusov sindrom, Noonanov

sindrom s multiplim pjegama (engl. *Noonan syndrome with multiple lentiges*) i sindrom s konstitucijskim nedostatkom gena za popravak pogrešno sparenih baza DNA (engl. *constitutional mismatch repair deficiency – CMMRD*) (28).

**Tablica 1.** Izmijenjeni dijagnostički kriteriji za neurofibromatozu tip 1 (28)

**A:** Dijagnostički kriteriji za NF1 zadovoljeni su u osoba koji nemaju roditelja dijagnosticiranog s NF1 ako su prisutna dva ili više navedenih kriterija:

- šest ili više *café au lait* pjega širih od 5 mm u najvećem promjeru prije puberteta i preko 15 mm u najvećem promjeru poslije puberteta<sup>a</sup>
- aksilarna ili ingvinalna pjegavost
- dva ili više neurofibroma bilo kojeg tipa ili jedan pleksiformni neurofibrom
- gliom optičkog puta
- dva ili više šarenična Lischova čvorića dijagnosticirana procjepnom lampom ili dvije ili više abnormalnosti žilnice – definirani kao svijetli, pjegavi čvorići dijagnosticirani s optičkom koherentnom tomografijom (engl. *optical coherence tomography, OCT*)
- karakteristična koštana lezija kao sfenoidna displazija<sup>b</sup>, anterolateralno savinuće korteksa tibije ili pseudoartroza duge kosti
- heterogena patogena varijanta gena *NF1* s varijantom alelna frakcije od 50% u naočigled normalnom tkivu kao što su bijele krvne stanice

**B:** Djetetu roditelja koji zadovoljava kriterije određene u A možemo postaviti dijagnozu NF1 ako su jedna ili više kriterija iz A prisutne

<sup>a</sup> Ako su samo *café au lait* pjege i pjegavost prisutni, dijagnoza je najvjerojatnije NF1, ali, iznimno, osoba može imati drugu dijagnozu kao što je Legiusov sindrom (engl. *Legius syndrome*). Barem jedna od dvije pigmentarne pojave (*café au lait* pjege ili pjegavost) mora biti bilateralna.

<sup>b</sup> Displazija krila sfenoidne kosti nije odvojen kriterij u slučaju ipsilateralnog orbitalnog pleksiformnog neurofibroma

Postojanje patogene varijante gena *NF1* samo po sebi nije dovoljno za postavljanje dijagnoze neurofibromatoze tip 1. Potrebno je da još jedan kriterij bude pozitivan ako se radi o osobi koja nema pozitivnu obiteljsku anamnezu. Također, potrebno je ortogonalnom metodom dokazati da je varijanta patogena i dokazati radi li se o konstitucijskoj, mozaičkoj ili somatskoj varijanti (28, 30). Metode su koje se mogu koristiti za genetički dokaz bolesti sekvenciranje genomske i/ili komplementarne DNA, analiza delecija i duplikacija metodama kvantitativnog PCR (engl. *polymerase chain reaction, PCR*), MLPA (engl. *multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA*) ili CMA (engl. *chromosomal microarray, CMA*) i kariotip kao metoda s najmanjom stopom detekcije varijante (31).

### 1.2.2. 17q11.2 delecijski sindrom

Delecija 17q11.2 regije dovodi do gubitka gena *NF1* i susjednih gena te regije što dovodi do kliničke slike neurofibromatoze tip 1. Veličina delecije je oko 1,4 Mb, a ima je 5 – 20% bolesnika s neurofibromatozom tip 1 (32, 33) (#MIM 613675). Postoje tri tipa delecija

ove regije od kojih je najčešći tip 1. Uzrokovan je NAHR-om i dovodi do gubitka četrnaest funkcionalnih gena. Drugi tip delecije dovodi do gubitka trinaest funkcionalnih gena i povezan je sa somatskim mozaicizmom, a točke loma su unutar gena *SUZ12* i pseudogena *SUZ12P*. Treći su tip delecije atipične delecije koje variraju u veličini i nemaju ponavljajuće točke loma (34) (#MIM 613675).

Delecija ove regije dogodi se s učestalošću od 1 na 60 000 osoba (35, 36). Nasljeđuje se autosomno dominantno (#MIM 613675). Osobe s 17q11.2 delecijiskim sindromom često imaju težu kliničku sliku od većine bolesnika s neurofibromatozom tip 1. Češće je pridružena dismorfija lica i intelektualni razvojni poremećaj s ranijom pojavom većeg broja neurofibroma (37) (#MIM 613675). Također imaju veći rizik obolijevanja od malignih tumora perifernih živčanih ovojnica (38) (#MIM 613675).

### **1.2.3. Charcot-Marie-Toothova bolest**

Charcot-Marie-Toothova bolest (engl. *Charcot-Marie-Tooth disease*, CMT) skupina je nasljednih motornih i senzornih perifernih neuropatija s heterogenom fenotipskom prezentacijom (39). Jean-Martin Charcot i njegov učenik Pierre Marie paralelno su je opisali s neurologom Henryjem Toothom 1886. godine (40). Mehanizam nasljeđivanja najčešće je autosomno dominantni, a prevalencija bolesti je 1:2 500 osoba (41, 42). Simptomi se obično pojave do dobi od tridesete godine života (43). Distalna mišićna slabost donjih ekstremiteta, gubitak osjeta i refleksa te deformacija stopala karakteristike su CMT1A podtipa, no postoji fenotipska varijabilnost (44). Prva je manifestacija CMT bolesti distalna mišićna slabost donjih ekstremiteta koja postupno napreduje prema kranijalno. S vremenom dolazi do deformacije stopala (*pes cavusa* i čekićastih prstiju) i slabosti šake. Gube se najprije Ahilovi refleksi, potom patelarni i naposljetku i refleksi gornjih ekstremiteta. Senzorni su simptomi gubitak osjeta propriocepcije i vibracije, a potom i boli i temperature distribucije po tipu "čarapa i rukavica" (engl. *stocking and glove distribution*) (42).

Elektromiografija i brzina provodljivosti živca (engl. *nerve conduction velocity*, NCV) omogućavaju kliničko razlikovanje tipa bolesti i usmjeruju gensko testiranje jer se po samom fenotipu ne mogu razlikovati aksonalni i demijelinizirajući tip bolesti (42). Na temelju brzine provodljivosti živca i načina nasljeđivanja, CMT se može klasificirati na demijelinizirajući, aksonalni i intermedijalno dominantni. Normalna je brzina provodljivosti živca od 40 do 45 m/s. Demijelinizirajući (CMT1) tip ima brzinu provodljivosti živca manju od 35 m/s. Karakterizira ga sporo progresivni razvoj distalne mišićne slabosti i gubitka osjeta često praćen *pes cavus* deformitetom i obostranim padom stopala. Manje od 5% populacije koja boluje od CMT1 postane ovisno o kolicima, a životni im je vijek normalan. Aksonalni tip (CMT2) ima

normalnu brzinu provodljivosti živca. Fenotip mu se preklapa s demijelinizirajućom perifernom neuropatijom, ali bolesnici imaju manje izražene senzorne simptome i manju onesposobljenost. Intermedijalno dominantni CMT ima brzinu provodljivosti živca od 35 do 45 m/s. Klinička je slika slična klasičnoj prezentaciji CMT. Kako brzina provodljivosti ima širok raspon, u ovoj skupini dio bolesnika spada u aksonalni, a dio u demijelinizirajući tip (43, 45). Sindrom Dejerine-Sottas (engl. *Dejerine-Sottas syndrome*, DSS) teška je demijelinizirajuća neuropatija koja također spada u CMT skupinu bolesti i čiji se naziv još koristi kao opis fenotipa (43, 46). Magy i suradnici 2018. godine predložili su novu klasifikaciju na temelju 74 gena povezanih s CMT-om (47). Navedena klasifikacija, uz genetiku, u obzir uzima i način nasljeđivanja te tip neuropatije (47).

CMT1A je najčešći podtip CMT-a. Uzrokovan je mutacijom ili duplikacijom gena *PMP22*, u regiji 17p12, koji kodira periferni mijelin protein-22 (#MIM 118220). CMT1A se dijagnosticira s većom uspješnošću od ostalih podtipova (39). Dijagnostika se oslanja na anamnezu i fizikalni pregled kojima želimo isključiti bolesti koje se razlikuju od CMT-a. Potrebno je uzeti obiteljsku anamnezu unatrag tri generacije i posebnu pažnju posvetiti osobama s neurološkom simptomatologijom. Nakon toga slijedi molekularno genetičko testiranje. Ono može testirati ciljane gene (eng. *gene-targeted testing*), što uključuje testiranje pojedinog gena ili multigenski panel (eng. *multigene panel*). Moguće je napraviti opsežno testiranje genoma kao sekvenciranje eksoma (engl. *exome sequencing*) ili eksomski *array* (engl. *exome array*). Kao prvi test se preporučuje testiranje na deleciju ili duplikaciju gena *PMP22* koji čini 50% cijele CMT skupine. Ako je prvi nalaz uredan, sljedeći je korak multigenski panel s osam najčešćih gena. Ako nakon prva dva koraka nije pronađen genski uzrok, može se napraviti sekvenciranje eksoma ili sveobuhvatnije sekvenciranje genoma (43).

#### **1.2.4. Nasljedna motorna neuropatija sa sklonošću kompresivnoj paralizi**

Nasljedna motorna neuropatija sa sklonošću kompresivnoj paralizi uzrokovana je delecijom gena *PMP22* ili delecijom cijele 17p12 regije (48, 49). Mala ili točkasta mutacija u genu *PMP22* može dovesti do fenotipa sa značajkama CMT1A i HNPP-a. Prevalencija HNPP-a je otprilike 7 – 16 na 100 000 osoba (49, 50). Nasljeđuje se autosomno dominantno. Penetrantnost je 100%, a ekspresivnost je jako varijabilna (51). Nizozemski neurolog De Jong prvi je opisao HNPP 1947. godine. U radu je opisao dvije obitelji s HNPP-om i mladog rudara ugljena koji je nakon dva tjedna provedena u rudniku razvio neuropatiju lijevoga n. peroneusa (49, 52, 53).

HNPP se klinički prezentira kao akutna, ponavljajuća senzorna i motorna neuropatija. Može zahvatiti jedan ili više živaca (51). Simptomi se obično pojave između drugog i trećeg desetljeća života, iako postoje opisani slučajevi početne prezentacije bolesti u novorođenčeta i osamdesetogodišnjaka (49, 54, 55). Prvi je simptom obično bezbolna fokalna senzorna i motorna neuropatija koja traje danima ili tjednima (51, 56, 57). Posljedice u obliku kronične neuropatske boli ostanu u 50 do 75% slučajeva (51). U istraživanju Beales i suradnika bol je perzistirala dulje od tjedan dana u 74% osoba (51, 58).

U fizikalnom statusu možemo primijetiti mišićnu slabost i atrofiju, oslabljene reflekse i senzornu simptomatologiju te rijetko *pes cavus* (49, 59). Muškarci imaju težu prezentaciju s češćom paralizom živca i elektrofiziološkim abnormalnostima (51, 60). Najčešće su zahvaćeni živci n. peroneus, n. ulnaris, brahijalni plexus, n. radialis i, najrjeđe n. medianus (49, 59). Ono što razlikuje HNPP od CMT-a lakša je klinička slika i zahvaćenost samo pojedinih živaca (49, 61).

Dijagnoza se postavlja dokazom delecije regije koja uključuje gen *PMP22* ili molekularno genetičkim dokazom patogene ili vjerojatno patogene varijante istog gena (51).

### **1.3. Fenotipska prezentacija rijetkih konstitucijskih aberacija gena kromosoma 17**

#### **1.3.1. Miller-Dieker sindrom**

Miller-Dieker sindrom rijedak je poremećaj uzrokovan ponavljajućom delecijom 17p13.3 regije (62). Prvi se put pojavljuje u literaturi 1963. godine kada je Miller opisao sindrom u kojemu je glavno obilježje bila lizencefalija. Dieker je 1969. godine opisao sličan fenotip (63). Procjena učestalosti je 1 na 100 000 živorođenih poroda, iako je vjerojatno da su prevalencija i incidencija više (64).

Deletirani su geni *YWHAE*, *PAFAH1B1* ili *LIS1*, *CRK*, *MYO1C* i *ABR* (62). Veličina delecije varira od 0,1 Mb do 2,9 Mb (65). Sindrom se nasljeđuje autosomno dominantno

(#MIM 247200). Delecija gena *LIS1* dovodi do abnormalnosti ili deficijencije neuralne migracije koja uzrokuje abnormalnosti giracije (65). Za razliku od izolirane lizencefalične sekvence, (engl. *isolated lissencephaly sequence*) osobe s Miller-Diekerovim sindromom imaju veće telomeričke delecije koje uključuju gen *YWHAE* koji kodira 14-3-3 epsilon protein (65).

Miller-Diekerov sindrom fenotipski se prezentira mikrocefalijom s bitemporalnim suženjem, a frontalnim izbočenjem glave, dismorfijom lica s tankom gornjom usnom i mikrognatijom, težim somatskim i razvojnim zaostajanjem, epilepsijom i lizencefalijom (62, 66).

### **1.3.2. 17p13.3 duplikacijski sindrom**

Zbog velike gustoće ponavljanja malog broja kopija (engl. *low copy repeats*, LCR), kratki krak sedamnaestog kromosoma podložan je submikroskopskim reorganizacijama (engl. *submicroscopic rearrangements*) (67). Duplikacije ove regije imaju različite uzroke, veličine i uključuju različite gene. Nadalje, mogu se prezentirati različitim fenotipovima (6). Prevalencija je 17p13.3 duplikacijskog sindroma manja od 1 na 100 000 osoba (68). Prema radu Sare M. Blazewski i suradnika iz 2018. godine, dosad je opisano samo 40 slučajeva (6).

Duplikacije te regije dijele se ovisno o zahvaćenosti gena *PAFAH1B1*. Navedena je duplikacija prisutna u drugom tipu, dok u prvom nije. Fenotip osoba s duplikacijom tipa 2 uključuje blago do teško somatsko i psihomotorno zaostajanje i hipotoniju. Od malformacija mozga prisutne su hipoplazija ili disgeneza korpusa kalozuma, blago smanjen volumen mozga i mali gubitak volumena malog mozga. Konvulzije su manje učestale nego u izoliranoj lizencefaličnoj sekvenci. Malformacije su ostalih organa rijetke. Moguća je dismorfija lica u osoba s duplikacijom gena *PAFAH1B1* (69). Tip 1 17p13.3 duplikacije prezentira se blagom dismorfijom lica, blagim malformacijama šaka i stopala, sklonošću postnatalnom prerastu (engl. *postnatal overgrowth*), zaostajanjem razvoja govora i motorike, poremećajima ponašanja i poremećajima iz spektra autizma (70) (#MIM 613215).

### **1.3.3. Smith-Magenisov sindrom**

Smith-Magenisov sindrom poremećaj je koji je u 90% slučajeva uzrokovan intersticijskom delecijom 17p11.2 regije veličine 3,7 Mb, no može biti uzrokovan i mutacijom gena *RAI1* (#MIM 182290). Najčešće se radi o *de novo* deleciji ili patogenoj varijanti gena *RAI1*, ali sindrom se može naslijediti i autosomno dominantno (71).

Ann Smith i njezini kolege prvi su izvijestili o ovom sindromu 1982. godine. Četiri godine poslije, 1986. godine, Smith i dr. R. Ellen Magenis prezentirali su devet bolesnika i dodatno opisali sindrom (72).

Prevalencija sindroma je oko 1 na 15 000 osoba (71, 73). Klinički se Smith-Magenisov sindrom prezentira razvojnim zaostajanjem, kognitivnim deficitom, poremećajima ponašanja i spavanja te pojasnom pretilosti s početkom u djetinjstvu. Većina ih ima lake do umjerene intelektualne poteškoće. Specifične su im fizičke karakteristike od kojih su najupečatljivije osebujne crte lica. U dojenačkoj dobi prisutni su izostanak normalnog fiziološkog razvoja, hipotonija, hiporefleksija, poteškoće hranjenja, opća letargija, produženo spavanje i potreba da se dojenče budi za hranjenje. Neki su od poremećaja ponašanja koji mogu biti prisutni: stereotipije, tantrumi, prkosljivost, agresija, i neprilagođeno i samoozljeđujuće ponašanje. Samogrljenje, to jest spazmatično stezanje gornjeg dijela tijela jedan je od poremećaja ponašanja specifičan ovom sindromu. Psihički problemi uključuju anksioznost i poremećaj pozornosti s hiperaktivnošću i impulzivnošću (71).

Dijagnoza se postavlja dokazom heterozigotne delecije 17p11.2 regije ili heterozigotnom patogenom varijantom gena *RAI1* (71).

#### **1.3.4. Potocki-Lupski sindrom**

Potocki-Lupski sindrom (engl. *Potocki-Lupski syndrome*, PTL5) rijedak je sindrom uzrokovan duplikacijom 17p11.2 regije (74). Prvi slučaj Potocki-Lupski sindroma opisan je 1996. godine, a prvi izvještaj sindroma objavljen je 2007. godine. Sindrom je dobio ime po istraživačima Lorraine Potocki i James R. Lupski koji su ga opisali (75, 76). Najčešći način nastanka sindroma je *de novo* duplikacija, ali postoje opisani slučajevi autosomno dominantnog načina nasljeđivanja (77, 78). Penetrantnost bolesti je 100%, a ekspresivnost je varijabilna (78). Prevalencija sindroma je oko 1 na 25 000 osoba (78-80).

Ključne su karakteristike Potocki-Lupski sindroma razvojno i intelektualno zaostajanje, blaga dismorfija lica, poremećaji ponašanja i zahvaćenost organskih sustava (75, 78, 81). U dojenačkoj dobi djeca su često hipotonična s orofaringealnom disfunkcijom, što pridonosi teškoćama hranjenja (75, 78, 82). Kad je o intelektualnom razvoju riječ, većina osoba ima umjereno intelektualno zaostajanje, dok je zaostajanje u razvoju govora prisutno u svih oboljelih (78, 81). U ponašanju prevladava deficit pažnje/hiperaktivni poremećaj. Usto, mogući su simptomi povlačenja i anksioznosti (78). U istraživanju Treadwell-Deering D.E. i suradnika potvrđeno je da oko 60% djece s Potocki-Lupski sindromom zadovoljava kriterije za PSA (78, 81). U 40% osoba s navedenim sindromom opisane su kardiovaskularne anomalije (75, 78, 83). Endokrinološki može postojati manjak hormona rasta, koji uzrokuje hipoglikemiju, iako je u radu Potockog L. i suradnika iz 2000.g deficit hormona rasta pronađen u jedne od pet osoba s niskim rastom, a u radu Potockog L. i suradnika iz 2007.g nije pronađen deficit hormona rasta ni u jednog ispitanika (75, 78, 84).



Dijagnoza sindroma može se postaviti dokazivanjem heterozigotne duplikacije regije 17p11.2 koja uključuje gen *RAI1* (78, 84).

### 1.3.5. Yuan-Harel-Lupski sindrom

Yuan-Harel-Lupski sindrom (engl. *Yuan-Harel-Lupski syndrome*, YUHAL) poznat je i kao *PMP22-RAI1* duplikacijski sindrom susjednih gena (engl. *PMP22-RAI1 contiguous gene duplication syndrome*). Radi se o neponavljajućoj duplikaciji koja obuhvaća oba gena i koja vjerojatno nastaje mehanizmom različitim od NAHR (85, 86). Lokacija je gena *PMP22* u regiji 17p12, a gen *RAI1* nalazi se 2,5 Mb dalje, u regiji 17p11.2 (#MIM 616652) (86). Sindrom sadrži karakteristike Charcot-Marie-Tooth bolesti tipa 1A i Potocki-Lupski sindroma, a nasljeđuje se autosomno dominantno (#MIM 616652).

Budući da je incidencija Potocki-Lupski sindroma 1:50 000 osoba, a CMT1A ima prevalenciju 1:2 500 osoba, procijenjena prevalencija YUHAL sindroma bila bi 1:125 000 000, ako se uzme u obzir da su duplikacije ovih gena odvojeni događaji. No, kako su lokusi blizu, postoji mogućnost da jedan duplikacijski događaj zahvati oba lokusa (86).

U istraživanju Yuan i suradnika od 127 ispitanika s duplikacijom koja zahvaća gen *RAI1*, dvadeset tri ispitanika imala su *PMP22-RAI1* duplikaciju, što upućuje na važnost testiranja osoba s Potocki-Lupski sindromom (86). Najučestaliji klinički simptomi u navedenom istraživanju bili su razvojno zaostajanje, osobito govorno-jezično, poremećaji hranjenja i poteškoće ponašanja. Pretpostavka je da se YUHAL sindrom može prezentirati težom kliničkom slikom zbog kombinacije abnormalnosti središnjeg i perifernog živčanog sustava. Početak hodanja ispitanika bio je od petnaest mjeseci do šest godina. Sedamnaest ispitanika, od njih dvadeset troje, imalo je medicinsku dokumentaciju. Devet od deset ispitanika razvilo je neuropatiju u prvih deset godina. Siringomijeliju su imala dva od četiri ispitanika kojima je snimana magnetna rezonanca. Strukturno abnormalnost bubrega imalo je troje ispitanika, uz jednog ispitanika s Alportovim sindromom čiji je slučaj objavljen u prijašnjoj publikaciji (86, 87). Prirođenu anomaliju srca imalo je pet ispitanika i u svih je zahvaćala izgonski trakt lijeve klijetke (engl. *left ventricular outflow tract*) (86).

### 1.3.6. 17q12 mikroduplikacijski sindrom

Ponavljajuća mikroduplikacija 17q12 regije veličine je 1.4 Mb. Nasljeđuje se autosomno dominantno. U oko 90% slučajeva mikroduplikacija se naslijedi od roditelja, a u 10% slučajeva nastane *de novo*. Penetrantnost je bolesti niska, a ekspresivnost varijabilna (88). Prema populacijskom istraživanju Stefanssona i suradnika, prevalencija je 1:2 675 osoba (88, 89).

Intelektualno i/ili razvojno zaostajanje prisutno je u 71%, a zaostajanje u govorno-jezičnom razvoju u 65% osoba s 17q12 mikroduplikacijskim sindromom. Većina bolesnika je hipotonično i zaostaje u motoričkom razvoju. Mikrocefalija, očne i endokrine abnormalnosti često su prisutne. Dio oboljelih boluje od shizofrenije, PSA ili ima određeni poremećaj ponašanja (88).

Dijagnostika se postavlja pomoću metode aCGH (engl. *array comparative genomic hybridization*, aCGH) ili ciljanim metodama kao FISH (engl. *fluorescent in situ hybridization*, FISH), kvantitativnim PCR-om i MLPA metodom (88).

### **1.3.7. 17q12 mikrodelecijski sindrom**

17q12 delecija u 75% osoba nastane *de novo*, a u jedne četvrtine naslijedi se od roditelja autosomno dominantnim mehanizmom nasljeđivanja (90). Prevalencija sindroma bila je 1:50 000 osoba u populacijskom istraživanju zdravih Europskih volontera (90, 91).

Klinički se osobe s 17q12 mikrodelecijskim sindromom prezentiraju s funkcionalnim ili strukturnim anomalijama bubrega i mokraćnog sustava, adultnim dijabetesom mladih tip 5 (engl. *maturity-onset diabetes of the young type 5*, MODY5) i neurorazvojnim ili neuropsihijatrijskim poremećajima. Neurorazvojni i neuropsihijatrijski simptomi uključuju razvojno zaostajanje, intelektualno zaostajanje, shizofreniju, anksioznosti, bipolarni poremećaj i PSA. Trećina žena s delecijom ove regije ima Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser sindrom (engl. *Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome*). Također, četvrtina muškaraca ima genitalne anomalije (90).

Dijagnoza se postavlja dokazom heterozigotne ponavljajuće mikrodelecije u regiji 17q12 veličine 1.4 Mb. Može se postaviti CMA metodom ili nekom od ostalih genetičkih metoda (90).

### 1.3.8. Koolen-de Vries sindrom

Uzrok Koolen-de Vries sindroma (engl. *Koolen-de Vries syndrome*, KdVS) heterozigotna je mutacija u genu *KANSL1* ili delecija 17q21.31 regije (#MIM 610443). Oba uzroka prezentiraju se jednakim fenotipom. Prevalencija je 1:30 000 osoba (92). Bolest se nasljeđuje autosomno dominantno, no češći uzrok je *de novo* varijanta (92).

Ekspresivnost je varijabilna, no jedan od simptoma prisutan u većine osoba je intelektualno i govorno-jezično zaostajanje. Također, čest je simptom hipotonija praćena problemima s hranjenjem. Trećina osoba boluje od epilepsije s dobrim odgovorom na lijekove. Prirođene anomalije najčešće zahvaćaju srce i bubrege. Velik broj muške djece ima kriptorhizam. Često su prisutni problemi s vidom kao strabizam, katarakta ili dalekovidnost. Od ortopedske patologije bolesnici mogu imati displaziju kuka i skoliozu. Karakterističan je izgled lica s širokim korijenom nosa, dugom kolumelom i izduljenim licem. Karakter im je obično prijateljski i kooperativan. Mogu imati PSA ili deficit pažnje/hiperaktivnost (92).

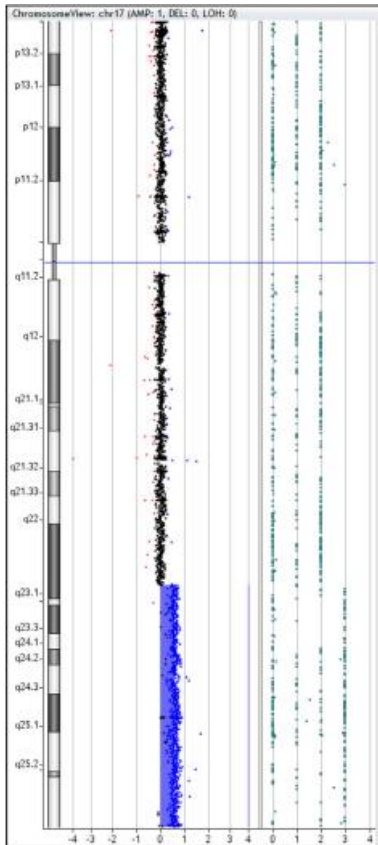
Bolest se dijagnosticira genetski, dokazivanjem delecije navedene regije ili patogene varijante gena *KANSL1*, ili klinički, na temelju karakterističnog fenotipa (92). Terapija se svodi na simptomatsko liječenje prirođenih anomalija i tegoba koje osobe imaju (92).

## 1.4. Metode molekularne citogenetike

### 1.4.1. Komparativna genomska hibridizacija

Komparativna genomska hibridizacija (engl. *array comparative genomic hybridization*, aCGH) citogenetička je metoda koja se temelji na hibridizaciji različito obilježene testne i kontrolne DNA na *microarrayu*. *Microarray* sastoji se od oligonukleotida vezanih za staklenu podlogu (Slika 1). Nakon denaturacije obilježena DNA hibridizira s oligonukleotidnim probama na stakalcu. Digitalni sustav analizira razinu fluorescencije i kvantificira je, što omogućuje usporedbu CNV-ova (engl. *copy number variations*, CNV) ispitanikovog i referentnog (normalnog) genoma (93).

aCGH metoda unaprijedila je detekciju genetskih poremećaja brzim pretraživanjem cijelog genoma na dobitke ili gubitke genskog materijala (93). U radu Schaffer L.G. i suradnika oko 12% ispitanika (od njih 8 789) imalo je CNV promjenu, a u 604 (6,9%) ispitanika promjena je bila klinički značajna (94). Prednost je aCGH-a analiza cijelog genoma na CNV-ove bez potrebe za kulturom stanica (93, 95), a nedostatak je nemogućnost prepoznavanja strukturnih kromosomskih promjena koje ne dovode do varijacija u broju kopija (95).



**Slika 1.** Prikaz aCGH nalaza ispitanika s duplikacijom na distalnom dijelu q kraka kromosoma 17 (96).

#### 1.4.2. Metoda istovremenog umnažanja vezanih proba

MLPA tehnika najčešće se upotrebljava za dijagnostiku varijacija broja kopija u eksonu (97). Oligonukleotidne probe sastoje se od dvaju dijelova. Nakon DNA denaturacije parovi oligonukleotidnih proba hibridiziraju na željenu gensku sekvencu. Nakon hibridizacije događa se spajanje njihovih krajeva. Probe koje su se spojile umnažaju se multiplex PCR-om. Fragmenti umnoženi PCR-om dijele se kapilarnom elektroforezom po dužini. *Software* uspoređuje rezultate elektroforeze s referentnim uzorcima koje reprezentiraju normalnu varijaciju broja kopija (98).

MLPA tehnika analizira manji, ali specifičniji dio genoma od aCGH, to jest ponavljajuće varijacije broja kopija. Prednost je što dobivamo rezultate koji su izravno povezani s ciljanom bolesti, a nedostatak je što MLPA ne može detektirati rijeke varijacije broja kopija (99).

### 1.4.3. Sekvenciranje sljedeće generacije

NGS (*engl. next Generation Sequencing, NGS*) je tehnologija sekvenciranja DNA koja je revolucionirala istraživanje genoma (100). U zadnjih petnaest godina sve više napreduje i sve više se počinje koristiti u kliničkoj praksi (101). U usporedbi sa sekvenciranjem po Sangeru, kojemu je trebalo više od deset godina za sekvenciranje genoma, NGS može analizirati cijeli genom unutar jednog dana. NGS metode paralelno sekvenciraju male DNA fragmente. Prednost je NGS-a što nam daje podatke koji su jednako vrijedni kao oni dobiveni FISH-om i komparativnom genomskom hibridizacijom uz još mnogo podataka o genomu. Osjetljivost ove metode se uvijek može povećavati što nam omogućava detekciju mozaicizma čak i u malom postotku (100).

Sekvenciranje cijeloga eksoma (*engl. whole exome sequencing, WES*), sekvenciranje cijeloga genoma (*engl. whole-genome sequencing, WGS*) i multigeniski paneli metode su koje primjenjuju NGS. Multigeniski paneli analiziraju eksone gena povezane s određenim fenotipom. WES analizira samo eksone, a WGS cijeli genom. Interpretacija nalaza se temelji na kategorizaciji varijanti u pet kategorija od benignih do patogenih na temelju internacionalnih kriterija. Podaci na kojima se temelje navedeni kriteriji uključuju podudarajući fenotip, genetičke baze podataka i znanstvenu literaturu. Također važno je uzeti u obzir genotipsku-fenotipsku korelaciju i kliničko iskustvo. Kliničaru se prezentiraju nalazi o patogenim i vjerojatno patogenim varijantama, a varijante nejasnog kliničkog značenja mogu se napredovanjem znanosti klasificirati u kategoriju benignih ili patogenih (102). Dobiveni rezultati testiranja važni su podaci za genetičku etiologiju kliničke dijagnoze kako bi medicinski genetičar odredio daljnji protokol praćenja i liječenja bolesnika kao i rizik ponavljanja bolesti u obitelji bolesnika.

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

## **2.1. Ciljevi istraživanja**

1. Istražiti fenotipsku varijabilnost u kliničkoj prezentaciji mikrolepcijskih/mikroduplicacijskih sindroma kromosoma 17.
2. Istražiti fenotipsku varijabilnost u kliničkoj prezentaciji bolesti uzrokovanih pojedinačnim patogenim varijantama gena kromosoma 17.
3. Usporediti genotipsko-fenotipsku korelaciju genetičkih bolesti kromosoma 17 ispitivane skupine s podacima iz znanstvene literature.
4. Odrediti učestalost mikrolepcijskih i mikroduplicacijskih sindroma kromosoma 17 u usporedbi s genetičkim aberacijama ostalih kromosoma.

## **2.2. Hipoteza**

Genotipsko-fenotipska korelacija genetičkih bolesti kromosoma 17 ispitanih bolesnika slaže se s podacima iz znanstvene literature.

### **3. MATERIJALI I METODE**



### **3.1. Ispitanici**

Od ukupno 1454 ispitanika upućenih na genetičko testiranje iz Ambulante za medicinsku genetiku u genetičke laboratorije u Hrvatskoj i u inozemstvu, u istraživanje su uključeni samo oni koji su imali pozitivan genetički nalaz konstitucijske aberacije gena na kromosomu 17.

Od 852 ispitanika u kojih je provedena aCGH analiza pozitivan nalaz imao je 141 ispitanik (16,5%), a od 602 u kojih su provedene MLPA i NGS analize pojedinačnih i različitih panela gena 11 ispitanika (1,8%) imalo je dokazanu patogenu ili vjerojatno patogenu varijantu gena na kromosomu 17.

Iz istraživanja su isključeni svi ispitanici s genetičkim aberacijama gena s lokusima na drugim kromosomima, kao i svi ispitanici s kliničkom dijagnozom genetičke bolesti bez pozitivnog nalaza genetike.

### **3.2. Ustroj istraživanja**

Provedeno je retrospektivno presječno istraživanje. Istraživanje je u cijelosti provedeno u Kliničkom Bolničkom Centru Split pri Klinici za dječje bolesti u vremenskom razdoblju od 1. siječnja 2018. do 31. prosinca 2022. godine.

### **3.3. Etička načela**

Istraživanje je usklađeno s odredbama o zaštiti prava i osobnih podataka ispitanika u skladu sa Zakonom o zaštiti prava pacijenata (NN169/04) te prilagođeno odredbama Kodeksa liječničke etike i deontologije (NN55/08, 139/15) i pravilima Helsinške deklaracije WMA 1964 - 2013 na koje upućuje Kodeks. Istraživanje je odobreno rješenjem pod brojem 2181-147/01/06/LJ.Z.-23-02.

### **3.4. Opis istraživanja**

Uzorci bolesnika sakupljeni su iz nalaza arhiva Laboratorija za humanu genetiku, arhiva "bolničkog informacijskog sustava" te iz specijalističkih nalaza liječnika užih specijalista medicinske genetike.

Analizirani su rezultati nalaza bolesnika različitog fenotipa kojima je u posljednjih pet godina zatražena aCGH. Izdvojeni su pozitivni nalazi, a nakon toga je napravljena distribucija pozitivnih nalaza po kromosomskim regijama. Završno su izdvojeni samo ispitanici s mikrodelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima gena kromosoma 17.

Također, filtrirani su ispitanici poslani na MLPA i sekvenciranje pojedinačnog gena ili panela gena pod sumnjom na neku od genetičkih bolesti na način da su izdvojeni samo oni s pozitivnim nalazom genetičkog testa. Konačno, izdvojeni su ispitanici s patogenim varijantama gena mapiranih na kromosomu 17.

Naposljetku, objašnjena je fenotipska varijabilnost u kliničkoj prezentaciji CNV sindroma lociranih na kromosomu 17 i klinička prezentacija bolesti uzrokovanih patogenim i vjerojatno patogenim varijantama pojedinih gena kromosoma 17. Također, uspoređeno je slaže li se fenotipsko-genotipska korelacija genetičkih bolesti kromosoma 17 ispitanika s podacima iz znanstvene literature.

### **3.5. Statistička analiza podataka**

U radu je korišten izračun postotka da bi se pokazao udio ispitanika s pozitivnim genetičkim nalazima.

## **4. REZULTATI**

U istraživanje je uključeno 852 ispitanika s nalazom aCGH čiji su rezultati dobiveni u proteklih pet godina, a pozitivan rezultat pronađen je u 141 ispitanika (16,5%). Distribucija ispitanika s pozitivnim nalazom aCGH prema broju i spolu u skupinama prikazana je u Tablici 2.

**Tablica 2.** Prikaz ispitanika s pozitivnim nalazom aCGH prema broju i spolu u skupinama

Karakteristike skupine	Delecije	Duplikacije	Složeni CNV-ovi	Ukupno
No* (%)	80 (57%)	40 (28%)	21 (15%)	141 (100%)
Spol† (No) (%)	51 (64%)/29 (36%)	22 (55%)/18 (45%)	12 (57%)/9 (43%)	85 (60%)/56 (40%)

\* No - broj ispitanika; † M - muško, Ž - žensko; CNV - engl. *copy number variation*; Složeni CNV-ovi - ispitanici s dva ili više CNV-a

Delecijski sindromi bili su najučestalija aberacija u ispitivanoj skupini (57%). Nadalje, muškarci su bili zastupljeniji od žena u sve tri ispitivane skupine s najvišom učestalošću unutar skupine delecijskih sindroma (64%).

Delecijski sindromi podijeljeni su prema broju, spolu i postotku ispitanika po kromosomu u odnosu na ukupan broj delecija (Tablica 3).

**Tablica 3.** Distribucija svih ispitanika s pozitivnim nalazom aCGH s delecijom po kromosomima

Kromosom	Delecije (No*) (%)	Spol †
1	2 (2,5%)	1/1
2	10 (12,5%)	6/4
3	5 (6,25%)	3/2
4	3 (3,75%)	2/1
5	5 (6,25%)	3/2
6	2 (2,5%)	2/0
7	11 (13,75%)	5/6
8	3 (3,75%)	2/1
9	1 (1,25%)	1/0
10	0	0
11	0	0
12	1 (1,25%)	0/1
13	1 (1,25%)	1/0
14	0	0
15	4 (5%)	2/2
16	7 (8,75%)	5/2
<b>17</b>	<b>7 (8,75%)</b>	4/3
18	1 (1,25%)	0/1
19	1 (1,25%)	1/0
20	0	0
21	0	0
<b>22</b>	<b>14 (17,5%)</b>	11/3
X	2 (2,5%)	2/0
Y	0	0

\* No – broj ispitanika; † M - muško, Ž - žensko

Najzastupljeniji delecijski sindrom bio je na kromosomu 22. Od 80 ispitanika s delecijom, četrnaest ispitanika (17,5%) imalo je deleciju na 22. kromosomu. Drugi po učestalosti je kromosom 7 s jedanaest (13,75%) ispitanika. Treći po učestalosti je kromosom 2 s deset ispitanika (12,5%). Na kromosomu 16 i kromosomu 17 deleciju je imalo po sedam (8,75%) ispitanika.

Na isti je način napravljena distribucija ispitanika s duplikacijom po kromosomima, što je prikazano u Tablici 4.

**Tablica 4.** Distribucija svih ispitanika s pozitivnim nalazom aCGH s duplikacijom po kromosomima

<b>Kromosom</b>	<b>Duplikacije (No*) (%)</b>	<b>Spol †</b>
1	3 (7,5%)	1/2
2	1 (2,5%)	1/0
3	1 (2,5%)	1/0
4	0	0
5	3 (7,5%)	2/1
6	2 (5%)	1/1
7	0	0
8	2 (5%)	0/2
9	0	0
10	0	0
11	2 (5%)	1/1
12	0	0
13	1 (2,5%)	0/1
14	1 (2,5%)	0/1
<b>15</b>	<b>7 (17,5%)</b>	4/3
16	3 (7,5%)	2/1
<b>17</b>	<b>5 (12,5%)</b>	3/2
18	1 (2,5%)	1/0
19	0	0
20	1 (2,5%)	0/1
21	1 (2,5%)	0/1
22	2 (5%)	2/0
X	4 (10%)	3/1
Y	0	0

\* No – broj ispitanika; † M - muško, Ž - žensko

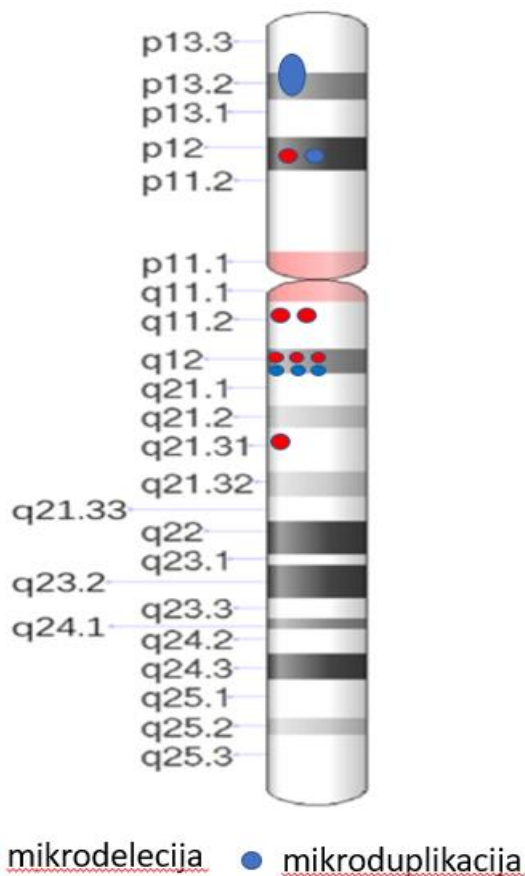
Najviše je ispitanika, njih sedam, imalo duplikaciju na kromosomu 15 (17,5%), Druga duplikacija po učestalosti bila je na kromosomu 17 koju je imalo petero ispitanika (12,5%).

Izdvojeni su ispitanici s mikrolepcijskim/mikroduplikacijskim sindromima kromosoma 17 podijeljeni prema vrsti aberacije (Tablica 5) i grafički prikazani prema zahvaćenim lokusima (Slika 2).

**Tablica 5.** Distribucija ispitanika s mikrodelecijskim/mikroduplicacijskim sindromima kromosoma 17 prema broju i spolu u skupinama

Karakteristike skupine	Mikrodelecije	Mikroduplicacije	Složeni CNV-ovi	Ukupno
No* (%)	7 (58%)	5 (42%)	0	12 (100%)
Spol M/Ž† (No) (%)	4 (57%)/3 (43%)	3 (60%)/2 (40%)	0	7 (58%)/5 (42%)

\* No - broj ispitanika; † M - muško, Ž - žensko; Složeni CNV- ovi - ispitanici s 2 ili više CNV-a

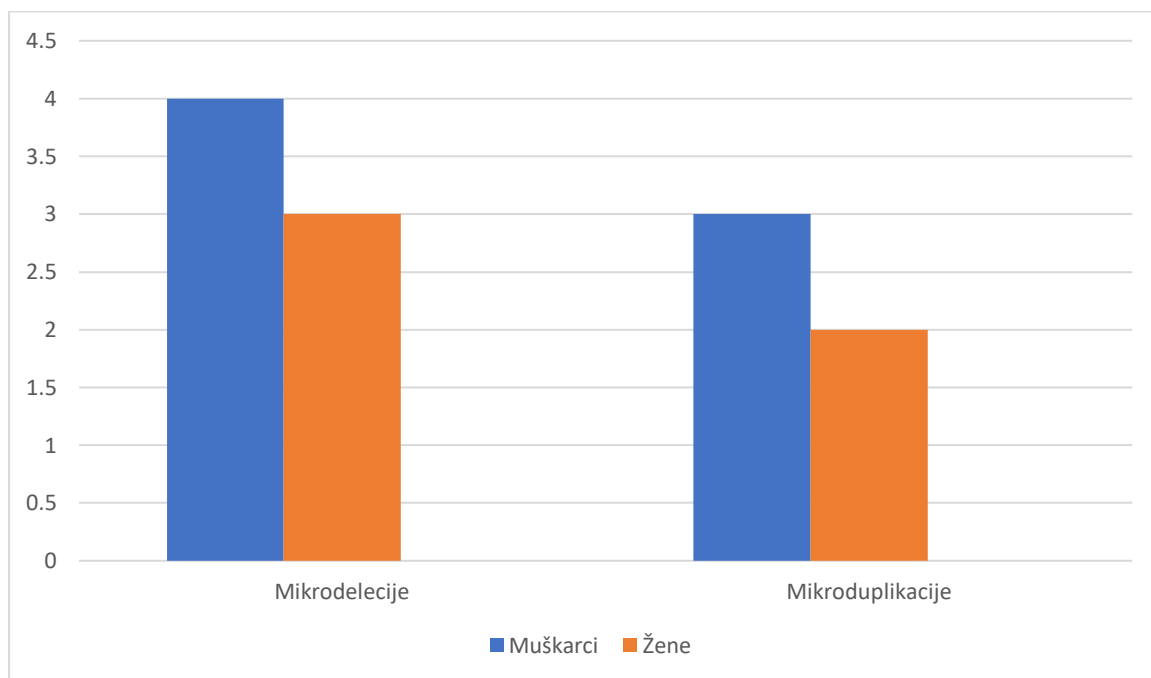


**Slika 2.** Shematski prikaz distribucije ispitanika s CNV-ovima na ideogramu kromosoma 17.

IZVOR: Originalna slika kromosoma 17 preuzeta s izvora (103).

Veći dio ispitanika ima CNV-ove locirane u proksimalnom dijelu dugog kraka kromosoma 17 i to regiji 17q12 s podjednakom pojavom mikrodelecija i mikroduplicacija. Najučestalije aberacije kromosoma 17 bili su različiti mikrodelecijski sindromi dijagnosticirani

u sedam od dvanaest (58%) ispitanika. U obje skupine aberacija dominirao je muški spol što je prikazano i grafički na Slici 3.



**Slika 3.** Distribucija ispitanika s mikrodelecijskim/mikroduplikacijskim sindromima kromosoma 17 prema vrsti CNV-a i spolu

Nadalje, izdvojeni su ispitanici s mikrodelecijskim sindromima na kromosomu 17 i podijeljeni po lokusu, veličini, klasifikaciji varijante, morbidnim genima, dobi, spolu i fenotipu, a što je prikazano u Tablici 6.



**Tablica 6.** Karakteristike molekularne citogenetike i fenotipa ispitanika s mikrodelecijskim sindromom kromosoma 17

No*	Lokus	Veličina, Mb	Klasifikacija varijante	Morbidni geni	Dob	Spol <sup>†</sup>	Fenotip
1	(17p12)x1	1,33	Patogena	<i>COX10</i> <i>PMP22</i>	16 g.	M	simptomi HNPP-a
2	(17q12)x1	1,63	Patogena	<i>CCL3L1</i> <i>ZNHIT3</i> <i>PIGW</i> <i>ACACA</i> <i>HNF1B</i>	2 g.	Ž	insomnija, dismorfija, PSA, nizak rast, genitourinarne anomalije, relativna makrocefalija
3	(17q12)x1	1,63	Patogena	<i>CCL3L1</i> <i>ZNHIT3</i> <i>PIGW</i> <i>ACACA</i> <i>HNF1B</i>	5 g.	M	razvojno zaostajanje, PSA
4	(17q12)x1	0,381	VUS	<i>GPR179</i>	12 g.	M	-
5	(17q11.2)x1	1,27	Patogena	<i>NF1</i>  <i>SUZ12</i>	9 g.	Ž	dvanaest <i>café au lait</i> pjega, aksilarna pjegavost, dismorfija, razvojno zaostajanje
6	(17q11.2)x1	0,33231	Patogena	<i>NF1</i> <i>OMG</i> <i>EVI2B</i> <i>EVI2A</i> <i>RAB11FIP4</i>	4 mj.	M	sedamdeset <i>café au lait</i> pjega, jedan pleksiformni neurofibrom, gliom optičkog puta, anterolateralno savinuće korteksa lijeve tibije, dismorfija, razvojno zaostajanje
7	(17q21.31)x1	0,921	Patogena	<i>MAPT</i> <i>KANSL1</i>	2 g.	Ž	pectus excavatum, dismorfija, usporen motorni i govorno-jezični razvoj Dg.: Koolen de Vries sindrom

\* No – broj ispitanika; <sup>†</sup> M - muško; Ž - žensko; g. – godina; mj.– mjesec; Mb - mega baza; PSA - Poremećaj iz spektra autizma; VUS - engl. *variant of uncertain significance*; HNPP-engl. *hereditary motor neuropathy with liability to pressure palsies*

Najučestaliji mikrodelecijski sindrom, lociran u 17q12 regiji, pronađen je u tri ispitanika.

Patogene varijante slične veličine i s istim sadržajem morbidnih gena imala su dva od tri ispitanika s 17q12 mikrodelecijom. Prezentirali su se vrlo sličnim fenotipom razvojnog zaostajanja i simptomima iz autističnog spektra.

Tablica 7. sadrži prikaz izdvojenih ispitanika s mikroduplicacijskim sindromima na kromosomu 17 i podijeljenih po lokaciji, veličini, klasifikaciji varijante, dobi, spolu i fenotipu.

**Tablica 7.** Karakteristike molekularne citogenetike i fenotipa ispitanika s mikroduplicacijskim sindromom kromosoma 17

No*	Lokus	Veličina, Mb	Klasifikacija varijante	Morbidni geni	Dob	Spol <sup>†</sup>	Fenotip
1	(17p13.3p13.2)x3	0,506	VUS	<i>ASPA</i> <i>CTNS</i> <i>SHPK</i> <i>TRPV3</i>	9 g.	M	dvostruki luk aorte, razvojno zaostajanje, hipospadija
2	(17p12)x3	0,405	Patogena	<i>PMP22</i>	8 g.	M	nizak rast, bez simptoma tipičnih za CMT1A
3	(17q12)x3	1,6	Patogena	<i>CCL3L1</i> <i>ZNHIT3</i> <i>PIGW</i> <i>ACACA</i> <i>HNF1B</i>	26 g.	Ž	razvojno zaostajanje, epilepsija, dismorfija, PSA, sindaktilija drugog i trećeg prsta na stopalima
4	(17q12)x3	1,4	Patogena	<i>ZNHIT3</i>  <i>PIGW</i> <i>ACACA</i> <i>HNF1B</i>	12 g.	M	razvojno zaostajanje, epilepsija, dismorfija, zamjedbena naglušost, klinodaktilija petog prsta obje ruke, parcijalna sindaktilija drugog i trećeg prsta na stopalima
5	(17q12)x3	1,4	Patogena	<i>ZNHIT3</i> <i>PIGW</i> <i>ACACA</i> <i>HNF1B</i>	3 mj.	Ž	dismorfija, mikrocefalija, razvojno zaostajanje, ASDII, brahidaktilija

\* No – broj ispitanika; † M - muško; Ž - žensko; g. – godina; mj. – mjesec; Mb - mega baza; ASDII - *engl. secundum atrial septal defect*; CMT1A - *engl. Charcot-Marie-Tooth disease type 1A*; PSA - Poremećaj iz spektra autizma; VUS - *engl. variant of uncertain significance*

Najučestaliji je mikroduplicacijski sindrom, lociran u 17q12 regiji, pronađen u troje ispitanika. Svi ispitanici imali su patogene varijante slične veličine, a tri ispitanika imala su sličan sadržaj morbidnih gena. Imali su sličan fenotip koji uključuje globalno razvojno zaostajanja, epilepsiju, dismorfiju i simptome iz autističnog spektra.

U Tablici 8. izdvojeni su ispitanici s patogenom ili vjerojatno patogenom varijantom gena lociranih na kromosomu 17 i opisan je njihov fenotip uz podatke o varijanti, klasifikaciji varijante, dobi i spolu.

**Tablica 8.** Karakteristike molekularne genetike i fenotipa ispitanika s varijantama gena kromosoma 17

No*	Gen/zigotnost	Varijanta	Klasifikacija varijante	Dob (g.)	Spol <sup>†</sup>	Fenotip
1	<i>NF1/HT</i>	c.6365-3C>G (intronic)	Patogena	1	M	deset <i>café au lait</i> pjega, gliom lijevog i desnog n.opticusa, FASI lezije, makrocefalija
2	<i>NF1/HT</i>	c.7765C>T (p.Gln2589Ter)	Patogena	11	M	Tridesetak <i>café au lait</i> pjega, optički gliom, Lischovi noduli, gigantocelularni granulom maksile lijevo, multipli hamartomi mozga specifični poremećaj učenja, makrocefalija, blaža neurološka disfunkcija
3	<i>NF1/HT</i>	c.6709C>T (p.Arg2237*)	Patogena	5	Ž	više od šest <i>café au lait</i> pjega, pilocitički astrocitom gradus 1, FASI lezije, makrocefalija, pozitivna obiteljska anamneza
4	<i>NF1/HT</i>	c.6709C>T (p.Arg2237*)	Patogena	37	Ž	mного <i>café au lait</i> pjega, aksilarna pjegavost i brojni neurofibromi
5	<i>NF1/HT</i>	c.6929dup (p.Tyr2310*)	Patogena	12	Ž	jedanaest <i>café au lait</i> pjega, neurofibrom vulve i vrata, fibrom desne natkoljenice, FASI lezije
6	<i>PMP22/HT</i>	PMP22 dup	Patogena	4	M	Hipotrofija potkoljenica, pedes planovalgi, oslabljeni tetivni refleksi donjih ekstremiteta, inicijalno skraćene obje Ahilove tetive, pozitivna obiteljska anamneza
7	<i>PMP22/HT</i>	PMP22 dup	Patogena	4	M	pedes planovalgi, skraćene obje Ahilove tetive, hiporefleksija, pseudohipertrofija potkoljenica, pozitivna obiteljska anamneza
8	<i>PMP22/HT</i>	PMP22 dup	Patogena	34	Ž	polineuropatija, tetrapareza
9	<i>PMP22/HT</i>	PMP22 dup	Patogena	27	M	subkronična senzomotorna distalna polineuropatija donjih udova
10	<i>SGSH/HT</i>	c.675C>G (p.Phe225Leu)	Vjerojatno patogena	6	M	nizak rast, nosilac gena za mukopolisaharidozu tipa 3 (autosomno recesivna bolest)
11	<i>PAFAH1B1</i>	c.193-1G>A (splice acceptor)	Vjerojatno patogena	11	M	motoričko zaostajanje, sindrom prirodne hipotonije, parcijalna epilepsija, dismorfija, klinodaktilija obostrano na šakama

\* No – broj ispitanika; † M - muško; Ž - žensko; g. – godina; Mb - mega baza; HT - heterozigot; dup – duplikacija; FASI - engl. *focal areas of signal intensity*; *NF1* - engl. *neurofibromin 1*; *PMP22* - engl. *peripheral myelin protein 22*; *SGSH* – engl. *N-sulfoglucosamine sulfohydrolase*; *PAFAH1B1* - engl. *platelet-activating factor acetylhydrolase, isoform 1*

Aberacije gena *NF1* i *PMP22* odgovorne za neurofibromatozu tip 1 i CMT1A bile su najučestalije monogenske bolesti. U pet od jedanaest ispitanika dokazane su patogene varijante u genu *NF1* i to većinom u djece (četiri ispitanika). Svi ispitanici s patogenim varijantama u genu *NF1* imali su tipične dermatološke promjene (*café au lait* pjege) za neurofibromatozom tip 1 uz dodatne ekstradermalne kriterije. U četvero od jedanaest ispitanika dokazana je duplikacija u genu *PMP22*, a od toga dvoje ispitanika pripada vrlo ranoj životnoj dobi. Iako su imali diskretne simptome polineuropatije, molekularno genetičkom metodom dokazana je bolest CMT1A zbog pozitivne obiteljske anamneze.

U Tablici 9 prikazano je kako su podijeljeni ispitanici s obzirom na korištenu metodu dokazivanja genetičke aberacije i spol.

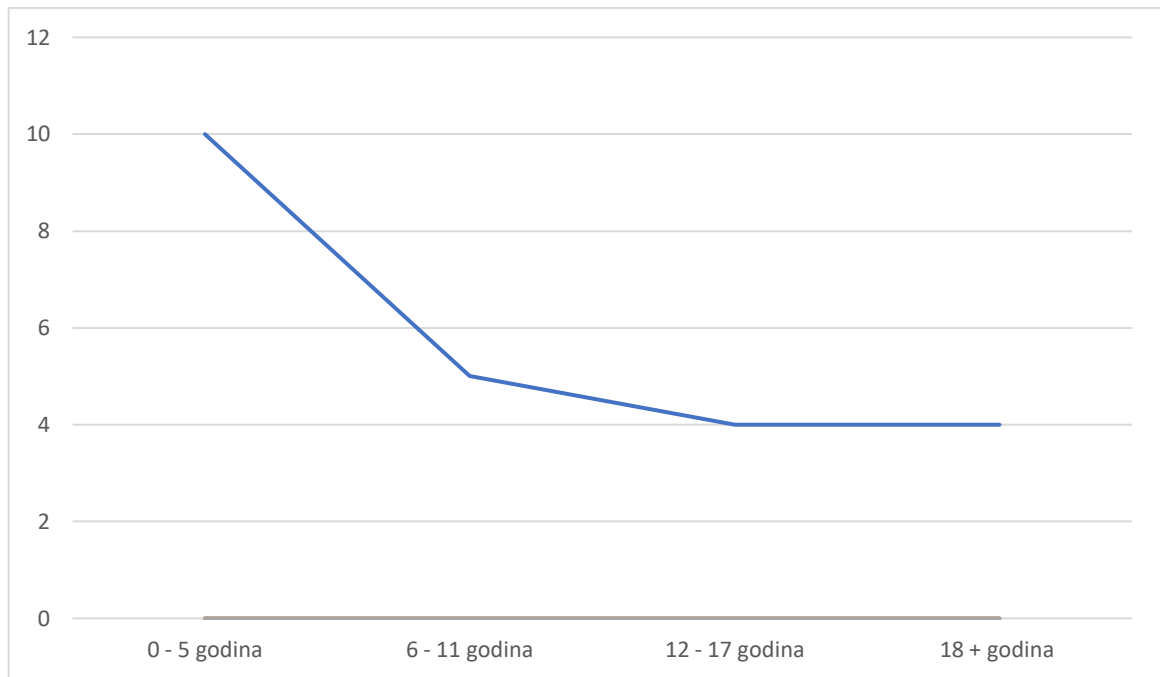
**Tablica 9.** Distribucija ispitanika dijagnosticiranih s konstitucijskom aberacijom kromosoma 17 prema korištenoj metodi i spolu

Karakteristike skupine	aCGH	NGS (MLPA)	Ukupno
No* (%)	12 (52%)	11 (48%)	23 (100%)
Spol M/Ž† (No) (%)	7 (58%)/5 (42%)	7 (64%)/4 (36%)	14 (61%)/9 (39%)

\* No - broj ispitanika; † M - muško, Ž - žensko; aCGH - engl. *array comparative genomic hybridization*; MLPA - engl. *multiplex ligation-dependent probe amplification*; NGS – engl. *next generation sequencing*, NGS

Metode su aCGH i NGS zajedno s MLPA metodom imali sličan broj dijagnosticiranih genetičkih aberacija kromosoma 17.

Slika 4 prikazuje podjelu ispitanika s obzirom na dob postavljanja dijagnoze.



**Slika 4.** Distribucija testiranih ispitanika s konstitucijskom aberacijom kromosoma 17 prema dobi

U najvećem broju ispitanika (deset od dvadeset troje ispitanih) genetička dijagnoza s aberacijama gena kromosoma 17 postavila se u dobi malog djeteta (do pete godine života).

## **5. RASPRAVA**

U istraživanju je, od 852 ispitanika testiranih aCGH molekularnom citogenetičkom analizom, pozitivan rezultat imao 141 ispitanik. Delecije su činile većinu CNV-ova, a muški spol dominirao je u svim skupinama. Najzastupljeniji delecijski sindrom bio je na kromosomu 22 s 14 od ukupno 80 ispitanika (17,5%). Drugi po učestalosti delecija bio je kromosom 7 s 11 (13,75%) ispitanika. Navedeni su rezultati očekivani i slažu se s drugim studijama jer se DiGeorgeov (22q11.2) sindrom pojavljuje s prevalencijom od 1:3000 (104), a Williamsov sindrom (7q11.23) s prevalencijom od 1:7500 (105), a navedeni se sindromi smatraju dvama najučestalijima mikrodelecijским sindromima u svim populacijama. Na kromosomu 16 i kromosomu 17 deleciju je imalo sedmero (8,75%) ispitanika.

Najučestaliji duplikacijski sindrom u našoj studiji lociran je na q kraku kromosoma 15 sa 7 ispitanika (17,5%), što se podudara s podacima drugih istraživanja koja su procijenila prevalenciju najučestalijeg 15q13.3 duplikacijskog sindroma na cca. 1:2500 osoba (106). Drugi je po učestalosti kromosom 17 s 5 ispitanika (12,5%).

U studiji je istražena genetska osnova fenotipske varijabilnosti među pojedincima s CNV-ovima na kromosomu 17. Precizno smo locirali delecije i duplikacije s uključenim genima i mapirali ih na segmentima kromosoma 17 te ih usporedili s podacima iz znanstvene literature. Identificirali smo 12 bolesnika, 7 s mikrodelecijom i 5 s mikroduplikacijom. U obje skupine aberacija dominirao je muški spol.

Najučestaliji je mikrodelecijski sindrom kromosoma 17 bio 17q12, pronađen u troje ispitanika, od kojih su dva ispitanika imala patogene varijante slične veličine s jednakim sadržajem morbidnih gena koji su uključivali i deleciju gena *HNF1B*, iz čega je zaključeno da se radi o sindromu ponavljajuće mikrodelecije 17q12 (90). Ponavljajuća je mikrodelecija 17q12 patogena s visokom penetrantnosti, no varijabilnom ekspresivnošću (90). Iz literature je poznato da je, među ispitanicima koji su podvrgnuti kliničkom postnatalnom aCGH testiranju, prevalencija ponavljajuće mikrodelecije 17q12 cca. 0.1% (1:1000) (90, 107-110). Glavne indikacije za kliničku aCGH u navedenim istraživanjima bili su neurorazvojni poremećaji (višestruki neurorazvojni poremećaji, intelektualni razvojni poremećaj, PSA) i prirođene malformacije, što se podudara s fenotipovima naših bolesnika (90, 107-110). U našem istraživanju od ukupno 852 testirana ispitanika mikrodelecija je pronađena u dva ispitanika (cca. 0,23%), što je nešto veća učestalost u odnosu na navedeno istraživanje.

17q12 ponavljajuća mikroduplikacija veličine je 1,4 Mb, a obuhvaća iste gene kao i ponavljajuća mikrodelecija 17q12. Duplicirani su morbidni geni *ACACA*, *LHX1* i *HNF1B*, ali niti jedan od njih nije identificiran kao uzročnik fenotipa (88). Većina ponavljajućih mikroduplikacija 17q12 naslijeđena je od roditelja s minimalno abnormalnim ili prividno

normalnim fenotipom. Pretpostavlja se da ima manji učinak po fenotipu u usporedbi s mikrodelecijom, što rezultira smanjenom penetrantnošću i vrlo varijabilnom ekspresivnošću. Procijenjena je prevalencija promjene 2:10 000 osoba (88, 106). U ovoj studiji 17q12 ponavljajuća duplikacija pronađena je u tri petine ispitanika i bila je najučestaliji sindrom duplikacije kromosoma 17 u ispitanjoj populaciji. Svi ispitanici imali su patogene varijante slične veličine (1,4 - 1,6 Mb) i sadržaja morbidnih gena s varijabilnim fenotipovima koji uključuju razvojno zaostajanje, epilepsiju, anomalije šaka, mikrocefaliju, prirođenu srčanu manu, naglušost, dismorfiju i PSA. Varijabilna klinička manifestacija opisana je i u drugih bolesnika s dijagnozom heterozigotne ponavljajuće duplikacije veličine od oko 1,4 Mb na kromosomu 17q12 (88). U dvama različitim istraživanjima o osobama s razvojnim zaostajanjem, intelektualnim razvojnim poremećajem ili PSA, 17q12 ponavljajuća duplikacija pronađena je u 5:2,034 (0,25%) osoba i 21:15,749 (0,13%) osoba (88, 107, 111).

Najučestalije aberacije pojedinačnih gena kromosoma 17 u ovom su istraživanju aberacije gena *NF1* i *PMP22*. Aberacije ovih gena uzrokuju neurofibromatozu tip 1 i CMT tip 1A. Metodama NGS i MLPA dijagnosticirano je pet pacijenata s neurofibromatozom tip 1 i četiri pacijenta s CMT1A. Metodom aCGH dijagnosticirana su dva pacijenta s delecijom regije 17q11.2 koja zahvaća gen *NF1* i jedan pacijent s duplikacijom 17p12 regije koja uključuje gen *PMP22*.

Svi bolesnici s neurofibromatozom tip 1 u ispitivanoj skupini imali su tipične dermatološke promjene. *Café au lait* pjege pojavile su se u ranoj životnoj dobi u dvoje (od sedam) bolesnika s najtežom kliničkom slikom i delecijom genotipom NF1. Oba bolesnika imala su neurorazvojne poremećaje i dismorfiju. S obzirom na specifičnu deleciju i deleciju susjednih gena, obama bolesnicima postavljena je dijagnoza 17q11.2 delecijskog sindroma (#MIM 613675). Jedan od bolesnika već je u dobi od četiri mjeseca imao pet od sedam dijagnostičkih kriterija za kliničko postavljanje dijagnoze NF1 (28). Od pet (od sedam) bolesnika s točkastim aberacijama unutar gena *NF1* klasificiranima kao patogene varijante, dvoje ih je imalo optički gliom, dok je jedna bolesnica imala pilocitički astrocitom gradusa 1.

Duplikaciju gena *PMP22* imalo je pet ispitanika s različitom težinom kliničke slike, što bi se moglo objasniti penetrantnošću ovisnom o godinama i varijabilnom ekspresivnosti te bolesti (42). U četiri petine ispitanika s duplikacijom gena *PMP22* bolešću su zahvaćeni donji ekstremiteti. Navedena je klinička slika očekivana s obzirom na to da je prva manifestacija CMT1A bolesti distalna slabost donjih ekstremiteta koja postupno napreduje prema kranijalno. S vremenom dolazi do razvoja deformacija stopala (*pes cavusa* i čekićastih prstiju) i slabosti šake, a refleksi se gase od Ahilovog, preko patelnog i, naposljetku refleksa gornjih udova



(42). Najstarija ispitanica (34 godine) imala je i najtežu kliničku sliku bolesti s tetraparezom i polineuropatijom. Dvoje mlađe djece u dobi od četiri godine s početnim simptomima polineuropatije dijagnosticirani su ranije zbog pozitivne obiteljske anamneze. Ispitanik u dobi od osam godina kojem je dokazana mikroduplicacija gena *PMP22* još nema razvijenu kliničku sliku CMT1A, što se može objasniti kasnijim početkom simptoma u ovom sindromu (43).

Delecija genskog materijala u regiji 17p12 koja uključuje gen *PMP22* uzrokuje nasljednu motornu neuropatiju sa sklonošću kompresivnoj paralizi (HNPP). HNPP se klinički prezentira lakšom kliničkom slikom od CMT1A, s zahvaćenošću samo pojedinih živaca (49, 61). Ispitanik s delecijom 17p12 regije s delecijom gena *COX10* i *PMP22* u dobi od šesnaest godina imao je razvijenu kliničku sliku HNPP (48, 49). Uz otežanu fleksiju lijevog stopala i peronealni hod, ispitanik je imao i ispad osjeta u području lijeve potkoljenice te dorzuma lijevog stopala. Nalaz EMNG ukazao je na demijelinizirajuću miopatiju. Ovaj ispitanik ima nešto raniju prezentaciju bolesti od očekivanog (49, 54, 55), a fizikalni status s fokalnom i senzornom i motornom neuropatijom n. peroneusa odgovara klasičnoj kliničkoj prezentaciji (49,59). Činjenica da je muškarac također može biti značajna jer, prema literaturi, muškarci imaju težu kliničku sliku uz elektrofiziološke abnormalnosti (51, 60).

Od rijetkih konstitucijskih aberacija gena kromosoma 17 u našem istraživanju identificirana su dva ispitanika. Ispitanik 17p13.3 duplikacijskim sindromom čiji specifični fenotip nije dosad opisan u literaturi i ispitanica s Koolen-de Vries sindromom (KdVS). Prvom ispitaniku u regiji p13.3p13.2 duplicirana su 22 gena od kojih su geni *ASPA*, *CTNS*, *SHPK* i *TRPV3* opisani kao patogeni (OMIM i DECIPHER). Navedena duplikacija nejasnog je kliničkog značaja (ClinVar, DECIPHER). Ispitanica s KdVs s mikrolecijom u regiji 17q21.31 u dobi od dvije godine prezentirala se s motornim i govorno-jezičnim zaostajanjem, dismorfijom i *pectus excavatumom* što su karakteristični simptomi Koolen-de Vries sindroma(112).

U ispitivanoj visoko selektivnoj skupini bolesnika precizirane su aberacije gena kromosoma 17 uz pridruženi fenotip svakog ispitanika. U većine ispitanika genetička dijagnoza s aberacijom gena kromosoma 17 postavila se do pete godine života. Nešto učestaliji (prisutni u dvanaest ispitanika) bili su mikrolecijski/mikroduplicacijski sindromi kromosoma 17 u odnosu na monogenske aberacije. Metode aCGH i NGS (zajedno s MLPA) imale su podjednaku učinkovitost dokazivanja patološkog genotipa i potvrde kliničke dijagnoze.

Objašnjena je fenotipska varijabilnost u kliničkoj prezentaciji CNV sindroma lociranih na kromosomu 17 i patogenih varijanti pojedinih gena kromosoma 17. Također, uspoređeno je

slaže li se fenotipsko-genotipska korelacija genetičkih bolesti kromosoma 17 ispitivane skupine s podacima iz znanstvene literature.

Istraživanje je ograničeno svojim opisnim ustrojem koje nema snagu dokaza uzročnosti (113). Također malen broj ispitanika s različitim aberacijama kromosoma 17 ograničava donošenje definitivnih zaključaka o genotipsko-fenotipskoj korelaciji i učestalosti, ali može poslužiti obogaćivanju znanstvene literature o fenotipu ispitanika s rijetkim genetskim aberacijama. Ograničenje je predstavljala i oskudnost znanstvene literature o rijetkim genetskim aberacijama pronađenih u naših ispitanika. Treba istaknuti i da je velik broj bolesnika s neurofibromatozom tip 1 imao zadovoljene kliničke kriterije za postavljanje dijagnoze, ali zbog nedostatka nalaza o potvrdi genetičke aberacije gena *NF1* nije uključen u istraživanje.

Zbog svoje strukture kromosom 17 podložan je NAHR i, posljedično, nastanku CNV sindroma (8, 9). Ova studija upućuje na važnost molekularnih citogenetskih istraživanja u kliničkoj medicini. Implementacijom molekularno citogenetičkih tehnika u budućnosti će se otkrivati će sve veći broj slučajeva aberacija kromosoma 17 što će nam omogućiti stvaranje preciznije fenotipske karte aberacija kromosoma 17.

## **6. ZAKLJUČCI**

Potvrđena je hipoteza istraživanja.

1. Genotipsko-fenotipska korelacija genetičkih bolesti na kromosomu 17 naših ispitanika slaže se s podacima iz znanstvene literature.
2. Najveći broj ispitanika (6/12) imao je ponavljajuću CNV regije 17q12 veličine oko 1,4 Mb i fenotip sukladan opisanom u znanstvenoj literaturi.
3. Patogene varijante gena *NF1* i *PMP22* bile su najučestalije genske aberacije čiji su se nosioci prezentirali varijabilnim kliničkim fenotipom neurofibromatoze tipa 1 i CMT1A.
4. Ispitanici s 17q11.2 delecijским sindromom imaju predispoziciju za razvoj teže kliničke slike neurofibromatoze tip 1 od ispitanika s točkastim mutacijama unutar gena *NF1*.
5. Fenotipska prezentacija CMT1A bolesti ovisi o dobi ispitanika.
6. DiGeorgeov sindrom (22q11.2) i Williamsov sindrom (7q11.23) najučestaliji su mikrolecijijski sindromi, dok su mikrolecijijski sindromi kromosoma 17 četvrti po učestalosti.
7. Najučestaliji mikroduplicacijski sindrom je 15q13.3 dok su drugi po učestalosti mikroduplicacijski sindromi kromosoma 17.

## **7. LITERATURA**

1. Dahm R. Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research. *Hum Genet.* 2008;122:565–81.
2. Avery OT, Macleod CM, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *J Exp Med.* 1944;79:137-58.
3. Fraser J, Williamson I, Bickmore WA, Dostie J. An overview of genome organization and how we got there: from FISH to Hi-C. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2015;79:347-72.
4. Shaffer LG, Agan N, Goldberg JD, Ledbetter DH, Longshore JW, Cassidy SB. American College of Medical Genetics statement of diagnostic testing for uniparental disomy. *Genet Med.* 2001;3:206-11.
5. Ensembl. Chromosome 17 [Internet]. 2023 [citirano 8. srpnja 2023.]. Dostupno na: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Location/Chromosome?chr=17;r=17:1-81195210](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/Chromosome?chr=17;r=17:1-81195210)
6. Blazejewski SM, Bennison SA, Smith TH, Toyo-Oka K. Neurodevelopmental genetic diseases associated with microdeletions and microduplications of chromosome 17p13.3. *Front Genet.* 2018;9:80.
7. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature.* 2004;431:931-45.
8. Zody MC, Garber M, Adams DJ, Sharpe T, Harrow J, Lupski JR, i sur. DNA sequence of human chromosome 17 and analysis of rearrangement in the human lineage. *Nature.* 2006;440:1045–9.
9. Schrijver I, Zahnder JL. Chromosomal translocations, deletions, and inversions. U: Larson RA, Tirnaure JS, urednici. *UpToDate.* Waltham, MA: 2023.
10. Chance PF, Alderson MK, Leppig KA, Lensch MW, Matsunami N, Smith B i sur. DNA deletion associated with hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Cell.* 1993;72:143–51.
11. Park SS, Stankiewicz P, Bi W, Shaw C, Lehoczyk J, Dewar K i sur. Structure and evolution of the Smith–Magenis syndrome repeat gene clusters, SMSREPs. *Genome Res.* 2002;12:729–38.
12. Chen KS, Manian P, Koeuth T, Potocki L, Zhao Q, Chinault AC i sur. Homologous recombination of a flanking repeat gene cluster is a mechanism for a common contiguous gene deletion syndrome. *Nature Genet.* 1997;17:154–63.
13. Lupski, JR; Garcia, CA. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Diseases.* U: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, urednici. New York: McGraw-Hill; 2001. str. 5759-88.

14. Inoue K, Dewar K, Katsanis N, Reiter LT, Lander ES, Devon KL i sur. The 1.4-Mb CMT1A duplication/HNPP deletion genomic region reveals unique genome architectural features and provides insights into the recent evolution of new genes. *Genome Res.* 2001;11:1018–33.
15. Lupski JR, de Oca-Luna RM, Slaugenhaupt S, Pentao L, Guzzetta V, Trask BJ i sur. DNA duplication associated with Charcot–Marie–Tooth disease type 1A. *Cell.* 1991;66:219–32.
16. Barbouti A, Stankiewicz P, Nusbaum C, Cuomo C, Cook A, Höglund M i sur. The breakpoint region of the most common isochromosome, i(17q), in human neoplasia is characterized by a complex genomic architecture with large, palindromic, low-copy repeats. *Am J Hum Genet.* 2004;74:1–10.
17. Crowe, FW, Schull, WT, Neel VF. A clinical pathological, and genetic study of multiple neurofibromatosis. Springfield: Charles C. Thomas; 1956
18. Collins FS, O’Connell P, Ponder BA, Seizinger BR. Progress towards identifying the neurofibromatosis (NF1) gene. *Trends Genet.* 1989;5:217–21.
19. Hirbe, AC, Gutmann DH. Neurofibromatosis type 1: a multidisciplinary approach to care. *The Lancet Neurology.* 2014;13:834–43.
20. Lammert M, Friedman JM, Kluwe L, Mautner VF. Prevalence of neurofibromatosis 1 in german children at elementary school enrollment. *Arch Dermatol.* 2005;141:71–4.
21. Li Y, O’Connell P, Breidenbach HH, Cawthon R, Stevens J, Xu G i sur. Genomic organization of the neurofibromatosis 1 gene (NF1). *Genomics.* 1995;25:9-18.
22. Rasmussen SA, Friedman JM. NF1 gene and neurofibromatosis 1. *Am J Epidemiol.* 2000;151:33-40.
23. Trovó-Marqui AB, Tajara EH. Neurofibromin: a general outlook. *Clin Genet.* 2006;70:1-13.
24. Colman SD, Williams CA, Wallace MR. Benign neurofibromas in type 1 neurofibromatosis (NF1) show somatic deletions of the NF1 gene. *Nat Genet.* 1995;11:90-2.
25. Side L, Taylor B, Cayouette M, Conner E, Thompson P, Luce M i sur. Homozygous inactivation of the NF1 gene in bone marrow cells from children with neurofibromatosis type 1 and malignant myeloid disorders. *N Engl J Med.* 1997;336:1713-20.
26. Kehrer-Sawatzki H, Cooper DN. Challenges in the diagnosis of neurofibromatosis type 1 (NF1) in young children facilitated by means of revised diagnostic criteria including genetic testing for pathogenic NF1 gene variants. *Hum Genet.* 2022;141:177–91.
27. Williams VC, Lucas J, Babcock MA, Gutmann DH, Korf B, Maria BL. Neurofibromatosis type 1 revisited. *Pediatrics.* 2009;123:124–33.

28. Legius E, Messiaen L, Wolkenstein P, Pancza P, Avery RA, Berman Y, i sur. Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation. *Genet Med.* 2021;23:1506-13.
29. Gutmann DH, Ferner RE, Listernick RH, Korf BR, Wolters PL, Johnson KJ i sur. Neurofibromatosis type 1. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17004.
30. Shlush LI. Age-related clonal hematopoiesis. *Blood.* 2018;131:496–504.
31. Friedman JM. Neurofibromatosis 1.U: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Lora JHB, Gripp KW i sur., urednici. *GeneReviews.* Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.
32. Riva P, Corrado L, Natacci F, Castorina P, Wu BL, Schneider GH i sur. NF1 microdeletion syndrome: refined FISH characterization of sporadic and familial deletions with locus-specific probes. *Am J Hum Genet.* 2000;66:100-9.
33. Jenne DE, Tinschert S, Reimann H, Lasinger W, Thiel G, Hameister H i sur. Molecular characterization and gene content of breakpoint boundaries in patients with neurofibromatosis type 1 with 17q11.2 microdeletions. *Am J Hum Genet.* 2001;69:516-27.
34. Mautner VF, Kluwe L, Friedrich RE, Roehl AC, Bammert S, Hogel J i sur. Clinical characterisation of 29 neurofibromatosis type-1 patients with molecularly ascertained 1.4 Mb type-1 NF1 deletions. *J Med Genet.* 2010;47:623-30.
35. Büki G, Till Á, Zsigmond A, Bene J, Hadzsiev K. “Neurofibromatosis-1 microdeletió szindróma” [Neurofibromatosis-1 microdeletion syndrome.]. *Orvosi hetilap* 2022;163:2041-51.
36. Kehrer-Sawatzki H, Mautner VF, Cooper DN. Emerging genotype-phenotype relationships in patients with large NF1 deletions. *Hum Genet.* 2017;136:349–76.
37. Venturin M, Guarnieri P, Natacci F, Stabile M, Tenconi R, Clementi M i sur. Mental retardation and cardiovascular malformations in NF1 microdeleted patients point to candidate genes in 17q11.2. *J Med Genet.* 2004;41:35-41.
38. De Raedt T, Brems H, Wolkenstein P, Vidaud D, Pilotti S, Perrone F i sur. Elevated risk for MPNST in NF1 microdeletion patients. *Am J Hum Genet.* 2003;72:1288-92.
39. Fridman V, Bundy B, Reilly MM, Pareyson D, Bacon C, Burns J i sur. CMT subtypes and disease burden in patients enrolled in the Inherited Neuropathies Consortium natural history study: a cross-sectional analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015;86:873-8.
40. Kazamel M, Boes CJ. Charcot Marie Tooth disease (CMT): historical perspectives and evolution. *J Neurol.* 2015;262:801–5.



41. Saporta AS, Sottile SL, Miller LJ, Feely SM, Siskind CE, Shy ME. Charcot-Marie-Tooth disease subtypes and genetic testing strategies. *Ann Neurol.* 2011;69:22-33.
42. Szigeti K, Lupski JR. Charcot–Marie–Tooth disease. *Eur J Hum Genet.* 2009;17:703–10.
43. Bird TD. Charcot-Marie-Tooth hereditary neuropathy overview. U: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW i sur., urednici. *GeneReviews.* Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.
44. Katona I, Wu X, Feely SME, Sottile S, Siskind CE, Miller LJ i sur. PMP22 expression in dermal nerve myelin from patients with CMT1A. *Brain.* 2009;132:1734–40.
45. Stojkovic T. Hereditary neuropathies: an update. *Rev Neurol (Paris).* 2016;172:775–8.
46. Parman Y, Battaloglu E, Baris I, Bilir B, Poyraz M, Bissar-Tadmouri N i sur. Clinicopathological and genetic study of early-onset demyelinating neuropathy. *Brain.* 2004;127:2540–50.
47. Magy L, Mathis S, Le Masson G, Goizet C, Tazir M, Vallat JM. Updating the classification of inherited neuropathies: Results of an international survey. *Neurology.* 2018;90:e870-6.
48. Lee AJ, Nam DE, Choi YJ, Noh SW, Nam SH, Lee HJ i sur. Paternal gender specificity and mild phenotypes in Charcot-Marie-Tooth type 1A patients with de novo 17p12 rearrangements. *Mol Genet Genomic Med.* 2020;8:e1380.
49. Attarian S, Fatehi F, Rajabally YA, Pareyson D. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *J Neurol.* 2020;267:2198-206.
50. Van Paassen BW, van der Kooi AJ, van Spaendonck-Zwarts KY, Verhamme C, Baas F, de Visser. PMP22 related neuropathies: Charcot–MarieTooth disease type 1A and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Orphanet J Rare Dis.* 2014;9:38.
51. Chrestian N. Hereditary Neuropathy with Liability to Pressure Palsies. U: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW i sur., urednici. *GeneReviews.* Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.
52. De Jong J. Over families met hereditarie dispozitie tot het optreden van neuritiden, gecorreleerd met migraine. *Psychiatr Neurol Bull.* 1947;50:60–76.
53. Koehler PJ. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies: the first publication (1947). *Neurology.* 2003; 60:1211–13.
54. Meretoja P, Silander K, Kalimo H, Aula P, Meretoja A, Savontaus ML. Epidemiology of hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP) in south western Finland. *Neuromuscul Disord.* 1997;7:529–32.
55. Hardon WJ, Van Alfen N, Zwarts MJ, Rotteveel JJ. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies in a toddler. *Neurology.* 2002;59:2008.

56. Kumar N, Muley S, Pakiam A, Parry GJ. Phenotypic variability leads to under-recognition of HNPP. *J Clin Neuromuscul Dis.* 2002;3:106–12.
57. Li J, Krajewski K, Lewis RA, Shy ME. Loss-of-function phenotype of hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Muscle Nerve.* 2004;29:205–10.
58. Beales D, Fary R, Little C, Nambiar S, Sveinall H, Yee YL i sur. Characterisation of pain in people with hereditary neuropathy with liability to pressure palsy. *J Neurol.* 2017;264:2464–71.
59. Mouton P, Tardieu S, Gouider R, Birouk N, Maisonobe T, Dubourg O i sur. Spectrum of clinical and electrophysiologic features in HNPP patients with the 17p11.2 deletion. *Neurology.* 1999;52:1440–6.
60. Manganelli F, Pisciotta C, Dubbioso R, Maruotti V, Iodice R, Notturmo F i sur. Electrophysiological comparison between males and females in HNPP. *Neurol Sci.* 2013;34:1429–32.
61. Uncini A, Di Guglielmo G, Di Muzio A, Gambi D, Sabatelli M, Mignogna T. Differential electrophysiological features of neuropathies associated with 17p11.2 deletion and duplication. *Muscle Nerve.* 1995;18:628-35.
62. Baker EK, Brewer CJ, Ferreira L, Schapiro M, Tenney J, Wied HM i sur. Further expansion and confirmation of phenotype in rare loss of YWHAE gene distinct from Miller-Dieker syndrome. *Am J Med Genet A.* 2023;191:526-39.
63. Chen H. Miller-Dieker Syndrome. *Atlas of Genetic Diagnosis and Counseling.* New York: Springer; 2015. 650 str.
64. Orphanet. Miller-Dieker syndrome. [Internet]. 2005 [citirano 9. srpnja 2023.]. Dostupno na: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?data\\_id=4054&lng=en](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?data_id=4054&lng=en)
65. Decipher. CNV Syndromes/ Miller-Dieker syndrome (MDS) [Internet]. Hinxton: 2005 [citirano 9. srpnja 2023.]. Dostupno na: <https://www.deciphergenomics.org/syndrome/21/overview>
66. Schwartz CE, Johnson JP, Holycross B, Mandeville TM, Sears TS, Graul EA i sur. Detection of submicroscopic deletions in band 17p13 in patients with the Miller–Dieker syndrome. *Am J Hum Genet.* 1988;43:597-604.
67. Capra V, Mirabelli-Badenier M, Stagnaro M, Rossi A, Tassano E, Gimelli i sur. Identification of a rare 17p13.3 duplication including the BHLHA9 and YWHAE genes in a family with developmental delay and behavioural problems. *BMC Med Genet.* 2012;13:93.
68. Orphanet. 17p13.3 microduplication syndrome. [Internet]. 2005 [citirano 9. srpnja 2023.]. Dostupno na: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?Lng=GB&Expert=217385](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=GB&Expert=217385)

69. Brock S, Dobyns WB, Jansen A. PFAFH1B1-related lissencephaly / subcortical band heterotopia. U: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW i sur., urednici. GeneReviews. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.
70. Bruno DL, Anderlid BM, Lindstrand A, van Ravenswaaij-Arts C, Ganesamoorthy D, Lundin J i sur. Further molecular and clinical delineation of co-locating 17p13.3 microdeletions and microduplications that show distinctive phenotypes. *J Med Genet.* 2010;47:299-311.
71. Smith ACM, Boyd KE, Brennan C, Charles J, Elsea SH, Finucane BM i sur. Smith-Magenis Syndrome. U: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW i sur., urednici. GeneReviews. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.
72. NORD. Smith Magenis Syndrome [Internet]. 2017 [citirano 9. srpnja 2023.]. Dostupno na: <https://rarediseases.org/rare-diseases/smith-magenis-syndrome/>
73. Smith AC, Magenis RE, Elsea SH. Overview of Smith-Magenis syndrome. *J Assoc Genet Technol.* 2005;31:163–7.
74. Orphanet. 17p11.2 microduplication syndrome. [Internet]. 2017 [citirano 9. srpnja 2023.]. Dostupno na: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?data\\_id=1160&lng=en](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?data_id=1160&lng=en)
75. Potocki L, Bi W, Treadwell-Deering D, Carvalho CMB, Eifert A, Friedman EM i sur. Characterization of Potocki-Lupski syndrome (dup(17)(p11.2p11.2)) and delineation of a dosage-sensitive critical interval that can convey an autism Phenotype. *Am J Hum Genet.* 2007;80:633–49.
76. Grama A, Sirbe C, Miclea D, Căinap SS, Huniadi D, Bulata B i sur. Case Report: Potocki-Lupski Syndrome in Five Siblings. *Front Pediatr.* 2021;9:698629.
77. Magoulas PL, Liu P, Gelowani V, Soler-Alfonso C, Kivuva EC i sur. Inherited dup(17)(p11.2p11.2): expanding the phenotype of the Potocki-Lupski syndrome. *Am J Med Genet A.* 2014;164A:500–4.
78. Potocki L, Neira-Fresneda J, Yuan B. Potocki-Lupski Syndrome. U: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW i sur., urednici. GeneReviews. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.
79. Greenberg F, Guzzetta V, Montes de Oca-Luna R, Magenis RE, Smith ACM, Lupski JR. Molecular analysis of the Smith-Magenis syndrome: a possible contiguous-gene syndrome associated with del(17)(p11.2). *Am J Hum Genet.* 1991;49:1207–18.
80. Liu P, Lacaria M, Zhang F, Withers M, Hastings PJ, Lupski JR. Frequency of nonallelic homologous recombination is correlated with length of homology: evidence that ectopic synapsis precedes ectopic crossing-over. *Am J Hum Genet.* 2011;89:580–8.

81. Treadwell-Deering DE, Powell MP, Potocki L. Cognitive and behavioral characterization of the Potocki-Lupski syndrome (duplication 17p11.2). *J Dev Behav Pediatr.* 2010;31:137–43.
82. Soler-Alfonso C, Motil KJ, Turk CL, Robbins-Furman P, Friedman EM, Zhang F i sur. Potocki-Lupski syndrome: A microduplication syndrome associated with oropharyngeal dysphagia and failure to thrive. *J Pediatr.* 2011;158:655–9.
83. Jefferies JL, Pignatelli RH, Martinez HR, Robbins-Furman PJ, Liu P, Gu W i sur. Cardiovascular findings in duplication 17p11.2 syndrome. *Genet Med.* 2012;14:90–4.
84. Potocki L, Chen KS, Park SS, Osterholm DE, Withers MA, Kimonis V i sur. Molecular mechanism for duplication 17p11.2 - the homologous recombination reciprocal of the Smith-Magenis microdeletion. *Nat Genet.* 2000;24:84–7.
85. Zhang F, Potocki L, Sampson JB, Liu P, Sanchez-Valle A, Robbins-Furman P i sur. Identification of uncommon recurrent Potocki-Lupski syndrome-associated duplications and the distribution of rearrangement types and mechanisms in PTL5. *Am J Hum Genet.* 2010;86:462-70.
86. Yuan B, Harel T, Gu S, Liu P, Burglen L, Chantot-Bastaraud S i sur. Nonrecurrent 17p11.2p12 Rearrangement Events that Result in Two Concomitant Genomic Disorders: The PMP22-RAI1 Contiguous Gene Duplication Syndrome. *Am J Hum Genet.* 2015;97:691-707.
87. Balarin MA, da Silva Lopes VL, Varella-Garcia M. A dup(17)(p11.2p11.2) detected by fluorescence in situ hybridization in a boy with Alport syndrome. *Am J Med Genet.* 1999;82:183-6.
88. Mefford H. 17q12 Recurrent Duplication. U: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW i sur., urednici. GeneReviews. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.
89. Stefansson H, Meyer-Lindenberg A, Steinberg S, Magnusdottir B, Morgen K, Arnarsdottir S i sur. CNVs conferring risk of autism or schizophrenia affect cognition in controls. *Nature.* 2014;505:361–6.
90. Mitchel MW, Moreno-De-Luca D, Myers SM, Levy RV, Turener S, Ledbetter DH i sur. 17q12 Recurrent Deletion Syndrome. U: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW i sur., urednici. GeneReviews. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.
91. Martin CL, Wain KE, Oetjens MT, Tolwinski K, Palen E, Hare-Harris A i sur. Identification of neuropsychiatric copy number variants in a health care system population. *JAMA Psychiatry.* 2020;77:1276–85.

92. NORD. Koolen-de Vries Syndrome [Internet]. 2022 [citirano 9. srpnja 2023.]. Dostupno na: <https://rarediseases.org/rare-diseases/koolen-de-vries-syndrome/>
93. Theisen, A. Microarray-based Comparative Genomic Hybridization (aCGH). *Nature Education*. 2008;1:45
94. Shaffer LG, Bejjani BA, Torchia B, Kirkpatrick S, Coppinger J, Ballif BC i sur. The identification of microdeletion syndromes and other chromosome abnormalities: Cytogenetic methods of the past, new technologies for the future. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2007;145C:335–45.
95. Weiss MM, Hermsen MA, Meijer GA, van Grieken NC, Baak JP, Kuipers EJ i sur. Comparative genomic hybridisation. *Mol Pathol*. 1999;52:243-51.
96. Upadia J, Philips JB 3rd, Robin NH, Lose EJ, Mikhail FM. A case report of chromosome 17q22-qter trisomy with distinct clinical presentation and review of the literature. *Clin Case Rep*. 2018;6:612-6.
97. Frost A, Van Campen J. NHS. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) [Internet]. 2022 [citirano 9. srpnja 2023.]. Dostupno na: <https://www.genomicseducation.hee.nhs.uk/genotes/knowledge-hub/multiplex-ligation-dependent-probe-amplification-mlpa/>
98. MRC Holland. Principle of MLPA [Internet]. [citirano 9. srpnja 2023.]. Dostupno na: <https://www.mrcholland.com/technology/mlpa/technique>
99. Miclea D, Szucs A, Mirea A, Stefan DM, Nazarie F, Bucerzan S i sur. Diagnostic usefulness of MLPA techniques for recurrent copy number variants detection in global developmental delay/intellectual disability. *Int J Gen Med*. 2021;14:4511-5.
100. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2013;98:236-8.
101. Slatko BE, Gardner AF, Ausubel FM. Overview of Next-Generation Sequencing Technologies. *Curr Protoc Mol Biol*. 2018;122:e59.
102. Georget M, Pisan E. Approches diagnostiques basées sur le séquençage à haut débit. *Rev Mal Respir*. 2023;40:345-58.
103. Academic Accelerator. Chromosome 17 [Internet]. [citirano 16. srpnja 2023.]. Dostupno na: <https://academic-accelerator.com/encyclopedia/chromosome-17>
104. Zhang MWB, Fong N, Quek YH, Ho CSH, Ng BY, Ho RCM. Microdeletion syndromes and psychiatry: An update. *BJPsych Advances*. 2017;23:149–57.
105. Orphanet. Williams syndrome. [Internet]. 2021 [citirano 9. srpnja 2023.]. Dostupno na: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?lng=en&Expert=904](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=en&Expert=904)

106. Smajlagić D, Lavrichenko K, Berland S, Helgeland Ø, Knudsen GP, Vaudel M i sur. Population prevalence and inheritance pattern of recurrent CNVs associated with neurodevelopmental disorders in 12,252 newborns and their parents. *Eur J Hum Genet.* 2021;29:205-15.
107. Moreno-De-Luca D, Mulle JG, Kaminsky EB, SGENE Consortium, Simons Simplex Collection Genetics Consortium, Sanders SJ i sur. Deletion 17q12 is a recurrent copy number variant that confers high risk of autism and schizophrenia. *Am J Hum Genet.* 2010;87:618–30.
108. Rosenfeld JA, Coe BP, Eichler EE, Cuckle H, Shaffer LG. Estimates of penetrance for recurrent pathogenic copy-number variations. *Genet Med.* 2013;15:478–81.
109. Kirov G, Rees E, Walters JT, Escott-Price V, Georgieva L, Richards AL i sur. The penetrance of copy number variations for schizophrenia and developmental delay. *Biol Psychiatry.* 2014;75:378–85.
110. Rasmussen M, Vestergaard EM, Graakjaer J, Petkov Y, Bache I, Fagerberg C i sur. 17q12 deletion and duplication syndrome in Denmark - A clinical cohort of 38 patients and review of the literature. *Am J Med Genet A.* 2016;170:2934–42.
111. Mitchell E, Douglas A, Kjaegaard S, Callewaert B, Vanlander A, Janssens S i sur. Recurrent duplications of 17q12 associated with variable phenotypes. *Am J Med Genet A.* 2015;167A:3038–45.
112. Koolen DA, Morgan A, de Vries BBA. Koolen-de Vries Syndrome. 2010 Jan 26 [Updated 2023 Feb 2]. U: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW i sur., urednici. *GeneReviews.* Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.
113. Lukić IK, Sambunjak D. Vrste istraživanja. U: Marušić M, urednici. *Uvod u znanstveni rad u medicini.* 6. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2019. str. 43-46.

## **8. SAŽETAK**

**Ciljevi:** Cilj istraživanja bio je usporediti genotipsko-fenotipsku korelaciju genetičkih bolesti kromosoma 17 ispitanika s podacima iz znanstvene literature.

**Materijali i metode:** Retrospektivnim presječnim istraživanjem, provedenim u KBC-u Split pri Klinici za dječje bolesti u razdoblju od 1. siječnja 2018. do 31. prosinca 2022., analizirani su bolesnici s pozitivnim genetičkim nalazom aCGH i izdvojeni oni s konstitucijskom aberacijom gena kromosoma 17. Iz druge skupine ispitanika testiranih MLPA i NGS metodama izdvojeni su ispitanici s genetičkim nalazom patogenih i vjerojatno patogenih varijanti gena na kromosomu 17. Istaknuti su podaci o lokusu, vrsti i veličini CNV-ova, morbidnim genima, klasifikaciji varijante, dobi, spolu i fenotipu.

**Rezultati:** Pozitivan nalaz aCGH pretrage imao je 141 (16,5%) ispitanik od 852 ispitanika uključenih u istraživanje. Od 141 ispitanika s CNV-ovima u 80 ispitanika (57%) je dijagnosticirana delecija, u 40 (28%) duplikacija, a 21 (15%) ispitanik imao je složenu CNV. Muški spol bio je učestaliji u sve tri skupine. Najzastupljeniji delecijski sindrom bio je na kromosomu 22 (17%), a najzastupljeniji duplikacijski sindrom na kromosomu 15 (17,5%). Na kromosomu 17 mikrolecijski su sindromi (7/12) bili učestaliji od mikroduplikacijskih sindroma (5/12). Najveći broj ispitanika (6/12) imao je ponavljajuću CNV regije 17q12 veličine oko 1,4 Mb i fenotip sukladan opisanom u znanstvenoj literaturi. Od ukupno 602 ispitanika testiranih MLPA i NGS metodom u istraživanje je uključeno jedanaest ispitanika s dijagnosticiranim patogenom ili vjerojatnom patogenom varijantom gena kromosoma 17. Dijagnosticirano je pet ispitanika s patogenom varijantom gena *NFI* čija aberacija dovodi do kliničke slike neurofibromatoze tip 1 i četiri ispitanika s patogenom varijantom gena *PMP22* čija aberacija dovodi do kliničke slike CMT1A. Metodom aCGH dijagnosticirana su dva ispitanika s neurofibromatozom tip 1 i jedan ispitanik s CMT1A bolešću.

**Zaključci:** Dijagnoza genetičke aberacije na kromosomu 17 postavljena je u većine ispitanika u dobi do pet godina. Genetička potvrda kliničke dijagnoze koja je dobivena molekularno citogenetičkim testiranjem je važna jer nam daje uvid u precizniju fenotipsku mapu gena kromosoma 17. Fenotipska prezentacija genetičkih aberacija proučavanih ispitanika odgovara podacima iz znanstvene literature.



## **9. SUMMARY**

**Diploma thesis title:** Phenotypic presentation of constitutional aberrations in chromosome 17 genes

**Objectives:** The objective of this research was to compare the genotype-phenotype correlation of genetic diseases located on chromosome 17 in our subjects with results from scientific data.

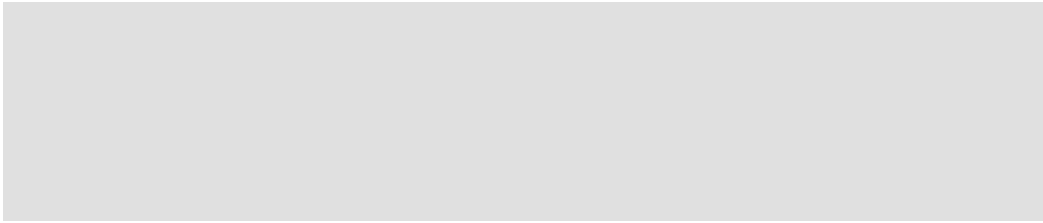
**Materials and methods:** Through a retrospective cross-sectional study, conducted at the University Hospital of Split at the Department of Pediatrics in the period from January 1st 2018 until December 31st 2022., we analyzed patients with a positive aCGH genetic finding and selected subjects with a constitutional gene aberration of chromosome 17. From the second group of subjects diagnosed by MLPA and NGS methods, we selected subjects with genetic findings of pathogenic and likely pathogenic gene variants on chromosome 17. We presented data on the gene locus, type and size of CNVs, morbid genes, variant classification, age, sex and phenotype.

**Results:** We included in the research 141 (16.5%) subjects with positive aCGH test results out of the total number of 852 subjects. Out of 141 subjects with CNVs 80 subjects (57%) were diagnosed with deletions, 40 (28%) with duplications, and 21 (15%) subjects had complex CNVs. The male gender was more frequent in all three groups. The most common deletion syndrome was on chromosome 22 (17.5%), and the most common duplication syndrome was on chromosome 15 (17.5%). On chromosome 17 microdeletion syndromes (7/12) were more frequent than microduplication syndromes (5/12). The majority of subjects (6/12) had a recurrent CNV of the 17q12 region with a size of around 1.4 Mb and with a phenotype consistent with data described in the scientific literature. Out of a total of 602 subjects tested by MLPA and NGS methods, 11 subjects with diagnosed pathogenic or likely pathogenic variants of the chromosome 17 gene were included in the study. There were 5 subjects diagnosed with a pathogenic variant of the *NF1* gene whose aberration leads to the clinical phenotype of neurofibromatosis type 1 and 4 subjects with a pathogenic variant of the *PMP22* gene whose aberration leads to the clinical picture of CMT1A. Also, 2 subjects with neurofibromatosis type 1 and 1 subject with CMT1A were diagnosed by aCGH method.

**Conclusions:** The diagnosis of genetic aberration on chromosome 17 was established in the majority of subjects under the age of 5 years. Genetic confirmation of the clinical diagnosis obtained by molecular cytogenetic testing is important because it gives us insight into a more precise phenotypic map of chromosome 17 genes. The phenotypic presentation of the genetic aberrations of the studied subjects corresponds with data from the scientific literature.

## **10. ŽIVOTOPIS**

**OSOBNI PODATCI:**



**OBRAZOVANJE:**

**2004. – 2012. Osnovna škola „Strožanac“, Podstrana**

**2012. – 2016. IV. gimnazija Marko Marulić Split**

**2016. – 2023. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, studijski program: medicina**

**JEZICI:**

- engleski jezik – aktivno
- talijanski jezik – pasivno