

COPY NUMBER VARIATIONS ON CHROMOSOME 15 DETECTED BY MOLECULAR KARYOTYPING IN PATIENTS WITH DEVELOPMENTAL DELAY AND CONGENITAL ANOMALIES

VARIJACIJE U BROJU KOPIJA NA HROMOZOMU 15 DETEKTOVANE MOLEKULARNOM KARIOTIPIZACIJOM KOD PACIJENATA SA RAZVOJNIM KAŠNJENJEM I UROĐENIM ANOMALIJAMA

Branko Beronja¹, Ana Đuranović², Dijana Perović²

¹Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija

²Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za humanu genetiku, Beograd, Srbija

Correspondence: brankoberonj99@gmail.com

Abstract

Introduction: Global developmental delay (GDD) and congenital anomalies represent a heterogeneous group of medical conditions that may have a known genetic etiology. Molecular karyotyping is the gold standard for detecting copy number variations (CNV), and the first-line test in patients with GDD and congenital anomalies, with an average diagnostic yield of 15%. Chromosome 15 (C15) is one of the chromosomes on which CNV occurs most frequently.

Aim: To analyze all detected (significant) CNVs on C15 in patients with GKR and/or congenital anomalies, estimate their share in the overall CNV detection rate of different pathogenicity classes, and present several illustrative cases.

Material and methods: In the total sample of 350 patients analyzed by molecular karyotyping technique, 92 with detected significant CNV were singled out. All patients with variants on C15 were then analyzed and further classified according to type, size, and clinical significance.

Results: In 11 patients, at least one significant CNV was detected on chromosome 15, which is 3.15% of the total sample and 11.96% of a sample of patients with significant CNV of any localization. In 72.7% cases, CNV was described as pathogenic or likely pathogenic and in 27.3% as a variant of unknown significance. In the total detection rate of csCNV from all chromosomes 15.4%, the percentage of variations from C15 was 17.2%.

Conclusion: The detection rate of csCNVs on C15 in the diagnostic yield of the molecular karyotyping of patients with GDD and congenital anomalies is 17.2%, which confirms that they make up a significant portion of the GDD etiology.

Keywords:

copy number variation, molecular karyotyping, C15, developmental delay

Sažetak

Uvod: Globalno razvojno kašnjenje (GKR) i urođene anomalije predstavljaju heterogenu grupu medicinskih stanja koja mogu imati poznatu genetičku etiologiju. Molekularna kariotipizacija je metoda izbora za detekciju varijacija u broju kopija (engl. *copy number variation* - CNV) i predstavlja test prvog izbora kod pacijenata sa GKR i urođenim anomalijama, sa prosečnim dijagnostičkim doprinosom od 15% do 20%. Hromozom 15 (H15) jedan je od hromozoma na kome se CNV najčešće javljaju.

Cilj: Cilj rada je analizirati sve detektovane (značajne) CNV sa H15 na uzorku pacijenata sa GKR i/ili urođenim anomalijama, proceniti njihov udeo u ukupnoj stopi detekcije CNV različitih klasa patogenosti i prikazati nekoliko ilustrativnih slučajeva.

Materijal i metode: Na ukupnom uzorku od 350 pacijenata koji su analizirani tehnikom molekularne kariotipizacije izdvojena su 92 sa detektovanim značajnim CNV. Nakon toga su analizirani svi pacijenti sa varijantama na H15 koje su dalje klasifikovane prema tipu, veličini i kliničkom značaju.

Rezultati: Kod 11 pacijenata je detektovana bar jedna značajna CNV na hromozomu 15, što čini 3,15% od ukupnog uzorka i 11,96% uzorka pacijenata koji su imali značajnu CNV bilo koje lokalizacije. Kod 72,7% ispitanika CNV je opisana kao patogena ili verovatno patogena (klinički značajna, kzCNV), a kod 27,3% kao varijanta nepoznatog značaja. U ukupnoj stopi detekcije kzCNV sa svih hromozoma (15,4%) udeo varijacija sa H15 je iznosio 17,2%.

Zaključak: Udeo kzCNV na hromozomu 15 u ukupnom dijagnostičkom doprinosu molekularne kariotipizacije kod pacijenata sa razvojnim kašnjenjem i kongenitalnim anomalijama iznosi 17,2%, što potvrđuje njihov značajan udeo u etiologiji ovih poremećaja.

Ključne reči:

varijacije u broju kopija, molekularna kariotipizacija, hromozom 15, razvojno kašnjenje

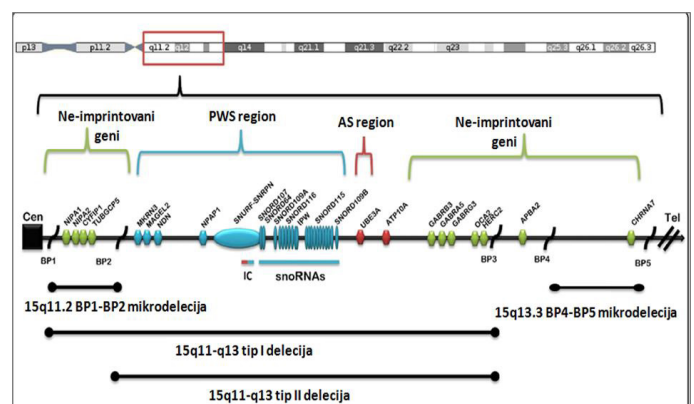
Uvod

Razvojno kašnjenje i urođene anomalije predstavljaju heterogenu grupu medicinskih stanja koja mogu imati poznatu genetičku etiologiju. Kašnjenje u razvoju opšteg tipa (globalno kašnjenje u razvoju - GKR) predstavlja odstupanje od razvojnih normi u bilo kojoj od pet oblasti razvoja: 1. motoričkom razvoju, 2. ekspresivnom i perceptivnom jeziku, 3. socijalno-emosivnom razvoju, 4. neverbalnoj kogniciji i 5. neurobiheviornom razvoju. Urođene anomalije predstavljaju bilo koju patoanatomsku karakteristiku prisutnu na rođenju koja je nastala kao posledica morfoloških poremećaja u procesu humane ontogeneze. Genetički uzrokovane kongenitalne anomalije mogu biti hereditarne ili nastale kao posledica *de novo* oštećenja genetičkog materijala u germinativnim ćelijama jednog od roditelja (1, 2).

Smatra se da su za pojavu razvojnog kašnjenja i urođenih anomalija kod približno polovine slučajeva odgovorni genetički faktori (3). Posebno grupu genetičkih faktora čine hromozomske promene koje se označavaju kao varijacije u broju kopija (engl. *copy number variation* - CNV) u genomu. Varijacije u broju kopija su nedetektibilne tehnikama klasične citogenetike. Molekularna kariotipizacija, koja se naziva i hromozomski "microarray" ili komparativna genomska hibridizacija u mikronizovima (engl. *Array-comparative genome hybridisation* - aCGH) ima značajno višu rezoluciju u odnosu na klasičan kariotip i zlatni je standard za detekciju CNV (4). Predstavlja i test prve linije kod GKR i urođenih anomalija, uz dijagnostički doprinos koji se kreće od 10% do 20% (5). Utvrđivanje genetičke etiologije GKR i urođenih anomalija je važno zbog prognoze, izbora terapijskih mogućnosti,

razmatranja herediteta i izbegavanja nepotrebnih dijagnostičkih procedura (6).

Hromozom 15 (H15) jedan je od hromozoma na kome se CNV najčešće javljaju, kako benigne, tako i patogene. Kao razlog tome navodi se veliki broj segmentnih duplikacija, prvenstveno na proksimalnom delu q-kraka (15q11-q13), koje imaju ulogu u nealelskoj homologoj rekombinaciji (7). **Slika 1** šematski prikazuje navedeni region sa tačkama prekida (engl. *breakpoints* - BP) u kojima se odigrava rekombinacija, sadržaj gena i nazive najčešćih mikrodelecijskih i mikroduplikacijskih sindroma u tom regionu. Ovaj region se naziva i Prader-Vili/Angelmanov kritični region (engl. *Prader-Willi/Angelman Critical Region* - PWACR) (8).



Slika 1. Ideogram hromozoma 15 uz šematski prikaz 15q11-15q13 regiona.

Prader-Vilijev sindrom (PVS) se javlja u slučaju delecije 15q11-q13 na očevom hromozomu koja dovodi do funkcionalnog gubitka paternalno eksprimiranih gena,

dok delecija na majčinom hromozomu i gubitak maternalno eksprimiranih gena dovode do pojave Angelmanovog sindroma (AS). Postoji preko deset identifikovanih gena koji imaju ulogu u etiopatogenezi PVS i AS: *TUBGCP5*, *CYFIP1*, *NIPA1*, *NIPA2*, *MRKN3*, *MAGEL2*, *NDN*, *NIPAP1*, *SNURF-SNRPN*, nekodirajuće RNK (*SNORDs*), *UBE3A*, *ATP10A*, *GABRB3*, *GABRA5*, *GABRG3*, *OCA2*, i *HERC2*, od kojih nisu svi imprintovani. Smatra se da se imprintovani geni *NDN* i *SNRPN* eksprimiraju iz očevovala u encefalonu i da se delecija ili nefunkcionalnost očinske kopije ova dva gena ispoljava hipotonijom, GKR, niskim rastom i hipogonadotropnim hipogonadizmom, što je tipična klinička slika PVS (9, 10). Nefunkcionalnost majčinske kopije *UBE3A* uzrokuje AS koji karakterišu: GKR, ataksija, hipotonija, epilepsija, mutizam i preterana artikulacija osmeha (11, 12).

Ciljevi ovog rada bili su detekcija i analiza nepolimorfnih CNV na hromozomu 15 kod pacijenata sa kašnjenjem u razvoju i/ili urođenim anomalijama, procena njihovog udela u ukupnoj stopi detekcije CNV različitih klasa patogenosti i prikaz ilustrativnih slučajeva.

Materijal i metode

U studiju je bilo uključeno 350 pacijenta sa GKR i urođenim anomalijama kod kojih je u periodu od 2018. do 2020. godine rađena analiza *array*-CGH u Institutu za humanu genetiku Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Kriterijum za uključenje u istraživanje bila je bar jedna od navedenih uputnih dijagnoza: kašnjenje u razvoju i/ili kongenitalne anomalije. Iz tog uzorka su izdvojeni pacijenti kod kojih je detektovana bar jedna CNV bilo koje klase osim jasno benigne ili polimorfne (u daljem tekstu CNV od značaja), a potom su detaljno analizirani svi pacijenti sa CNV koje su na H15. Svim ispitanicima je izolovana totalna genomska DNK iz limfocita periferne krvi metodom isolvavanja (13).

Molekularna analiza - molekularna kariotipizacija

Array-CGH je molekularna citogenetička metoda bazirana na upotrebi mikronizova sa probama koje su utisnute na staklenoj pločici. Probe su sintetisane u vidu oligonukleotida komplementarnih sekvencama DNK molekula humanog genoma. Na slajdove se dodaju smeše ispitivane i referentne DNK, prethodno obeležene različitim fluorescentnim bojama i vrši njihova hibridizacija sa probama. Pacijenti iz našeg uzorka su analizirani na *micorarray* pločicama rezolucije 8 x 60 K. Prosečna rezolucija ovakvih pločica je približno 125 kb. Analiza je vršena prema protokolu proizvođača *Agilent Technologies, Santa Clara, USA*.

Po završetku *array*-CGH eksperimenta, *microarray* pločice su skenirane u dvokanalnom *Agilent SureScan Microarray* skeneru, nakon čega su generisane visokorezolucijske fluorescentne slike koje odgovaraju cijaninskim bojama. Odnos intenziteta fluorescencije proporcionalan je broju kopija određene DNK sekvence u ispitivanom i kontrolnom genomu. Nakon toga se pristupilo softverskoj

analizi *microarray* pločica, oceni tehničke ispravnosti procesa i interpretaciji CNV. Softver ima mogućnost kontrole kvaliteta analize koji se manifestuje u vidu QC (engl. *Quality Control metrics*), generiše dvodimenzionalne slike hromozoma i izveštava koordinate detektovanih CNV.

Klasifikacija i interpretacija CNV vršena je prema preporukama vodiča Američkog koledža za medicinsku genetiku i genomiku (*American College of Medical Genetics and Genomic - ACMG*) (14, 15). Procena patogenosti detektovanih CNV je vršena analizom podataka baza normalnih i patogenih varijanti kao što su *DECIPHER*, *OMIM*, *ClinVar*, *ClinGen* i *Database of Genomic Variants*, kao i pretragom *PubMed* literature i interne baze Instituta za humanu genetiku. Svaka CNV je svrstana u jednu od tri kategorije kliničkog značaja: patogene varijante (klinički značaj dokumentovan brojnim publikacijama, definisan sindrom sa *OMIM* kataloškim brojem), benigne varijante (klinički bez značaja ili definisani polimorfizmi) i varijante nepoznatog značaja. Varijante nepoznatog značaja su sistematizovane u verovatno patogene, verovatno benigne i varijante bez dodatne supklasifikacije (16, 17). Kao klinički značajne su smatrane patogene i verovatno patogene varijante, a stopa detekcije takvih varijanti je korišćena u proceni dijagnostičkog doprinosa. Genomske koordinate su određene prema hg38 verziji humanog genoma.

Rezultati

Na uzorku od 350 pacijenata sa GKR i/ili kongenitalnim anomalijama, sa ili bez drugih komorbiditeta, 92 pacijenta su imala detektovanu CNV od značaja, među kojima je 11 (3,1%), imalo deleciju ili duplikaciju na H15. Duplikacija je utvrđena kod 5 (45,5%), a delecija kod 6 (54,5%) pacijenata. Veličina CNV se kretala u opsegu od 395 do 9726 kb. Kliničke karakteristike, kao i *array*-CGH nalaz svih pacijenata sa CNV od značaja na H15 prikazani su tabelarno (**tabela 1**).

Kod 8/11 (72,7%) ispitanika CNV su okarakterisane kao klinički značajne (kzCNV), pri čemu je 6 (54,5%) pacijenata imalo patogenu, a dva (18,2%) verovatno patogenu CNV, dok su kod preostala tri (27,3%) pacijenta opisane varijante nepoznatog značaja. Grafički prikaz udela svih CNV od značaja, kao i kzCNV na H15 u odnosu na ukupan broj analiziranih pacijenata i detektovanih CNV na drugim hromozomima nalazi se na **grafikonu 1**. Dat je i grafički prikaz distribucije svih kzCNV iz ukupnog uzorka prema hromozomskom poreklu (**grafikon 2**), gde se može videti da je najveći broj takvih varijacija detektovan na hromozomu 22 (10 kzCNV), a potom podjednak broj na H15 i hromozomu 2 (8 kzCNV).

Prikaz dva slučaja sa patogenim CNV

Pacijent 1. Dečak, uzrasta 18 meseci, sa kašnjenjem u razvoju, hipotonijom, hipospadijom i facijalnom dismorfijom (hipertelorizam, makroglosija, uži očni prorezi). Pacijent je praćen od rođenja usled uočenih stigmi i odstupanja u nalazu kariotipa. Kariotipom je viđen supranumerarni hromozom čije poreklo nije moglo biti

utvrđeno, a indikovana molekularna kariotipizacija pokazala je postojanje duplikacije/triplikacije regiona 15q11.2 – q13.3 ukupne veličine približno 10 Mb (**slika 2**).

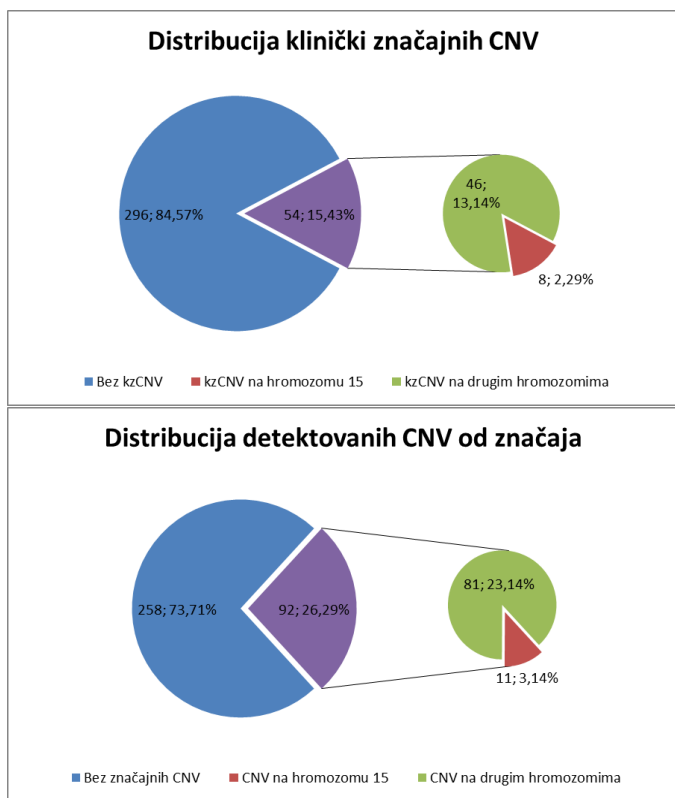
Pacijent 2. Devojčica, uzrasta 24 meseca, sa kašnjenjem u razvoju globalnog tipa, facijalnom dismorfijom (hipoplazija mandibule, trouglasti oblik lica, bilateralna semiptoza) i urođenom srčanom manom. U poslednjem trimestru trudnoće uočeni su jedna umbilikalna arterija, oligohidramnion i intrauterini zastoj u rastu ploda zbog čega je porođaj završen carskim rezom, pre predviđenog

termina. Pacijentkinja je imala komplikacije prematuriteta: respiratorni distres sindrom i retinopatiju. Utvrđeno je postojanje vezikoureteralnog refleksa, bilateralno, atrijalni i ventrikularni septalni defekt i divergentni strabizam. Ostali dismorfizmi su: atipična brazda četiri prsta, klinodaktilija i zakrivljena glutealna brazda. Klinički je postavljena sumnja na Rasel-Silverov (*Russel-Silver*) sindrom. Metodom molekularne kariotipizacije detektovana je delecija u regionu 15q26.2-q26.3 od približno 7,94 Mb (**slika 3**).

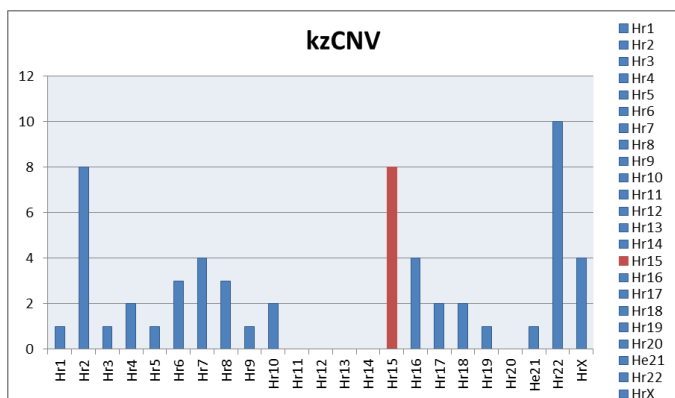
Tabela 1. Kliničke karakteristike i rezultat molekularne kariotipizacije pacijenata sa uočenim CNV od značaja na hromozomu 15.

Br.	Uzrast i pol	Klinički fenotip	aCGH nalaz	Veličina u kb	CNV klasa	OMIM# ili gen(i) od značaja
1	11 g Ž	IP, ASP, facijalna dismorfija	15q13.2-q13.3 (31014508-32510863)x1	1500	VP	612001
2	9 g Ž	GKR, facijalna dismorfija, febrilne konvulzije	15q11.2 (22784523-23179948)x1	395	P	615656
3	18 mes M	GKR, hipospadija facijalna dismorfija (hipertelorizam, makroglosija, uži očni prorezi)	15q11.2 (22784523-23179948)x3	395	P	608636
			15q11.2-q13.1 (23813289-30207473)x4	9726		
3			15q13.2-q13.3 (31014508-32510863)x3	1500		
4	7 mes M	IUZR, GKR, facijalna dismorfija, poremećaj diferencijacije pola	15q11.2 (22866888-23739406)x3	872,5	VP	TUBGCP5, NIPA1, NIPA2, CYFIP1
5	2 g Ž	Jednoajčani blizanac, GKR, gojaznost, facijalna dismorfija	15q11.2 (22378084-23179948)x1	801,9	VP	615656
6	6 g Ž	GKR, epilepsija., poremećaj govora, ataksija, stereotipno smejanje, facijalna dismorfija	15q11.2-q13.1 (23699701-28525460)x1	4830	P	105830
7	11 g Ž	IP, epilepsija, hipotireoza, dijabetes insipidus, VUR, nizak rast (hormon rasta - terapija), facijalna dismorfija	15q13.1-q13.3 (30251859-32914140)x3	2660	VP	FAN1, TRPM1 ABCC6, MYH11, NDE1
			16p13.11(15048751-16276115)x3	1230		
8	2 g Ž	IUZR, USM, VUR, facijalna dismorfija	15q26.2-q26.3 (94447479-102383473)x1	7940	P	26 PK, 8 MG
9	2 g Ž	Dismorfija, pareza n. facialis dex., normalan razvoj	15q13.3 (32021733-32510863)x3	489	VUS	CHRNA7, OTUD7A
10	11 g Ž	Autizam	15q25.3 (85728794-86542460)x3	814	VUS	AKAP13, KLHL25
11	15 mes M	Craniosinostosis, GKR, facijalna dismorfija	6q14.3-q16.1 (85270456-93609085)x3	8300	VP	32 PK, 7 MG
			15q13.1-q13.2 (28940039-30509384)x1	1570	VUS	NSMCE3

Skraćenice: IP - intelektualne poteškoće; ASP - autistični spektar poremećaja; GKR - globalno kašnjenje u razvoju; IUZR - intrauterini zastoj u rastu; VUR - vezikoureteralni refluks; USM - urođena srčana mana; VP - verovatno patogeno; P - patogeno; VUS - varijanta nepoznatog značaja; PK - protein kodirajući (geni); MG - *morbid* geni.



Grafikon 1. Distribucija svih detektovanih CNV od značaja (gore) i klinički značajnih CNV (dole), uz prikazan udeo varijanti na H15.

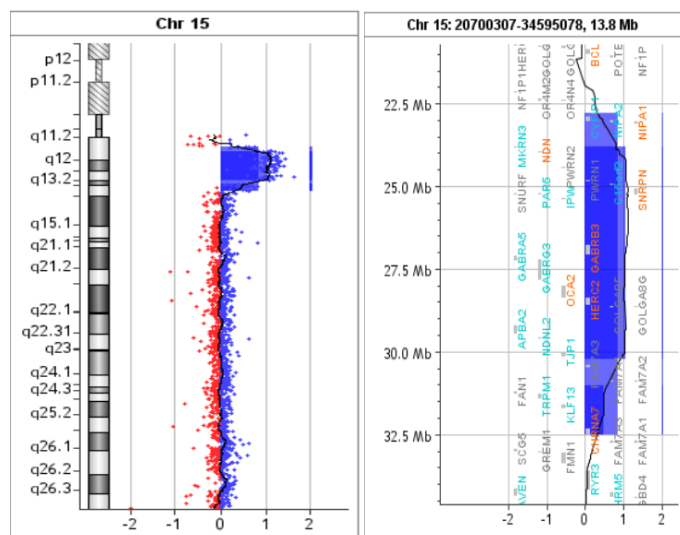


Grafikon 2. Distribucija klinički značajnih CNV prema hromozomskom poreklu.

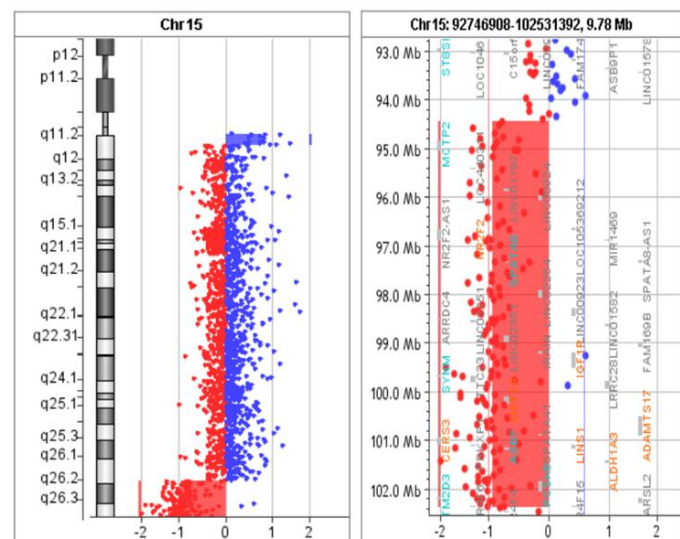
Diskusija

Globalno kašnjenje u razvoju i kongenitalne anomalije predstavljaju česta stanja u pedijatrijskoj praksi, a utvrđivanje njihove etiologije može da utiče na dalji tok praćenja i lečenja ovih pacijenata, kao i na pružanje informacija porodici. Ovim istraživanjem je, tehnikom molekularne kariotipizacije, utvrđena incidencija mikrodelecija i mikroduplikacija na H15 u našoj populaciji pedijatrijskih pacijenata sa navedenim poremećajima.

Najveći broj pacijenata je pre *array*-CGH analize imao normalan nalaz kariotipa, kao i urađenu *Multiplex Ligation – dependent Probe Amplification* (MLPA) analizu na najčešće mikrodelecione sindrome koja obuhvata i PVS/AS region. U slučaju tipične kliničke slike PVS ili AS i pozitivnog MLPA nalaza takvi pacijenti obično nisu slati



Slika 2. Rezultat molekularne kariotipizacije prvog pacijenta. Levo: softverska slika hromozoma 15; desno: uvećan region duplikacije/triplikacije.



Slika 3. Rezultat molekularne kariotipizacije drugog pacijenta. Levo: softverska slika hromozoma 15; desno: uvećan deletiran region.

dalje na molekularnu kariotipizaciju. Iz tog razloga je samo kod jedne devojčice na našem uzorku detektovana tipična delecija u PVS/AS regionu od približno 4,8 Mb (pacijent 6 u tabeli 1), kod koje je tražena potvrda MLPA nalaza. Kod jednog pacijenta je citogenetički viđen prekobrojni marker hromozom koji je prikazan u sekciji Rezultati i diskutovan u daljem tekstu. Svi ostali pacijenti su imali submikroskopske varijacije u broju kopija i to najčešće u proksimalnom regionu q-kraka gde se dešavaju rekurentne CNV zbog velikog broja segmentnih duplikacija i nealelske homologe rekombinacije. Delecije u regionu 15q11.2 između BP1 i BP2, koje obuhvataju 4 neimprintovana gena (*NIPA1*, *NIPA2*, *TUBGCP5* i *CYFIP1*), označene su u literaturi i kao Bernsajd-Batlerov (*Burnside-Butler*) sindrom (OMIM# 615616) i smatraju se patogenim (8). Prvobitna veza recipročne duplikacije sa GKR i autističnim spektrom poremećaja danas je, međutim, odbačena jer se viđa i u opštoj populaciji (prema: <https://search.clinicalgenome.org/kb/gene-dosage/region/ISCA-37448>).

Dva pacijenta u našoj studiji imala su tipičnu 15q11.2 deleciju koja odgovara Bernsajd-Batlerovom sindromu veličine od 395 do 872 kb. Kritičan region za ispoljavanje fenotipa je kod obe pacijentkinje isti i obuhvata prethodno pomenuta 4 neimprintovna gena, od kojih je *NIPA1* (*SPG6*) opisan u OMIM morbid bazi podataka. Protein *NIPA1* je veoma eksprimiran u neuronskim i epitelnim ćelijama i kodira transporter magnezijuma, a poput spastina i spartina, inhibitor je signalizacije koštanog morfogena proteina. Ovaj gen se u mnogim studijama dovodi u vezu sa pojavom urođenih anomalija i GKR (18). Naše pacijentkinje su imale sličnu kliničku sliku sa GKR i facijalnom dismorfijom, pri čemu je jedna imala i febrilne konvulzije u ranom uzrastu, dok je kod druge devojčice, rođene iz monozigotne blizanačke trudnoće, opisana i gojaznost uz dismorfiju koja je podsećala na PVS i bila je prisutna i kod sestre bliznakinje.

Poput 15q11.2 BP1-BP2 regiona, nešto distalnije CNV u regionu 15q13.3, koje obuhvataju *FAN1*, *TRPM1*, *CHRNA7* i *OTUD7A* gene, takođe se različito opisuju u literaturi. Delecije ovog regiona se povezuju sa kašnjenjem u razvoju, facijalnom dismorfijom, autističnim spektrom poremećaja, epilepsijom i nekim psihijatrijskim poremećajima (OMIM# 612001) i smatraju se patogenim, dok se značaj duplikacija istog regiona u poslednje vreme osporava (19). U našem istraživanju stoga postoje različite klasifikacije ovih CNV po tipu duplikacija jer se i klasifikacija s vremenom može menjati, kako znanje o toj CNV raste.

Prvi pacijent iz prikaza je imao supranumerarni hromozom viđen klasičnom kariotipizacijom, ali njegovo poreklo nije moglo biti utvrđeno tom metodom. Rezultat molekularne kariotipizacije, sa detektovanim viškom u broju kopija veličine oko 9.7 Mb u 15q11-q13 regiona po tipu duplikacija-triplikacija-duplikacija, ukazao je na najverovatnije prisustvo jedne specifične strukturne aberacije koja se naziva izodicentrični hromozom 15 (skraćeno idic15). *Array-CGH* analiza, međutim, ne može utvrditi fizičku lokalizaciju viška u broju kopija u genomu, niti obuhvata centromerne regione i p-krake autozomnih akrocentrika, stoga ne može detektovati ni balansirane strukturne aberacije ili položaj i broj centromera i p-kraka akrocentrika. Ipak, tipičan raspored ovih CNV na softverskoj slici (slika 2), uz nalaz na kariotipu, govori u prilog idic15 aberaciji, gde pored dva normalna hromozoma 15 u kariotipu osobe postoji i dodatni mali prekobrojni hromozom koji sadrži dve centromere i više kopija 15q11-q13 regiona koje oponašaju "sliku u ogledalu" oko centromere (20). Klinička slika dečaka se uklapa u opisani sindrom duplikacije 15q11-q13 (OMIM # 608636).

Primena tehnike molekularne kariotipizacije kod drugog pacijenta ukazala je na deleciju 15q26.2-q26.3 veličine 7940 kb. Delecija delimično odgovara 15q26-qter delecijom ili Drajerovom (*Drayer*) sindromu (OMIM # 612626), koji je prvi put opisan u studiji Rampa (*Rump*) i sar. (21). U ovoj studiji je opisano više pacijenata sa GKR, skeletnim anomalijama, kongenitalnim anomalijama srca i divergentnim strabizmom, što se uklapa u fenotip ove pacijentkinje. Kod ove pacijentkinje je klinički

postavljena sumnja i na Rasel-Silverov sindrom, koji se ispoljava značajno usporenim rastom. U literaturi postoji nekoliko prikaza pacijenata sa sličnom delecijom i fenotipom u kome dominira restrikcija rasta. Kao odgovoran gen kandidat navodi se *IGF1R*, pri čemu jedna kopija ovog gena, u slučaju delecije, dovodi do niskog rasta, dok tri kopije, u slučaju duplikacije, dovode do prekomernog rasta (22,23). Vejlenskamp (*Walenskamp*) i sar. (24,25) prijavili su 15-godišnju devojčicu sa delecijom 15q26.2-qter, koja je pokazala i postnatalno usporavanje rasta, mikrocefaliju i povišene nivoe *IGF1*. Lečena je hormonom rasta od svoje 5. godine, što je rezultiralo normalnom visinom odrasle osobe, što može biti od značaja i za dalji tretman pacijentkinje iz našeg istraživanja.

Zaključak

Udeo klinički značajnih CNV na hromozomu 15 u ukupnom dijagnostičkom doprinosu molekularne kariotipizacije kod pacijenata sa razvojnim kašnjenjem i kongenitalnim anomalijama na našem uzorku iznosi 17,2%, što govori u prilog njihovoj značajnosti u genetičkoj etiologiji ovih poremećaja.

Literatura

1. Belanger SA, Caron J. Evaluation of the child with global developmental delay and intellectual disability. *Paediatr Child Health*. 2018; 23(6):403-19.
2. Jones KL, Adam MP. Evaluation and diagnosis of the dysmorphic infant. *Clin Perinatol*. 2015; 42(2):243-61, vii-viii.
3. Moeschler JB, Shevell M, Committee on G. Comprehensive evaluation of the child with intellectual disability or global developmental delays. *Pediatrics*. 2014; 134(3):e903-18.
4. Rosenfeld JA, Patel A. Chromosomal Microarrays: Understanding Genetics of Neurodevelopmental Disorders and Congenital Anomalies. *J Pediatr Genet*. 2017; 6(1):42-50.
5. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*. 2010; 86(5):749-64.
6. Ceylan AC, Citli S, Erdem HB, Sahin I, Acar Arslan E, Erdogan M. Importance and usage of chromosomal microarray analysis in diagnosing intellectual disability, global developmental delay, and autism; and discovering new loci for these disorders. *Mol Cytogenet*. 2018; 11:54.
7. Cooper GM, Coe BP, Girirajan S, Rosenfeld JA, Vu TH, Baker C, et al. A copy number variation morbidity map of developmental delay. *Nat Genet*. 2011; 43(9):838-46.
8. Butler MG. Clinical and genetic aspects of the 15q11.2 BP1-BP2 microdeletion disorder. *J Intellect Disabil Res*. 2017; 61(6):568-79.
9. Angulo MA, Butler MG, Cataletto ME. Prader-Willi syndrome: a review of clinical, genetic, and endocrine findings. *J Endocrinol Invest*. 2015; 38(12):1249-63.
10. Miller NL, Wevrick R, Mellon PL. Necdin, a Prader-Willi syndrome candidate gene, regulates gonadotropin-releasing hormone neurons during development. *Hum Mol Genet*. 2009; 18(2):248-60.
11. Buiting K, Williams C, Horsthemke B. Angelman syndrome - insights into a rare neurogenetic disorder. *Nat Rev Neurol*. 2016; 12(10):584-93.
12. Bossuyt SNV, Punt AM, de Graaf IJ, van den Burg J, Williams MG, Heussler H, et al. Loss of nuclear UBE3A activity is the

- predominant cause of Angelman syndrome in individuals carrying UBE3A missense mutations. *Hum Mol Genet.* 2021; 30(6):430-42.
13. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988; 16(3):1215.
 14. Kearney HM, Thorland EC, Brown KK, Quintero-Rivera F, South ST, Working Group of the American College of Medical Genetics Laboratory Quality Assurance C. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med.* 2011; 13(7):680-5.
 15. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med.* 2020; 22(2):245-57.
 16. Silva M, de Leeuw N, Mann K, Schuring-Blom H, Morgan S, Giardino D, et al. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *Eur J Hum Genet.* 2019; 27(1):1-16.
 17. Nowakowska B. Clinical interpretation of copy number variants in the human genome. *J Appl Genet.* 2017; 58(4):449-57.
 18. Spagnoli C, Schiavoni S, Rizzi S, Salerno GG, Frattini D, Koskenvuo J, et al. SPG6 (NIPA1 variant): A report of a case with early-onset complex hereditary spastic paraplegia and brief literature review. *J Clin Neurosci.* 2021; 94:281-5.
 19. van Bon BW, Mefford HC, Menten B, Koolen DA, Sharp AJ, Nillesen WM, et al. Further delineation of the 15q13 microdeletion and duplication syndromes: a clinical spectrum varying from non-pathogenic to a severe outcome. *J Med Genet.* 2009; 46(8):511-23.
 20. Chen CP, Lin SP, Chern SR, Wu PS, Chen YN, Chen SW, et al. Molecular cytogenetic characterization of an inv dup(15) chromosome presenting as a small supernumerary marker chromosome associated with the inv dup(15) syndrome. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2016; 55(5):728-32.
 21. Rump P, Dijkhuizen T, Sikkema-Raddatz B, Lemmink HH, Vos YJ, Verheij JB, et al. Drayer's syndrome of mental retardation, microcephaly, short stature and absent phalanges is caused by a recurrent deletion of chromosome 15(q26.2-->qter). *Clin Genet.* 2008; 74(5):455-62.
 22. Benbouchta Y, De Leeuw N, Amasdl S, Sbiti A, Smeets D, Sadki K, et al. 15q26 deletion in a patient with congenital heart defect, growth restriction and intellectual disability: case report and literature review. *Ital J Pediatr.* 2021; 47(1):188.
 23. Okubo Y, Siddle K, Firth H, O'Rahilly S, Wilson LC, Willatt L, et al. Cell proliferation activities on skin fibroblasts from a short child with absence of one copy of the type 1 insulin-like growth factor receptor (IGF1R) gene and a tall child with three copies of the IGF1R gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(12):5981-8.
 24. Walenkamp MJ, de Muinck Keizer-Schrama SM, de Mos M, Kalf ME, van Duyvenvoorde HA, Boot AM, et al. Successful long-term growth hormone therapy in a girl with haploinsufficiency of the insulin-like growth factor-I receptor due to a terminal 15q26.2->qter deletion detected by multiplex ligation probe amplification. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(6):2421-5.
 25. <https://search.clinicalgenome.org/kb/gene-dosage/region/ISCA>