



Głębokie fenotypowanie i genetyka Charakterystyka kohorty 70 osób Osoby z zespołem 5p minus

OPEN ACCESS

Edytowany przez:

Katalin Komlosi,
Centrum Medyczne – Uniwersytet
we Freiburgu, Niemcy

Zrecenzowany przez:

Shabeesh Balan,
RIKEN Centrum Nauk o Mózgu
(CBS), Japonia
Emanuela Volpi,
Uniwersytet Westminsterki,
Zjednoczone Królestwo
Rincic Martina,
Uniwersytet w Zagrzebiu, Chorwacja

*Korespondencja:

Juliana Nevado
jnevado@salud.madrid.org †ID

ORCID:

Juliana Nevado
orcid.org/0000-0001-5611-2659 Adolfo
Hernández
orcid.org/0000-0003-1078-2328 Pablo
Lapunzina orcid.org/
0000-0002-6324-4825

Sekcja specjalistyczna:

Ten artykuł został przesłany do
Human and Medical Genomics, część
czasopisma
Granice w genetyce

Otrzymano: 23 grudnia 2020 r

Przyjęto: 14 maja 2021 r

Opublikowano: 30 lipca 2021 r

Cytat:

Nevado J, Bel-Fenellós C,
Sandoval-Talamantes AK,

Hernández A, Biencinto-López C,
Martínez-Fernández ML, Barrúz P,
Santos-Simarro F, Mori-Álvarez MÁ,
Mansilla E, García-Santiago FA,
Valcorba I, Sáenz-Rico B,
Martínez-Frías ML i Lapunzina P

(2021) Głębokie fenotypowanie i
charakterystyka genetyczna a
Kohorta 70 osób z zespołem 5p minus.

Przód. Genet. 12:645595.

doi: 10.3389/fgene.2021.645595

Julián Nevado^{1,2,3 * †}, Cristina Bel-Fenellós⁴, Ana Karen Sandoval-Talamantes^{1,2,3,4,5},
Adolfo Hernández^{6†}, Chantal Biencinto-López⁴, María Luisa Martínez-Fernández⁷,
Pilar Barruz¹, Fernando Santos-Simarro^{1,2,3}, María Ángeles Mori-Álvarez^{1,2,3},
Elena Mansilla^{1,2,3}, Fé Amalia García-Santiago^{1,2,3}, Isabel Valcorba^{1,2,3},
Belén Sáenz-Rico⁸, María Luisa Martínez-Frías⁷ i Pablo Lapunzina^{1,2,3†}

¹ CIBERER, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos (ISCIII), Madryt,

Hiszpania, ² Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM)-IdiPAZ, Hospital Universitario La Paz, Madryt, Hiszpania,

³ ITHACA-European Reference Network-Hospital la Paz, Madryt, Hiszpania,

⁴ Departamento de Investigación y Psicología en

Educación, Facultad de Educación, Universidad Complutense de Madrid (UCM), Madryt, Hiszpania,

⁵ Servicio de Genética,

Centro de Rehabilitación Infantil Teleton (CRIT), Guadalajara, Meksyk,

⁶ Departamento de Economía Financiera y Actuarial y

Estadística, Facultad de Comercio y Turismo, Universidad Complutense de Madrid, Madryt, Hiszpania,

⁷ hiszpańska kolaboracja

Badanie Wrodzonych Wad Rozwojowych (ECEMC), Jednostka Badawcza ds. Wad Wrodzonych (UIAC), Instituto de Salud Carlos III

(ISCIII), Madryt, Hiszpania, ⁸ Departamento Estudios Educativos, Facultad de Educación, Universidad Complutense de Madrid,

Madryt, Hiszpania

Zespół chromosomu 5p minus (5p-Sd, OMIM #123450), znany wcześniej jako zespół Cri du Chat, wynika z utraty materiału genetycznego w dystalnym regionie krótkiego ramienia chromosomu 5. Jest to zaburzenie neurorozwojowe o podłożu genetycznym. Do tej pory na całym świecie zgłoszono około 400 pacjentów. Osoby dotknięte tym zespołem mają dużą heterogeniczność fenotypową. Jednak pojawił się specyficzny fenotyp obejmujący globalne opóźnienie rozwojowe, małą głowę, opóźnioną mowę, pewne cechy dysmorficzne oraz charakterystyczny i monochromatyczny wysoki głos, przypominający płacz kota. Opisujemy tutaj kohortę 70 pacjentów z cechami klinicznymi 5p-Sd scharakteryzowanych za pomocą głębokiego fenotypowania, macierzy SNP i innych podejść genetycznych. Osoby mają dużą heterogeniczność kliniczną i molekularną, co można częściowo wytłumaczyć istnieniem dodatkowych znaczących rearanżacji genomowych w około 39% przypadków. Zatem nasze dane wykazały znaczące różnice statystyczne między subpopulacjami (proste delecje 5p w porównaniu z delecjami 5p plus dodatkowe rearanżacje) kohorty. Ustaliliśmy również znaczące „funkcjonalne” różnice między osobnikami płci męskiej i żeńskiej.

Słowa kluczowe: zespół 5p-minus, niepełnosprawność intelektualna, Cri du chat, delecja subteloemeryczna, problemy z zachowaniem

WSTĘP

Zespół 5p- (5p-Sd) jest spowodowany częściową delecją krótkiego ramienia chromosomu 5. Rozmiar delecji jest zmienny w zakresie od 500 kb lub mniej do 45 Mb (Simmons i in., 1995; Gu i in., 2013; Elmakky i in., 2014). Zespół ten jest rzadką chorobą chromosomalną, występującą z częstością od 1 na 15 000 do 1 na 50 000 żywych urodzeń (Niebuhr, 1978; Higurashi i in., 1990; Cerruti Mainardi, 2006). Częstość występowania jest wyższa wśród kobiet (66%) niż mężczyzn, ale powód

jest niejasny. Nie stwierdzono różnic w częstości występowania między rasami lub obszarami geograficznymi ani związanych z wydarzeniami prenatalnymi lub wiekiem rodziców. Szacuje się, że w Hiszpanii jest około 500-700 pacjentów (Rodríguez-Caballero i in., 2012 oraz niepublikowane dane ze stowarzyszeń pacjentów). Sugerowano, że duża zmienność fenotypowa obserwowana wśród osób z tym zespołem jest związana zarówno z rozmiarem, jak i lokalizacją delekcji (między prążkami 5p15.3 i 5p15.2), ponieważ jest to region chromosomalny o dużej zawartości genów (Nguyen i in., 2015; Correa i in., 2019).

Dziewięćdziesiąt procent przypadków jest de novo, a 10% jest dziedziczonych z powodu rearanżacji u rodziców (niezrównoważona segregacja translokacji lub rekombinacja obejmująca inwersję pericentryczną, rzadko mozaicyzm rodzicielski lub odziedziczoną delekcję końcową). W przypadkach de novo od 80% do 90% jest pochodzenia ojcowskiego, prawdopodobnie z powodu pęknięcia chromosomu podczas tworzenia męskich gamet (Cerruti Mainardi i in., 2001). Rozpoznanie prenatalne w 5p-Sd (w 12-16 tygodniu ciąży) jest powszechne, ponieważ płody często wykazują nieprawidłowe objawy ultrasonograficzne (~65-90%), w tym nieprawidłowości mózgowe, hipoplazję mózdzku, brak/hipoplastyczną kość nosową, obrzęk płodu, wodobrzusze lub przepuklinę mózgową spodziętwo, dysplazja płuc, IUGR, małogłowie i mikro/retrognatia (Mak i in., 2019; Su i in., 2019; Peng i in., 2020).

W ciągu ostatniej dekady dokładność diagnostyki genetycznej i postęp technik analitycznych pozwoliły na poszerzenie informacji genetycznej związanej z krótkim ramieniem chromosomu 5. Jednak pełna mapa genów zaangażowanych w ten zespół nie jest w pełni ustalona, ani konsekwencje ich haploinsufficencji dla osób z 5p-Sd. W tym sensie Nguyen i in. (2015) ustalili rolę 11 genów wrażliwych na dawkę w ramieniu 5p. W pięciu z nich straty mogą prowadzić do haploinsuficencji (TERT, SEMA5A, MARCH6, CTNND2 i NPR3), a w pozostałych sześciu genach ich haploinsuficjenca jest uwarunkowana dodatkowym czynnikiem środowiskowym (SLC6A3, CDH18, CDH12, CDH10, CDH9 i CDH6). Ponadto zasugerowano, że dwa dodatkowe geny mają działanie haploletalne (RICTOR i DAB2).

Opisujemy tutaj dane kliniczne i molekularne kohorty 70 niespokrewnionych pacjentów z rozpoznaniem cytogenetycznym i/lub molekularnym 5p-Sd. U większości pacjentów zastosowano techniki polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP) o wysokiej rozdzielczości, techniki cytogenetyczne, fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) i amplifikacji multipleksowej sondy (MLPA) w celu określenia wielkości, zasięgu, zawartości genów, i dodatkowe przeróbki. Ustalono również analizy zależności genotyp-fenotyp. Omówiono również porównanie cech klinicznych z pacjentami opublikowanymi w piśmiennictwie oraz istotne ustalenia wspólne dla wszystkich pacjentów w tej serii.

MATERIAŁY I METODY

Pacjenci W

latach 2017-2020 w naszym ośrodku zrekrutowano do tego badania około 100 pacjentów z zespołem 5p minus, wcześniej nazywanym zespołem Cri du chat (CDCS). W tym

chwili około 30 przypadków miało niekompletne dane kliniczne lub molekularne i ostatecznie nie zostało uwzględnionych w tym badaniu. Ostateczna kohorta składa się z 70 osób (patrz ryc. 1 i dane uzupełniające). Większość próbek DNA od tych pacjentów została wyekstrahowana i przeanalizowana za pomocą macierzy SNP w INGEMM (Madryt, Hiszpania), a standardowe badania cytogenetyczne przeprowadzono w hiszpańskim Centrum Wrodzonych Wad rozwojowych (ECEMC) i INGEMM. Informacje kliniczne o pacjentach uzyskano od lekarzy kierujących za pomocą dwóch wystandaryzowanych kwestionariuszy (INGEMM i ECEMC), uzupełnionych danymi z raportów lekarskich oraz wywiadów z większością rodziców. Rodzice lub opiekunowie wyrazili świadomą zgodę, a instytucjonalna komisja rewizyjna naszego szpitala zatwierdziła badanie (HULP, Madryt, Hiszpania).

Metody

Kariotypowanie i FISH

Analizy cytogenetyczne przeprowadzono na metafazach z prążkami GTG w rozdzielczości około 550 prążków zgodnie ze standardowym protokołem laboratoryjnym przy użyciu zestawu Chromosome Kit P (Euroclone, Siziano PV, Włochy). FISH przeprowadzono zgodnie ze standardowymi protokołami laboratoryjnymi przy użyciu komercyjnych subtelomerowych sond 5pter, LPU 013SA (obejmujących CTNND2, 5p15.2 i UBE2QL1, 5p15.31, z kontrolą przy 5q35) i sondy FLJ25076 (CytoCell Ltd., Tarrytown, NY, Stany Zjednoczone) i sonda CTNND2 (z Kreotech, Leica, Wetzlar, Niemcy).

Multipleksowa amplifikacja sondy ligacyjnej (MLPA)

Użyliśmy zestawów MLPA Salsa P036 i P070 (subtelomerowe sondy dla wszystkich chromosomów) i/lub P096 i P358 (specyficzne telomerowe sondy dla ramienia 5p) do scharakteryzowania pacjentów z 5p-Sd (MRC Holland, Amsterdam, Holandia). Analizy danych przeprowadzono zgodnie z protokołami dostarczonymi przez dostawcę, definiującymi względne sygnały sondy przez podzielenie każdego zmierzonego obszaru pików przez sumę wszystkich obszarów pików sond kontrolnych tej próbki. Stosunek względnej powierzchni sondy każdego pików porównano następnie z kontrolną próbką DNA (Promega, Wielka Brytania), stosując Coffalyser v.9.4 (MRC Holland, Amsterdam, Holandia).

Analiza SNP-Array

Skanowanie całego genomu 850 000 znaczników SNP (Infinium CytoSNP 850k BeadChip, Illumina, San Diego, Kalifornia, Stany Zjednoczone) przeprowadzono w INGEMM u większości pacjentów, ale u trzech (przeanalizowano za pomocą array-CGH w ECEMC). Analizowano je za pomocą narzędzia Chromosome Viewer zawartego w pakiecie Genome Studio (Illumina). W przeglądarce Chromosome Viewer wyniki wywołań genów <0,15 w dowolnym locus uznano za „brak połączeń”. Ponadto zastosowano analizę częstości alleli dla wszystkich SNP. Wszystkie pozycje genomowe ustalono zgodnie z wersją 19 ludzkiego genomu z 2009 r. (GRCh37/NCBI, wersja 37.1). Rozmiary delekcji wykreślono w przeglądarce genomu (ryc. 2 i dane uzupełniające) przy użyciu przeglądarki genomu Uniwersytetu Kalifornijskiego w Santa Cruz1 .

1<http://genom.ucsc.edu/>; Kent i in., 2002.

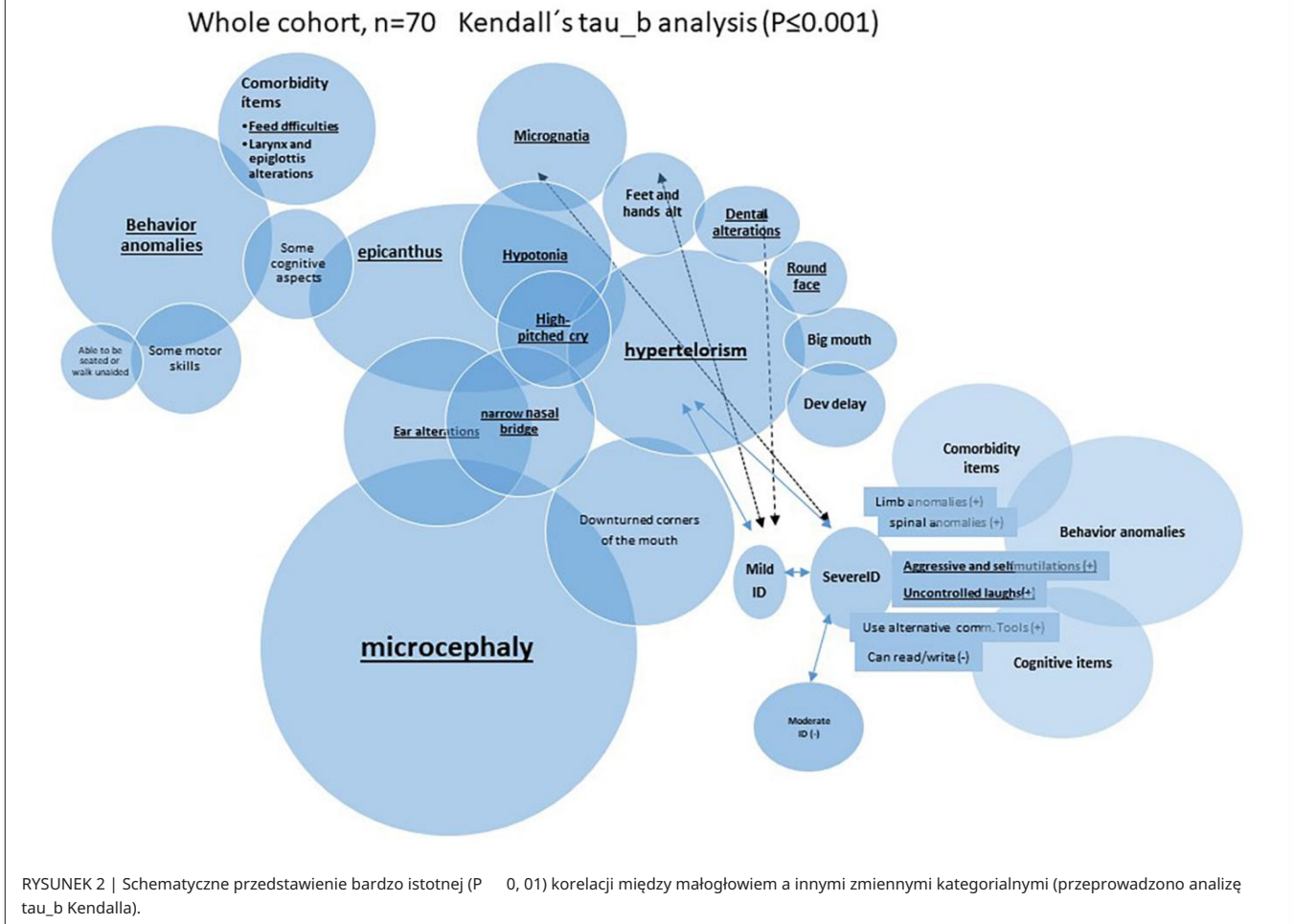


TABELA 1 | Statystyki opisowe dla zmiennych ciągłych w całej kohorcie.

	N	Średnia na mysli	Odchylenie standardowe	Mediana	Zakres
Wiek w momencie oceny (lata)	70	8,99	8,94	7.00	0,1–45
Wiek ciążowy w chwili urodzenia (tygodnie)	68	38.29	2,59	39.00	30–42
Waga przy urodzeniu (g)	68	2602,13	677,55	2600,00	1170–4500
OFC przy urodzeniu (cm)	68	32.20	2.42	32.00	27–37
Wzrost przy urodzeniu (cm)	68	45,89	3,90	46,75	32–52
Liczba operacji	70	0,71	1.37	0,0001	0–7
Rozmiar usunięcia (Mb)	70	20.22	9.29	22.55	0,62–35,01

N, liczba ocenianych pacjentów.

Walidacja Globalnej Oceny Funkcjonalnej Pacjentów (GFAP)

Oszacowaliśmy indywidualną ocenę funkcjonalną w naszej kohorcie za pomocą różnych cech zaczerpniętych z kwestionariuszy i zważyliśmy je według częstotliwości terminów Human Phenotype Ontology (HPO) w skali numerycznej pięciu elementów „jądrowych” w zespole, w oparciu o nasze doświadczenie kliniczne. Ostateczna ocena pacjenta (GFAP) została skonstruowana przez podsumowanie pozycji „(i) do (v)”, jak wskazano w tabeli dodatkowej 1, a jej walidacja została wyjaśniona w sekcji „Wyniki”.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą SPSS wersja 25 (IBM Corporation, Stany Zjednoczone). Analiza opisowa obejmowała średnią \pm SD dla zmiennych ciągłych oraz tabelę częstości dla zmiennych kategorycznych. Te zmienne kategoryczne zostały wyrażone jako 1 lub 0, w rzeczywistości pogrupowane jako „kiedykolwiek” z danym schorzeniem w porównaniu z „nigdy” z tym schorzeniem, wzięte z dwóch kwestionariuszy i wyselekcjonowane z dokumentacji medycznej. Powiązania korelacyjne obliczono za pomocą współczynnika korelacji liniowej Pearsona (zmienne ciągłe) lub Rho Spearmana i tau_b Kendalla (zmienne kategoryczne). Porównania między dwiema grupami (oparte na płci lub z dodatkowymi przegrupowaniami) przeprowadzono za pomocą testu t-Studenta (dla zmiennych ciągłych) lub testów chi-kwadrat (dla zmiennych kategorycznych). Dla więcej niż dwóch grup przeprowadzono analizę ANOVA (i testy post hoc Bonferroniego) dla zmiennych ciągłych oraz testy z między proporcjami kolumnowymi dla zmiennych kategorycznych. PCA (analiza głównych składników) została wykorzystana do walidacji naszego konstruktury GFAP, zawierającego miare Kaisera-Meyera-Olkina i test Barletta. Kryterium stosowanym w hierarchicznej analizie skupień była metoda minimalnej wariancji Warda, a do wyboru liczby skupień zastosowano Bayesowskie kryterium informacyjne (BIC) lub kryterium informacyjne Akaike (AIC). Uznano, że wartość P (obserwowany poziom istotności) niższa niż 0,05 lub 0,01 wskazuje odpowiednio na statystycznie istotną lub bardzo istotną różnicę.

WYNIKI

Wyniki kliniczne

Oceniamy 70 niezgłoszonych osób. Wszyscy oprócz trzech pochodzili z Hiszpanii (patrz ryc. 1 i dane uzupełniające). Stosunek kobiet do mężczyzn (2,04:1; 47/23) był bardzo podobny do poprzedniego

opisane kohorty, a wiek wahał się od urodzenia do 45 lat (patrz tabela uzupełniająca 2). Największą liczbę osób z 5p-Sd w naszej kohorcie stanowią osoby w wieku pediatrycznym (od 0 do 12 lat, 77,23%). Statystyki opisowe (dla zmiennych ciągłych) i częstości (dla pozycji kategorycznych) przedstawiono odpowiednio w tabelach 1 i 2. Średnia i mediana wieku w chwili oceny wynosiły odpowiednio 8 lat i 9 miesięcy oraz 7 lat (Tabela 1).

Dane okołoporodowe i noworodkowe

Jeśli chodzi o dane dotyczące noworodków, średni wiek ciążowy w naszej kohorcie wynosił $38,28 \pm 2,59$ tygodnia (Tabela 1). W sumie 53% (37 osób) urodziło się między 39 a 40 tygodniem. Dziewiętnaście osobników urodziło się przed 38 tygodniem ciąży, trzy z nich poniżej 32 tygodnia, a 27 po 40 tygodniu. Średnia masa urodzeniowa wynosi $2602,13 \pm 677,50$ g (centyl poniżej 5%; Marinescu i in., 2000), co odpowiada średniej masie noworodka w wieku 35–36 tygodni (przy centylu 50%) i średniej długości $45,89 \pm 3,90$ cm (centyl poniżej 5%; Marinescu i in., 2000). Ostatecznie średni obwód głowy (OFC) przy urodzeniu wynosił $32,20 \pm 2,42$ cm (centyl poniżej 5%; Marinescu i in., 2000). Ponad jedna trzecia badanych była hospitalizowana po urodzeniu.

Głównymi przyczynami były wcześniactwo, niska waga i podejrzenie nieprawidłowości chromosomalnych. W pierwszych miesiącach życia kilka osobników miało również trudności z karmieniem.

Wyniki badań klinicznych po urodzeniu

Częstość występowania cech klinicznych obserwowanych w tej kohorcie została zarejestrowana przy użyciu terminów HPO i została wymieniona w Tabeli 3. W Tabeli 3 wymieniliśmy również dane z wcześniej opublikowanych serii osobników 5p-Sd (Cerruti Mainardi i in., 2006; Van Buggenhout i in., 2000; Rodríguez-Caballero i in., 2012; Espíritu Santo i in., 2016); Rodrigues de Medeiros, 2017; Honjo i in., 2018; Chehimi i in., 2020). Rycina 1A pokazuje, że rysy twarzy nie zawsze są typowe dla tego zespołu i że nie zawsze występuje określony gestalt. Niemniej jednak obecne były mikrocefalia, duży grzbiet nosa, fałdy nakątne, hiperteloryzm, wysokie wysklepienie podniebienia, opadające kąciaki ust, okrągła twarz, anomalie uszu (ryc. 1B), zmiany zębowe (ryc. u około lub więcej niż 60% pacjentów). Należy wziąć pod uwagę, oprócz hipotonii, typowy płacz/ostry głos, problemy z oddychaniem i anomalie zachowania, jako najczęstsze cechy tego zespołu (Tabela 3). Z drugiej strony, zmiany w dłoniach lub stopach (patrz ryc. 1D, E), nadmierna wiotkość, zez rozbieżny/zbieżny, skośne opadanie

TABELA 2 | Częstości występowania zmiennych kategoryalnych w całej kohorcie.

Zmienne kategoryjne	Kobieta	Mężczyzna
Płeć	47 (67,1%)	23 (32,9%)
	0/„nigdy”/warunek nie występuje	1/„zawsze”/stan obecny
IUGR	43 (61,4%)	27 (38,6%)
Zaburzenia wzrostu poporodowego	37 (52,9%)	33 (47,1%)
małogłowie	11 (15,7%)	59 (84,3%)
Asymetria twarzy	61 (87,1%)	99 (12,9%)
Okrągła twarz	38 (54,3%)	32 (45,7%)
Powiększona twarz	47 (67,1%)	23 (32,9%)
Problemy ze słuchem	40 (57,1%)	30 (42,9%)
Zmiany w uchu	32 (45,7%)	38 (54,3%)
Epikant	37 (52,9%)	33 (47,1%)
Anomalie okulistyczne	38 (54,3%)	32 (45,7%)
Wyraźne łuki brwiowe	65 (92,9%)	5 (7,1%)
Skośne szpary powiekowe	56 (80,0%)	14 (20,0%)
hiperteloryzm	29 (41,4%)	41 (58,6%)
Anomalie wielkości szpar powiekowych	64 (91,4%)	6 (8,6%)
Wady nosa	56 (80,0%)	14 (20,0%)
Wąski grzbiet nosa	26 (37,1%)	44 (62,9%)
Krótką rynienka	60 (85,7%)	10 (14,3%)
Opuszczone kąciki ust	62 (88,6%)	8 (11,4%)
Anomalie warg i podniebienia	63 (90,0%)	7 (10,0%)
mikrognatia	40 (57,1%)	30 (42,9%)
Gruba dolna warga	54 (77,1%)	16 (22,9%)
Duże usta	52 (74,3%)	18 (25,7%)
Zmiany w zębach	36 (51,4%)	34 (48,6%)
Anomalie szyi	57 (81,4%)	13 (18,6%)
Pojedyncza fałda dłoniowa	58 (82,9%)	12 (17,1%)
Problemy z oddychaniem	43 (61,4%)	27 (38,6%)
Anomalie serca	46 (65,7%)	24 (34,3%)
Trudne do karmienia	42 (60,0%)	28 (40,0%)
Zmiany krtani i nagłośni	47 (67,1%)	23 (32,9%)
Anomalie żołądkowo-jelitowe	31 (44,3%)	39 (55,7%)
Anomalie nerek	61 (87,1%)	9 (12,9%)
Anomalie narządów płciowych	54 (77,1%)	16 (22,9%)
Anomalie analne	65 (92,9%)	5 (7,1%)
Anomalie kończyn	62 (88,6%)	8 (11,4%)
Zmiany w dłoniach lub stopach	39 (55,7%)	31 (44,3%)
Anomalie kręgosłupa	52 (74,3%)	18 (25,7%)
Skolioza	45 (64,3%)	25 (35,7%)
Zwichnięcie stawu obejmuje biodro	55 (78,6%)	15 (21,4%)
Wiotkość stawów	39 (55,7%)	31 (44,3%)
Pes cavus	57 (81,4%)	13 (18,6%)
Obrazy MRI	18 (25,7%)	52 (74,3%)
Anomalie w obrazach MRI	32 (61,5%)	20 (38,5%)
Hipotonia	21 (30,0%)	49 (70,0%)
Hipertonía	63 (90,0%)	7 (10,0%)
drgawki	66 (94,3%)	4 (5,7%)
Opóźnienie rozwoju	4 (5,7%)	66 (94,3%)
Łagoty identyfikator	62 (88,6%)	8 (11,4%)
Umiarkowany identyfikator	56 (80,0%)	14 (20,0%)
Poważny identyfikator	39 (55,7%)	31 (44,3%)

(Nieprzerwany)

TABELA 2 | Nieprzerwany

Zmienne kategoriale	Kobieta	Mężczyzna
Anomalie zachowania	50 (71,4%)	20 (28,6%)
Autyzm (ASD)	61 (87,1%)	9 (12,9%)
Nadpobudliwość	53 (75,7%)	17 (24,3%)
Agresywny i samookaleczający się	43 (61,4%)	27 (38,6%)
Stereotypy i powtarzające się ruchy	39 (55,7%)	31 (44,3%)
Nietolerancja frustracji	44 (62,9%)	26 (37,1%)
Niekontrolowane śmiechy	50 (71,4%)	20 (28,6%)
Problemy ze snem	32 (45,7%)	38 (54,3%)
Wsparcie głowy	19 (27,1%)	51 (72,9%)
Możliwość pozostania w pozycji siedzącej	22 (31,4%)	48 (68,6%)
Potrąfi utrzymać pozycję siedzącą bez pomocy	24 (34,3%)	46 (65,7%)
Możliwość chodzenia bez pomocy	(41,4%)	(58,6%)
Możliwość chodzenia z pomocą	23 (32,9%)	47 (67,1%)
Używaj pieluch	38 (55,7%)	31 (44,3%)
Wejść w interakcję z otoczeniem	20 (28,6%)	50 (71,4%)
Potrąfi czytać/pisać	56 (83,4%)	12 (17,6%)
Korzystaj z alternatywnych narzędzi komunikacyjnych	39 (55,7%)	29 (41,4%)
Brak słów	44 (65,7%)	26 (34,3%)
Użyj mniej niż 10 słów	43 (63,3%)	25 (36,7%)
Krótkie zrozumiałe zdania	52 (76,5%)	16 (23,5%)
Krzyk wysoki lub konny	31 (44,3%)	39 (55,7%)
Placz bez dźwięku	68 (97,2%)	2 (2,8%)
Członek rodziny nie pracuje już jako opiekun	38 (54,3%)	32 (45,7%)
Chirurgia	46 (67,1%)	24 (32,9%)
Podjęcie patologii przed postawieniem diagnozy	48 (68,6%)	54 (77,1%)
Normalny elektroencefalogram	(77,1%)	(22,9%)
Normalne badania metaboliczne	53 (75,7%)	17 (24,3%)
Dodatkowe duplikaty	43 (61,4%)	27 (38,6%)

„1” oznacza „zawsze” z danym schorzeniem w porównaniu z 0, „nigdy” z danym schorzeniem, wzięte z jednego z naszych dwóch kwestionariuszy i wyselekcjonowane z dokumentacji medycznej.

szpary powiekowe, stereotypie, anomalie żołądkowo-jelitowe, krótkka szyja, skolioza, wady serca i opóźnienie mowy występowały w 25–59% przypadków i należy je uznać za częste zmiany w zespole (tab. 3).

Godne uwagi jest to, że wiele z tych zwanych „jądrowymi cechami klinicznymi” (najczęstsze odkrycia) wydawało się być ze sobą powiązanych. Rzeczywiście, wykazano między nimi znaczącą dodatnią korelację, gdy przeprowadzono analizę tau_b Kendalla. Na przykład mikrocefalia występująca w ponad 65% przypadków korelowała z epikantem, wąskim grzbietem nosa lub zmianami w uchu. Jako przykład, Rycina 2 podsumowuje niektóre z tych bardzo znaczących korelacji wewnętrznych ($P < 0,01$), np. małogłowie. Rozszerzone analizy tych korelacji podsumowano w tabeli uzupełniającej 3.

Badania MRI mózgu przeprowadzono u prawie 75% osób, chociaż tylko u 28,6% stwierdzono pewne zmiany (tabela 2), w tym przepuklinę ciała migdałowatego mózdzku, nieprawidłowości ciała modelowanego (od wychudzenia do agenezji), ektazję rogów czołowych, pnia mózgu hipoplazja, rozszerzony układ komorowy, torbiele lub wodogłowie.

Elektroencefalogramy wykazały prawidłowe wyniki tylko u zmniejszonej liczby osób (12/70, 22,90%) (Tabela 2).

Zdolność mowy (oceniona tylko u pacjentów w wieku 3 lat; $n = 56$) wykazała poważne nieprawidłowości u większości pacjentów

(40/56; ~71,50%). W rzeczywistości 30,35% pacjentów (17/56) w ogóle nie mówiło, 41,07% (23/56) miało podstawowe słownictwo składające się z 10 słów lub mniej, a 28,57% (16/56) miało łagodne słownictwo oraz umiejętność posługiwania się ograniczonymi zwozami w celu prowadzenia krótkiej i zrozumiałej rozmowy (tabela 2, 3).

Jako przykłady chorób współistniejących prawie 33% kohorty poddało się co najmniej jednej operacji (od jednego do siedmiu, tab. 1) i obejmowało ubytek przegrody międzykomorowej (VSD), przeszskórne zamknięcie przetrwałego przewodu tętniczego, zamknięcie otwartego otworu owalnego, dwunastnicy atrezja, zez i przepuklina pachwinowa (najczęściej).

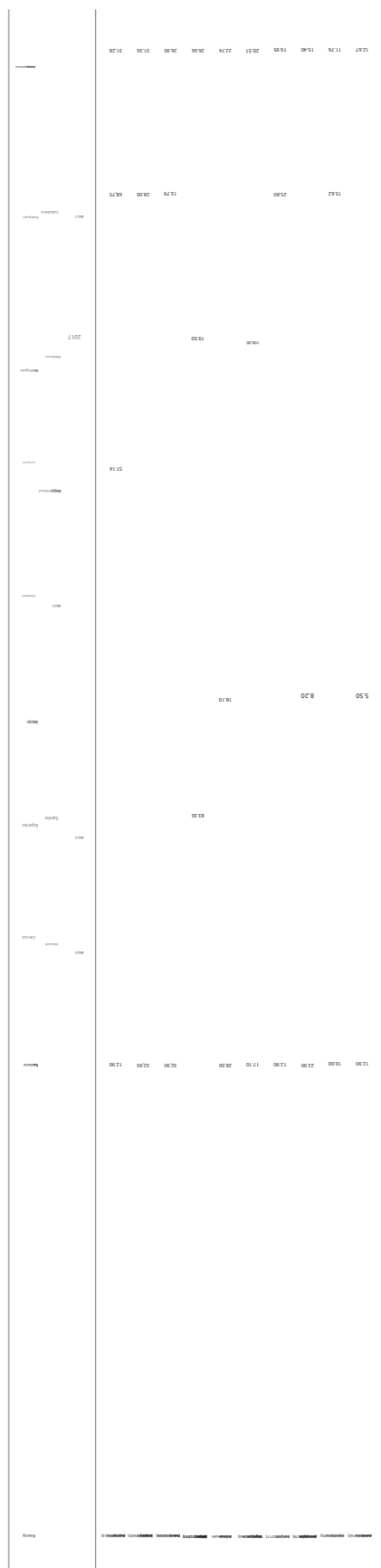
Wyniki genetyczne Analiza danych punktu przerwania

Analizę SNP-macierzy przeprowadzono w większości przypadków z wyjątkiem trzech pacjentów, którzy mieli porównawczą hybrydyzację genomową (macierz CGH). Współrzędne genomowe dla mikrodelekcji wpływających na krótkie ramię chromosomu 5 i inne rearanżacje genomowe wymieniono w Tabeli 4. Graficzne przedstawienie delekcji pokazano na dodatkowej rycinie 2. W skrócie, średnia wielkość strat wynosiła $20, 21 \pm 9, 28$ Mb (zakres 0, 62–35,01 MB). Macierze SNP ustaliły istnienie innych klinicznie istotnych rearanżacji genomowych u prawie 39% pacjentów (Tabela 4);

TABELA 3 | Fenotyp, choroby współistniejące i globalne cechy rozwojowe naszej kohorty w porównaniu z poprzednimi opublikowanymi pracami.

Rzeczy	To badanie	Cerruti Mainardi i in., 2006	Espirito Santo i in., 2016	Pinjo i in., 2018	Chehri i in., 2020	Van Engenhoeden et al., 2000	Rodrigues de Medeiros et al., 2017	Rodriguez-Cabeza et al., 2012	Razem (uwzględnione)
N	N = 70	N = 220	N = 6	N = 73	N = 14	N = 7	N = 3	N = 32	432
Zakres wieku	0,1-45 lat	0,8-61 lat	6-38 lat	9,5-40 lat	2-38 lat		17-23 lata	2-35 lat	0,1-45 lat
Średni wiek	8,80 lat		16,80 lat	13,80 lat	13,30 lat		19,66 lat	14,65 ± 10,19 lata	12,32 lat
Opóźnienie rozwojowe (HP:0001263)	91,40			100,00	100,00		100,00	89,47	95,11
Hipotonia (HP:0003808)	70,00	72,20	100,00				100,00	87,50	99,38
Mikrognatia (HP:0000347)	42,90	96,70	100,00		71,00		100,00	90,62	84,26
Fałdy nakątne (HP:0000286)	47,10	90,20	83,30			85,71	100,00	93,75	81,67
Duży mostek na nos (HP:0000446)	62,90	87,20	100,00		57,00	71,42	100,00	93,75	81,78
Typowy płacz/ostry głos (HP:0200046)	55,70	95,90	100,00	94,40	93,00		33,33	93,75	88,25
Hiperteloryzm (HP:0000316)	58,60	81,40	83,30		71,00	57,14	100,00	93,75	77,16
Agresywny i samookaleczenia (HP:0000718)	84,60							65,63	78,65
Anomalie w zachowaniu (HP:0012433)	71,40							68,75	70,57
Okrągła twarz (HP:0000311)	45,70	83,50	100,00		29,00		100,00	25,00	68,62
Podniebienie wysoko wysklepione (HP:0000218)	10,00	83,80	100,00		64,00			29,16 (56,17)	65,58
Samodzielne chodzenie	58,60			72,20					65,54
Nisko osadzone uszy (HP:0000369)	54,30	69,80	33,30			14,28	100,00	78,12	65,20
Małogłowie (HP:0000252)	84,30		66,70		91,00	85,71		6,25	64,93
Używaj pieluch	44,30			84,00					64,56
Trudne do karmienia (HP:0011968)	40,00		60,00	80,30				71,87	62,55
Opuszczone kąciuki ust (HP:0002714)	11,40						81,00		64,20
Anomalie dentystryczne (HP:0000164)	48,60	75,00					100,00	23,13 (56,52)	58,30
Krótki rynek podnosowa (HP:0000322)	14,30	60,50			86,00			96,87	55,40
Nadpobudliwość (HP:0002761)	44,30							78,12	54,91
Opadające szczeliny powiekowe (HP:0200005)	20,00	56,90	83,30						48,71
Zez rozbieżny/zbieżny (HP:0000486)	45,70	47,50	100,00			42,86		17/31 (54,83)	48,67
Krótki szyja (HP:0000470)	18,60	56,20	33,30				100,00		47,38
Stereotypy (HP:0000733) (HP:0008762)	44,30			40,30					42,25
Brak słów (HP:0001344)	35,30			47,20					41,37
Nadpobudliwość (HP:0000752)	24,30							71,87	39,22
Skolioza (HP:0002944)	35,70		38,30	28,80			42,60		38,41
Problemy z oddychaniem (HP:0002098)	38,60						100,00		38,38
Anomalie serca (HP:0115080)	34,30	35,80		31,50			100,00	14/29 (48,27)	36,23
Anomalie żołądkowo-jelitowe (HP:0011024)	55,70						21,40	65,62	33,25

(Nieprzerwany)



większość z nich nie została wcześniej wykryta w badaniach cytogenetycznych (patrz Tabela 4 i dane uzupełniające). Większość pacjentów miała delecje końcowe (65/70, 92,85%), a pięć osób miało delecje śródmiaższowe (przedstawione na dodatkowym rysunku 2B). Wśród delecji końcowych 16 z nich (22,85%) miało dodatkową duplikację końcową w innym chromosomie, co mogło wynikać z możliwej translokacji (de novo lub odziedziczonej). Analiza cytogenetyczna rodziców pozwoliła nam ustalić, czy rearanżacje były znajome (6 przypadków), czy de novo (10 przypadków). W jednym przypadku delecja 5p została odziedziczona po matczym mozaicyzmie (6,5% komórek we krwi), nieznanym do momentu rozpoznania dziecka. Znaleźliśmy pacjentów z dodatkowymi delecjami końcowymi w innych chromosomach (dwa przypadki, 2,85%) i dodatkowymi rearanżacjami na chromosomie 5 w pobliżu delecji (siedem przypadków, 10%). Wreszcie troje dzieci odziedziczyło po swoich matkach prostą, izolowaną terminalną delecję.

„Funkcjonalne” wyniki poszczególnych GFAP Duża

heterogeniczność obserwowana u pacjentów z tym zespołem wraz z dużą liczbą innych znaczących rearanżacji genomowych (oprócz delecji 5p) rodziła pytanie, czy obecność tych dodatkowych rearanżacji może modulować funkcjonalnie cechy kliniczne tego zespołu oraz wyjaśnić wysoką zmienność wewnątrzkohortową. Zaproponowaliśmy stopniowanie indywidualnej globalnej oceny funkcjonalności (GFAP), konstruując jedną zmienną ciągłą, w oparciu o częstość różnych „jądrowych” pozycji klinicznych (od i do v, patrz rozdział „Materiały i metody”) oraz nasze doświadczenie kliniczne w syndromie.

Aby zweryfikować tę konstrukcję skali GFAP, przeprowadzono połączoną analizę statystyczną testu Kaisera-Meyera-Olkina, Bartletta i analizy głównych składowych (PCA) w celu wykrycia najlepszego sposobu powiązania między tymi zgrupowanymi cechami klinicznymi. Rzeczywiście, pierwszy główny składnik (PCA 1) z PCA ważył główny wynik wariacji, potwierdzając, że PCA1 można zapisać jako średnią ważoną pięciu oryginalnych zmiennych. Ostatecznie analiza korelacji Pearsona wykazała, że PCA1 i pozycja GFAP są bardzo istotnie skorelowane (wartość korelacji Pearsona = 0,846; $P = 0,001$). Wykres dyspersji pokazuje silną korelację liniową między nimi, a zatem uzasadnia GFAP jako ważny konstrukt (ryc. 3).

Tabela 5 przedstawia wartości mediany i średniej \pm SD dla GFAP i jej pośrednie składowe „funkcjonalne” dla całej kohorty i obu subpopulacji: prostych delecji (47 przypadków) oraz pacjentów z delecjami i dodatkowymi rearanżacjami (głównie duplikacje, 23 przypadki).

Analiza porównawcza Wśród subpopulacji z dodatkowymi i bez Przegrupowania

Przeprowadzono test chi-kwadrat w celu porównania zmiennych kategoriycznych w obu grupach: prostych (izolowanych) delecji 5p oraz obejmujących delecje 5p i dodatkowe przegrupowania

TABELA 4 | Współrzędne genomowe ze wszystkich rearanżacji (GRCh37, hg19).

Indywidualny	Usunięcia				Duplikaty			
	Chromosom	Współrzędne początek	Współrzędne koniec	Rozmiar (MB)	Chromosom	Początek współrzędnych	Koordynaty się kończą	Rozmiar (MB)
1	5p15.33-p15.1	25328	17981563	17,98	Xp22.33	169805	2123990	2.12
2	5p15.33-p14.3	25328	22446214	22.44	10q25.3-q26.3	115402474	135434319	20.08
3	5p15.33-p15.2	25328	12995938	12,99				
4	5p15.33-p14.1	25328	28779357	28.77				
5	5p15.33-p14.3	25328	22956970	22.95				
6	5p15.33-s15.31	25328	9438756	9.43	Xq28	154933691	155236712	3.72
7	5p15.33-s13.2	25328	34602269	34,60				
	5p13.2**	34602654	36816661	2.21				
8	5p15.33-s13.3	25328	31853346	31.85				
9	5p15.33-s13.2	25328	35015297	35.02				
10	5p15.33-p14.1	25328	25290077	25.30				
11*	5p15.32-p15.1	4928318	15418957	10.49				
12	5p15.33-p14.2	25328	24430251	24.43				
13	5p15.33-p14.1	25328	28783716	28.78				
14	5p15.33-s15.32	25328	4938756	4,94				
15	5p15.33-s13.3	25328	34986724	34,98				
16	5p15.33-p15.1	25328	17665529	17.60	12p11.21	32875287	33056330	0,18
17	5p15.33-p14.1	25328	25027051	25.02				
18	5p15.33-p15.1	25328	15913112	15.91	8p23.3p-23.1	176617	11860710	11.86
19	5p15.33-p14.1	25328	25396006	25.40	5p14.1	25409917	28435493	3.025
20	5p15.33-p15.1	25328	15808138	15.81				
21	5p15.33-p15.2	25328	12978580	12.98	10q-26.11-q26.3	121556072	135425341	13.87
22	5p15.33-p15.2	25328	11037420	11.037				
23	5p15.33-s15-32	25328	4356789	4.35	5p15.33-s15.32	4355708	4969019	0,60
					5p15.31	6325532	6642356	0,30
24	5p15.33-p14.1	25328	27108052	27.10				
25	5p15.33-p14.3	25328	21872896	21.88	9p24.3-p22.1	46587	19713500	19.7
26	5p15.33-p14.3	25328	22658970	22.65	8p23.2-p11.23	2061877	34908297	34,94
27	5p15.33-p15.2	25328	14360436	14.36				
28	5p15.33-s13.3	25328	29485091	29.48				
29	5p15.33-s13.3	25328	29292854	29.29	1p13.1-s12	117594464	117989275	0,38
30	5p15.33-s13.3	25328	32130401	32.13				
31	5p15.33-p14.1	25328	27708038	27.71	18p11.32	13034	2656248	2,65
32	5p15.33-p14.1	25328	28147535	28.15				
33	5p15.33-p14.1	25328	26622073	26.62	5p13.3-p13.2	26695268	34019038	7.67
34	5p15.33-p14.1	25328	28796749	28,79				
35*	5p15.33-p15.1	560000	17509888	16.95				
36	5p15.33-p14.1	25328	25821865	25.82				
37	5p15.33-p14.3	25328	21504581	21.50	8p23.3-p23.2	164984	752709	0,75
					22q11.21	25661725	25914593	0,25
38	5p15.33-s15.32	25328	4610206	4.61	5q35.1	169708691	169893751	0,18
					5q35.1-q35.3	171656863	180693344	9.03
39	5p15.33-p15.1	25328	15922302	15.92				
40	5p15.33-p14.2	25328	24438467	24.43				
41	5p15.33-p14.1	25328	25135494	25.13	11q22.1	100578089	100870339	0,29
42	5p15.33-p15.1	25328	15022112	15.02	9p24.3-p21.3	162931	23232287	23.24
43	5p15.33-p14.1	25328	28464893	28.46	18p11.32-s11.31	141896	6785383	6,78
44	5p15.33-p14.2	25328	24247673	24.24				
45	5p15.33-p15.1	25328	17704161	17.70	5p14.3	19970119	20370847	0,4

(Nieprzerwany)

TABELA 4 | Nieprzerwany

Indywidualny	Usunięcia			Duplikaty				
	Chromosom	Współrzędne początek	Współrzędne koniec	Rozmiar (Mb)	Początek współrzędnych chromosomu		Współrzędne koniec	Rozmiar (Mb)
46	5p15.33-s13.2	25328	28929082	28,92	5p13.3-p13.2	28968268	34497445	5,53
47	5p15.33-p15.1	25328	16410000	16,41				
48	5p15.33-s13.3	25328	31131409	31,13				
49	5p15.33-p15.2	25328	14270500	14,27				
50	5p15.33-p15.2	25328	14061184	14,06	7p22.3-p11.3	44935-	11857504	11,86
51	5p15.33-p15.1	25328	16661282	16,67				
52	5p15,33	25328	618586	0,62	2q36.3-2q27,3	22990625	243048760	13,14
	2q36,3	228782976-	229669531	0,89				
53	5p15.33-s15.31	25328	7125022	7,12				
54	5p15.33-s15.31	25328	7125022	7,12				
55	5p15.33-s13.3	25328	30210500	30,21				
56	5p15.33-s15.32	25328	4610206	4,61	2p15.3-p25.2	14238	4698068	4,68
57*	5p15.1-p13.3	17509888	32677299	15,17				
58	5p15.33-s13.3	25328	34119847	34,11	Xp22.31	6447911-	8135053	
59	5p15.33-s13.3	25328	30480030	30,48				
60	NA	NA	NA	NA				
61	5p15.33-p15.1	25328	15652433	15,65	11p15.5-p15.4	75328-	10525251	10,5
62	NA	NA	NA	NA				
63	5p15.33-p15.13.3	25328	30445734	30,44				
64	5p15.33-s15.32	25328	4610206	4,61	2p15.3-p25.2	14238	4698068	4,68
65	5p15.33-s15.32	25328	4610206	4,61	2p15.3-p25.2	14238	4698068	4,68
66*	5p142-s13.2	23383424-	36609355	13,22				
67	5p15.33-s15.31	25328	7125022	7,12				
68**	5p15.33-s13.3	25328	29292854	29,29				
69	5p15.33-s15.32	25328	5014883	5,01				
70*	5p15.2-p13.3	9860050	33760050	23,09				

*Oznacza przypadki śródmiąższowe. **Oznacza mozaiki.

(głównie duplikaty). Co ciekawe, obecność dodatkowych rearanżacji może wywierać znaczące różnice w wynikach prenatalnych i postnatalnych opóźnień wzrostu, anomalii sercowych i zdolności mowy w języku ekspresyjnym (Tabela 6, $P = 0,05$, przy CI 95%).

Co godne uwagi, inne ustalenia stały się istotne przy 90% CI, takie jak rozszczep wargi/podniebienia, anomalie nerek, zaburzenia ze spektrum autystycznego (ASD) lub trudności w oddychaniu (Tabela 6).

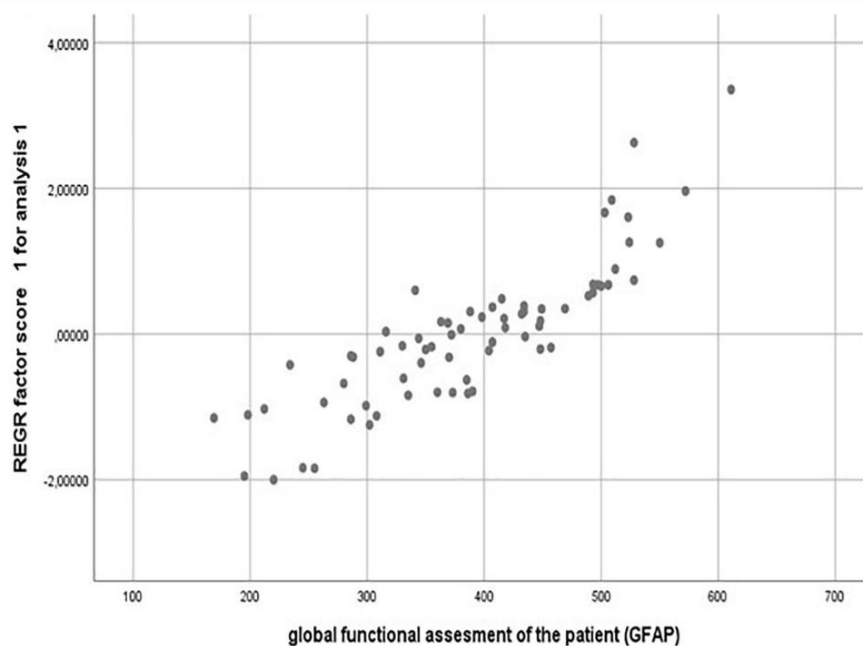
Analiza skupień oddziałów pozwoliła nam porównać częstości występowania tych zmiennych w obu subpopulacjach. Zaznaczamy, że lepsze liczby (niskie wartości procentowe) były bardziej reprezentowane w prostej grupie delecji 5p, ale z elementami motorycznymi, nieco lepiej niż w grupie z dodatkowymi przegrupowaniami (tabela 5 i dane uzupełniające). Chociaż grupa prostych delecji miała średnio większy rozmiar delecji 5p (patrz tabela uzupełniająca 5), nie można było zaobserwować statystycznie istotnych różnic między dwiema różnymi subpopulacjami (test t Studenta, patrz ryc. 4).

Przeprowadziliśmy również analizę asocjacji między zmiennymi kategoryjnymi w obu subpopulacjach za pomocą analizy tau_b Kendalla (rozszerzona analiza dla całej kohorty i podgrup została przedstawiona w tabeli dodatkowej 3). Co ciekawe, niektóre z

zaobserwowane korelacje w grupie z prostą delecją 5p zniknęły w grupie z dodatkowymi rearanżacjami (ryc. 5). Bardziej szczegółowy przykład trzech z tych zmiennych kategoryjnych przedstawiono na dodatkowym rysunku 3.

Korelacje między genotypem a fenotypem

Przeprowadziliśmy hierarchiczną analizę skupień Warda, używając pozycji „rozmiar delecji” jako unikalnej zmiennej, w celu zweryfikowania, jak osoby (początkowo z całej kohorty) grupują się według wielkości delecji. Na koniec osobniki pogrupowano w cztery skupienia (liczbę ustalono algorytmami BIC i AIC), w następujący sposób: $4,97 \pm 1,83$ Mb, $14,64 \pm 2,31$ Mb, $24,01 \pm 1,38$ Mb oraz $29,95 \pm 2,93$ Mb (ryc. 6A, B). Analiza ANOVA odrzuciła istotną korelację między wielkością delecji a elementem funkcjonalnym, GFAP lub którymkolwiek z jego produktów pośrednich ($P = 0,07$ przy CI 95%, dane nie pokazane). Jednak analiza ANOVA dla zmiennych ciągłych lub test chi-kwadrat dla zmiennych kategoryjnych pokazuje istnienie istotnych różnic między klastrami w kilku zmiennych, głównie związanych z parametrami okołoporodowymi, niektórymi cechami dysmorficznymi, zachowaniem i cechami poznawczymi (ryc. 6C). Ponadto testy Bonferroni i Z dla poprzednich istotnych zmiennych ujawniły, że skupienie 3



RYSUNEK 3 | Walidacja konstruktów GFAP metodą statystyczną PCA (analiza głównych składników). Wartość korelacji Pearsona = 0,846; P = 0,001.

TABELA 5 | Średnia (±SD) i mediana GFAP (Globalna Ocena Funkcjonalna Pacjenta) i jej wartości pośrednie (pozycje od „i” do „v”) z całej kohorty i subpopulacji 5p- osobników.

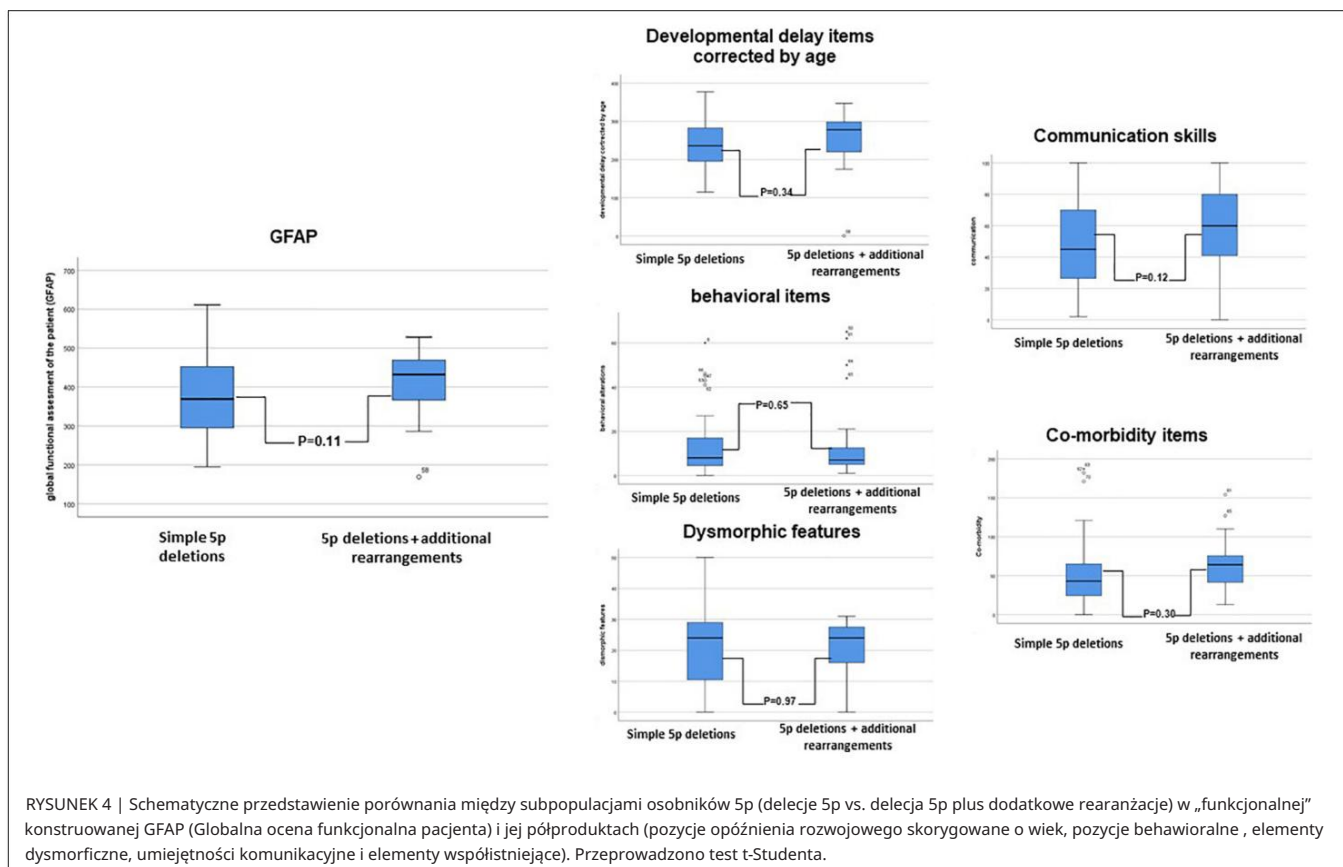
Zmienna „funkcjonalna”.	Cała kohorta		Pojedyncze delecje 5p		Delecje 5p plus dodatkowe rearanżacje	
	Mediana	Średnia ± SD	Mediana	Średnia ± SD	Mediana	Średnia ± SD
GFAP	387,60	388,40 ± 100,00	361,50	362,89 ± 98,50	404,00	398,70 ± 92,00
(i) Elementy opóźnienia rozwojowego skorygowane według wieku	251,00	244,60 ± 66,40	228,50	233,80 ± 59,50	249,00	229,10 ± 73,00
(ii) Elementy zmiany zachowania	7,50	13,40 ± 15,40	7,00	10,80 ± 12,10	7,00	15,00 ± 19,60
(iii) Przedmioty dysmorficzne	24,00	21,10 ± 11,60	24,00	20,30 ± 11,80	24,00	19,00 ± 0,60
(iv) Umiejętności komunikacyjne	48,00	54,10 ± 25,80	45,00	50,50 ± 25,80	60,00	58,20 ± 23,80
(v) Pozycje chorób współistniejących	47,00	55,20 ± 47,00	47,00	48,80 ± 38,80	67,00	61,50 ± 37,50

Wartości są wyrażone w dowolnych jednostkach. Wyższe wartości wiążą się z gorszym rokowaniem funkcjonalnym.

TABELA 6 | Porównanie subpopulacji u osobników 5p- pod kątem przyjętych zmiennych kategorycznych.

Test chi-kwadrat	Proste delecje 5 pensów N = 47		5p delecje + dodatki przegrupowanie N = 23		Wartość	df	sygn. asymptotyczny (dwustronny)
	N	%	N	%			
IUGR	14	29,8%	13	56,5%	1.701	1	0,019*
Zaburzenia wzrostu poporodowego	16	34,0%	17	73,9%	3.716	1	0,036*
Anomalie serca	10	21,3%	14	60,9%	6.020	1	0,014*
Krótkie zrozumiałe zdania	14	29,8%	2	8,7%	5.299	1	0,021*
Anomalie rozszczepu wargi i podniebienia	2	4,3%	5	21,7%	3.543	1	0,060 \$
Anomalie nerek	3	6,4%	6	26,1%	3.441	1	0,064 \$
ASD	3	6,4%	6	26,1%	3.441	1	0,064 \$
Wyraźne łuki brwiowe	5	10,6%	0	0,0%	3.381	1	0,066 \$
Problemy z oddychaniem	13	27,7%	14	60,9%	3.272	1	0,070 \$
Brak słów	10	21,3%	11	47,8%	3.187	1	0,074 \$
Wejść w interakcję z otoczeniem	34	71,9%	16	69,6%	3.189	1	0,074 \$

* \$ oznacza istotną wartość p < 0,05; oznacza możliwą tendencję, istotną przy CI 90% (dane nie pokazane). N to liczba ocenianych pacjentów.



(rozmiar 24,01 ± 1,38 Mb; 5p15.1 – p14.1) jest najbardziej reprezentowany wśród par klastrów z istotnymi różnicami między nimi (ryc. 6C).

Kiedy klastry Warda zostały podzielone według częstości pozycji (w procentach), wydawało się, że wyższe wartości procentowe (zwykle związane z gorszym rokowaniem) zostały zmapowane, również w klastrze 3 (tabela 6 i dane uzupełniające). Jednak ekspresyjny język (następnie pozycja, umiejętność tworzenia krótkich zdań) lub umiejętność pisanie lub czytania była kojarzona preferencyjnie ze skupieniami 1 i 2 (11/16 osób, 69%). Rycina 7 pokazuje, w jaki sposób cztery klastry integrują się z sugerowanymi obszarami funkcjonalnymi chromosomu-5p z kilku wcześniej opublikowanych danych. Zaobserwowaliśmy kilka istotnych wyników mapowania, takich jak opóźnienie mowy elementu, które zostało zmapowane na początku telomera.

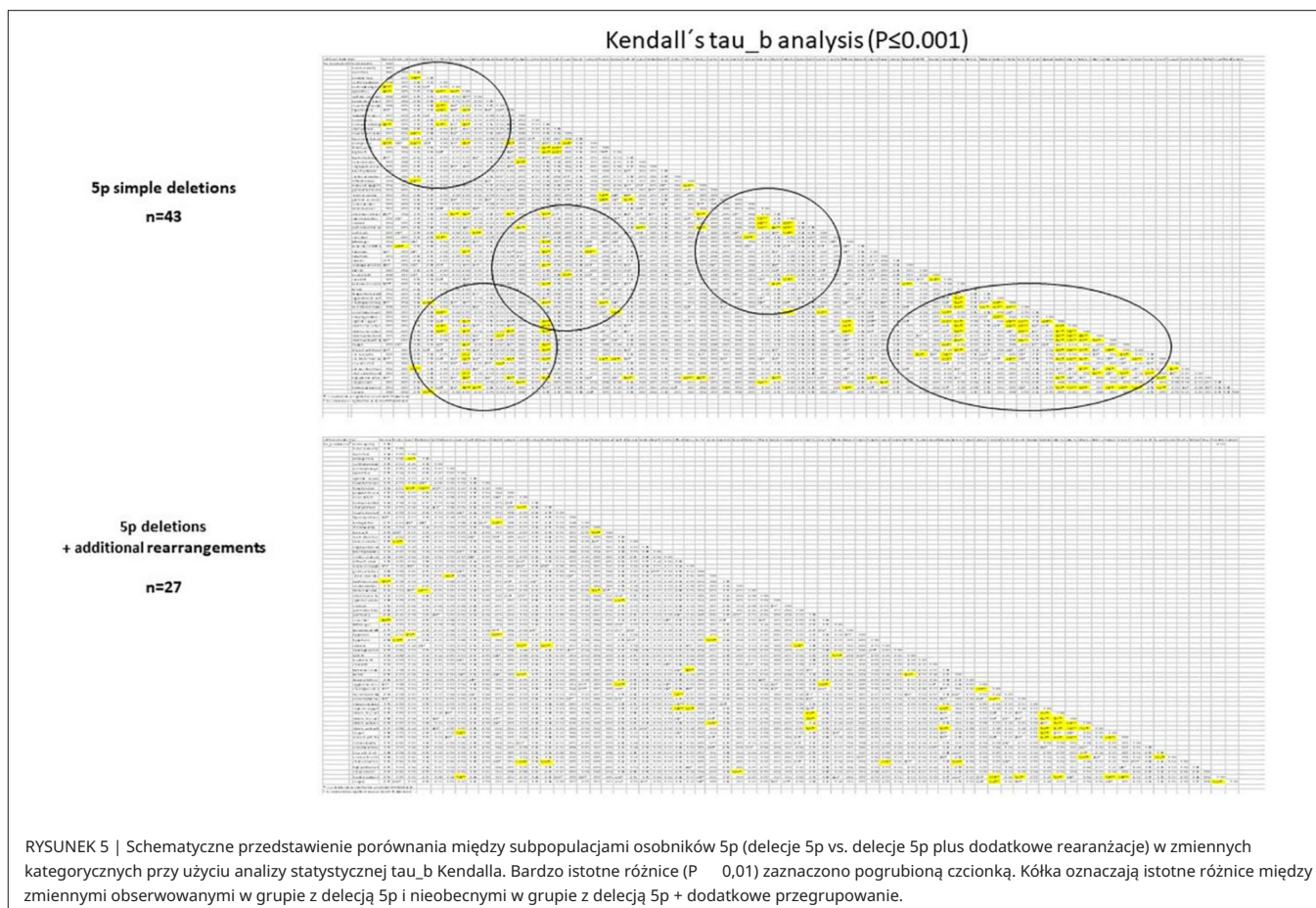
Następnie przeanalizowaliśmy te możliwe różnice między klastrami (według wielkości delecji) w dwóch subpopulacjach osobników 5p-Sd (proste, izolowane delecje 5p vs. delecje 5p plus dodatkowe rearanżacje), stosując to samo podejście statystyczne przedstawione powyżej. Uzupełniający rysunek 4A pokazał podobny wynik dla prostych delecji. Znaleźliśmy również istotne różnice wewnątrz klastrów dla niektórych zmiennych, przy czym klaster 3 ponownie jest najbardziej reprezentatywnym skupiskiem dla znaczących różnic w parach porównań klastrów (rysunek 4A i dane uzupełniające). Co ciekawe, jedną z tych zmiennych, która wykazała różnice między klastrami, był GFAP. Do analizy grupy z dodatkowymi przegrupowaniami wygenerowaliśmy tylko dwa skupienia do porównania (ze względu na liczbę osobników), ale również oznaczyliśmy

znaczące różnice między klastrami „A” i „B” (obecnie klaster „A” agreguje klastry 1 i 2 oraz klastry „B” 3 i 4, rysunek dodatkowy 4B).

Ostatecznie analiza korelacji Pearsona wykazała, że wielkość delecji odwrotnie korelowała z niektórymi parametrami noworodków, takimi jak waga lub OFC ($P = 0,001$) i prawie z długością urodzeniową ($P = 0,061$). Jednak najbardziej znaczącą korelację genotyp/fenotyp zaobserwowano między wielkością delecji a płcią (mężczyźni, 15,79 ± 8,79 vs. kobiety, 22,38 ± 8,84. Test t-Studenta, $P = 0,004$).

Analiza porównawcza mężczyzn i kobiet Test chi-kwadrat przeprowadzono dla całej kohorty i dwóch subpopulacji. Tabela 7i pokazuje statystycznie istotne różnice między mężczyznami i kobietami w całej kohorcie.

Różnice te dotyczyły głównie opóźnienia wzrostu (prenatalnego i postnatalnego), cech dysmorficznych, niektórych chorób współistniejących kręgosłupa oraz aspektów behawioralnych i poznawczych. Ponadto analiza klastrów Ward między mężczyznami i kobietami wykazała najgorsze częstotliwości (w procentach) u kobiet (tabela 7 i dane uzupełniające). Zgodnie z oczekiwaniami, dane noworodków przy urodzeniu wykazały również istotne różnice między płcią i masą ciała oraz OFC (odpowiednio $P = 0,01$ i $P = 0,05$, test t-Studenta) lub długością po urodzeniu ($P = 0,074$, test t-Studenta). Co najbardziej godne uwagi, wystąpiły również znaczące różnice w funkcjonalnym GFAP ($P = 0,05$, test t-Studenta). Różnice te wykazały wyższe wartości częstości (głównie gorsze rokowanie) u kobiet. Podobnie my



porównali znaczące różnice między mężczyznami a kobietami dla wszystkich zmiennych kategoriowych (zarówno w pojedynczych delecjach, jak i delecjach + dodatkowe przegrupowania) (tabela 7ii, iii). Stwierdzono istotne korelacje między płciami, niezależnie od grupy. Jedyną istotną wspólną różnicą było opóźnienie wzrostu wewnątrzmacicznego (IUGR). Ponownie, najbardziej niezwykłym odkryciem ze znaczącymi różnicami w grupie z prostą delecją 5p był GFAP (Tabela 7ii), ale nie w grupie z dodatkowymi rearanżacjami (Tabela 7iii). Z drugiej strony pacjenci z dodatkowymi rearanżacjami wykazywali również znaczące różnice w danych dotyczących noworodków, takich jak waga lub OFC przy urodzeniu, ponownie jako cała kohorta, wykazując lepsze liczby u mężczyzn niż u kobiet. Rozszerzoną analizę testu t-Studenta przedstawiono w tabeli dodatkowej 8.

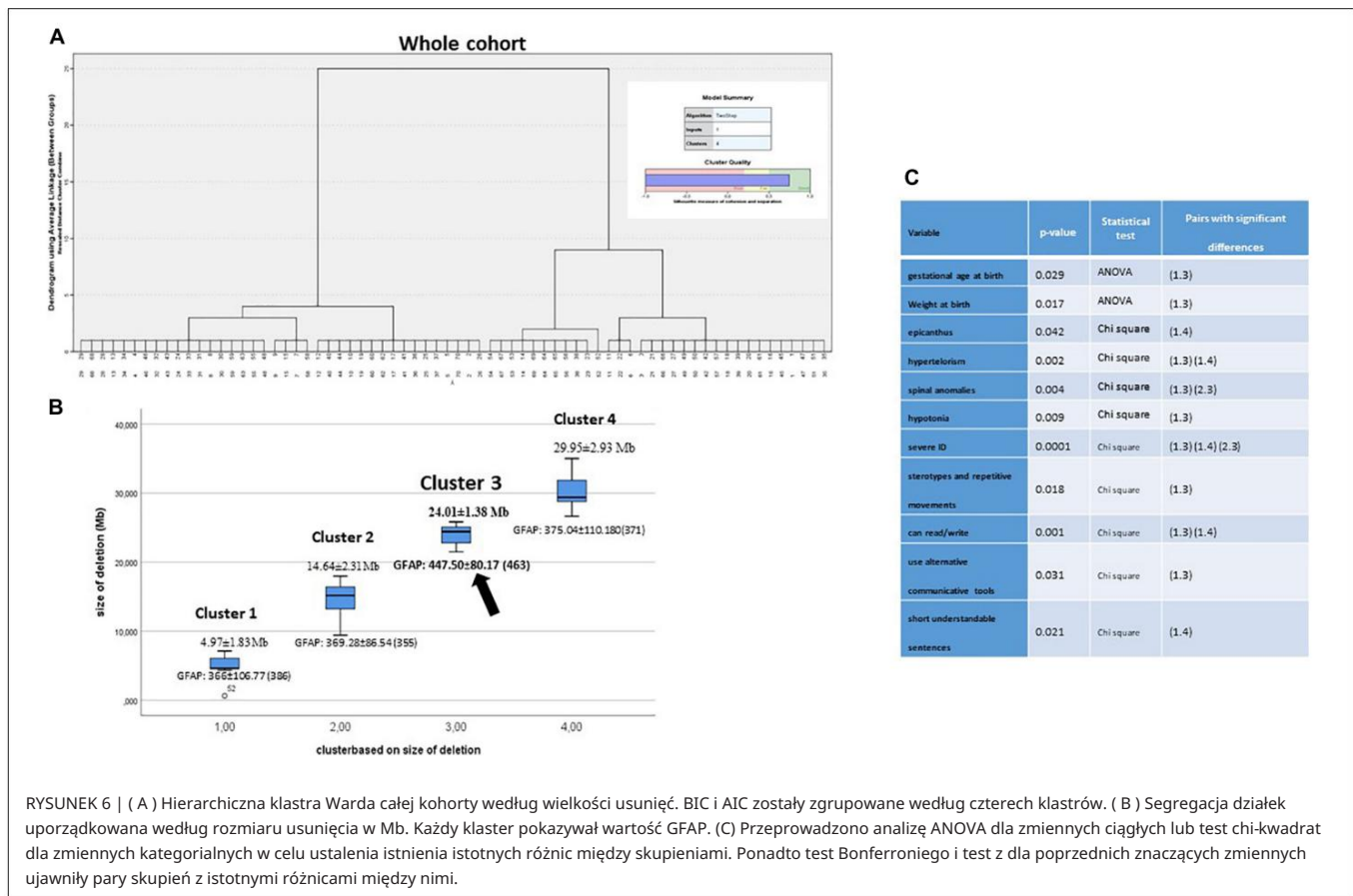
DYSKUSJA

W tej pracy opisujemy największą kohortę hiszpańskich pacjentów z 5p-Sd i jedną z największych jak dotąd serii tych pacjentów, scharakteryzowaną za pomocą CMA i innych podejść genetycznych, takich jak cytogenetyka, MLPA i FISH. Chociaż częstość jej występowania jest wciąż nieznana, oszacowano ją na około 1:15 000–50 000 (Niebuhr, 1978; Higurashi i in., 1990; Cerruti Mainardi i in., 2006). Nasze dane pokazały, że osobniki 5p- mogą mieć wysoką zmienność kliniczną, której towarzyszy również wysoka

heterogeniczność genetyczna. W rzeczywistości osoby z zespołem 5p nie zawsze mają pojedyncze przegrupowanie. W naszej kohorcie około 39% osób wykazało dodatkową klinicznie istotną rearanżację genomu, głównie duplikację w innych chromosomach. W innych przypadkach dodatkowe delecje i duplikacje można zaobserwować w pobliżu głównej delecji 5p (siedem przypadków), prawdopodobnie w wyniku złożonej rearanżacji, jak sugerowano wcześniej (Gu i in., 2013). Te dodatkowe rearanżacje postawiły pytanie, czy dodatkowe rearanżacje genomowe mogą odgrywać rolę w zespole, a zatem mogą wyjaśniać część jego zmienności, czy też osoby z dodatkowymi rearanżacjami należy uznać za mające zespół 5p minus.

Opisaliśmy i porównaliśmy naszą kohortę z innymi wcześniej zgłoszonymi seriami pod względem cech klinicznych. Pewne ograniczenia tego badania wynikają z informacji zaczerpniętych z kwestionariuszy wypełnianych przez rodziców lub opiekunów. To może wyjaśniać część tych różnic między badanymi. Zdecydowanie zalecamy systematyczną kodyfikację cech klinicznych za pomocą systemu HPO.

Sądzymy, że terminy HPO ważone częstością zgrupowane w pięciu głównych cechach jądrowych zespołu pomogą klinicytom opisać pacjentów z 5p-Sd (Tabela 3). Zbudowaliśmy skalę wycen o nazwie GFAP (patrz rozdziały „Materiały i metody” oraz „Wyniki”). Porównaliśmy ten „funkcjonalny” GFAP i jego elementy pośrednie w celu ustalenia



domniemane istotne różnice między obiema subpopulacjami: proste, izolowane delecje 5p i delecje 5p z dodatkowymi rearanżacjami. Jednak nie można było zaobserwować statystycznie istotnych różnic (test t Studenta) między dwiema różnymi subpopulacjami dla zmiennej GFAP, chociaż można było wskazać kilka znaczących różnic wśród innych cech klinicznych. Najbardziej istotne były anomalie serca i opóźnienie mowy oraz obecność dodatkowych rearanżacji.

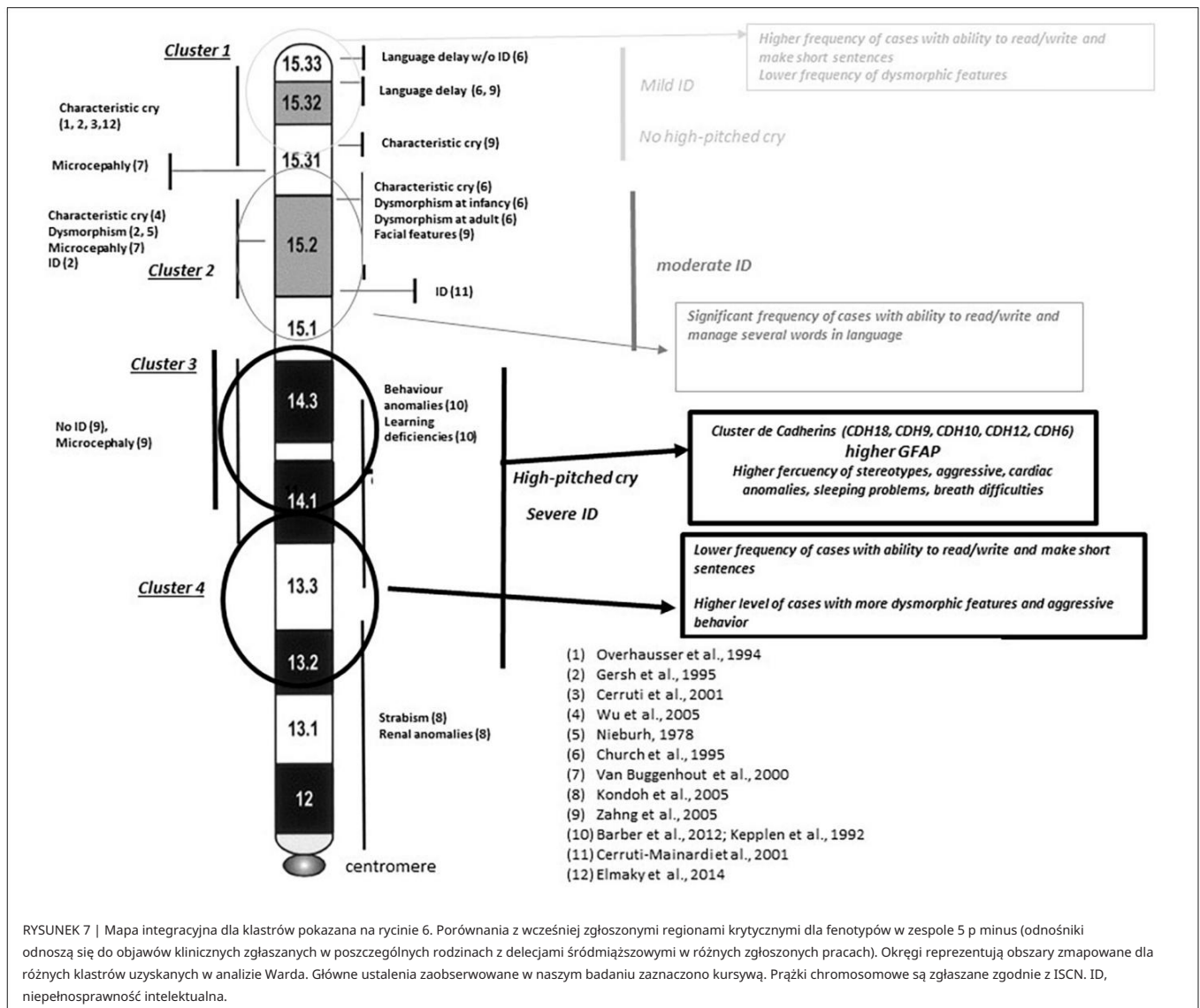
Jeśli chodzi o aspekty behawioralne, istniały znaczące różnice między subpopulacjami pod względem problemów ze snem, zachowania stereotypowego lub agresywnego oraz liczby problemów behawioralnych, które występowały częściej w grupie z dodatkową rearanżacją genomową. Tak więc ten ostatni wykazał lepsze liczby w niektórych elementach poznawczych niż proste delecje 5p. W sumie i na podstawie analizy statystycznej obecność dodatkowych duplikacji nie miała istotnego wpływu na cały fenotyp pacjenta 5p, ale mogła mieć określony udział w niektórych objawach klinicznych, takich jak opóźnienie wzrostu (prenatalne lub postnatalne), jak również jako wady serca.

Korelacje genotyp-fenotyp Niektórzy autorzy stwierdzili wcześniej, że ciężkość fenotypu i opóźnienie poznawcze 5p-Sd były związane ze zwiększonym rozmiarem delecji na chromosomie 5p (Wilkins i in., 1983; Cornish i in., 1999; Cerruti Mainardi i in., 2001).

Jednak fakt ten nie został potwierdzony przez innych (Marinescu

i in., 1999; Espirito Santo i in., 2016). Dlatego ten aspekt jest nadal kontrowersyjny. Użyliśmy naszego „funkcjonalnego” konstrukt GFAP do zweryfikowania tej hipotezy. Nasze dane potwierdziły te korelacje genotypowo-fenotypowe tylko w prostych delecjach. Ponieważ istnieje niewielka liczba publikacji na temat tego zespołu zawierających dane z mikromacierzy, nie można dyskutować, czy ten fakt wystąpił w innych kohortach. Na przykład Cerruti Mainardi i in. (2006) przeanalizowali korelacje genotyp-fenotyp, ale tylko u pacjentów z izolowanymi delecjami końcowymi 5p (151/185 przypadków).

Ponadto, jeśli część ogromnej zmienności fenotypowej obserwowanej wśród osobników 5p nie była związana z rozmiarem delecji, inną możliwość można ustalić na podstawie lokalizacji delecji, ponieważ jest to region chromosomalny z ważną zawartością genów. Nasze dane potwierdziły, że określone regiony na chromosomie 5p mogą odgrywać bardziej znaczącą rolę w zespole niż inne. Nasza analiza klastrow (według wielkości delecji) wykazała, że klastrow 3 był najbardziej odpowiedni spośród par klastrow ze statystycznie istotnymi różnicami, zarówno w całej kohortie, jak i w grupach subpopulacji. W rzeczywistości najgorsze częstotliwości większości pozycji kategorycznych, jak również GFAP i jego półprodukty w skupieniu 3, wydają się potwierdzać tę obserwację. Klastrow 3 zmapowany na 18–25 Mb z telomeru (prążki chromosomalne 5p15.1–5p14.1). Wśród genów mapowanych w tym obszarze znajdował się klastrow kadheryny (CDH), w tym CDH10, CDH9, CDH12, CDH18 i CDH6, silnie związany z tym zespołem. Opisano, że ten klastrow CDH jest



warunkowo haploniewystarczające i zależą od innych czynników genetycznych lub środowiskowych prowadzących do nieprawidłowego fenotypu. Jest to interesujący fakt i może również wyjaśniać część zmienności obserwowanej w 5p-Sd. Inne geny w tym regionie to FBXL7, MARCH11, FAM134B, MYO10, DROSHA, PDZD2, GOLPH3, MTMR12, ZFR, SUB1, NPR3 i TARS. Wszystkie geny mają znaczny poziom haploinsufficiency (patrz tabela uzupełniająca 9). Nie możemy jednak wykluczyć roli innych genów, takich jak CTNND2, TERT i MED10, często usuwanych w 5p-Sd i związanych z rozwojem/funkcją neuronów i śmiercią komórkową. Najmniejszy region nakładający się pacjentów z delecjami śródmiąszowymi wskazywał na dwa potencjalne regiony, jeden mapujący te geny, a drugi w klastrze kadheryny. Potrzebne są dodatkowe przypadki śródmiąszowe i testy funkcjonalne, aby odkryć rolę wszystkich tych genów.

Umiejętności mowy (ocenione tylko u pacjentów w wieku >3 lat) wykazały, że potencjalnie dotknięty region znajduje się blisko telomeru (5p15.33–5p15.31), co potwierdza wcześniejsze ustalenia (Church i in.,

1995; Zhang i in., 2005). Wysokie częstotliwości dla większości wyników behawioralnych wydawały się być związane z klastrami 3 i 4 w analizie klastrow naszego Warda i wspierały wcześniejsze badania ich hipotetycznego mapowania (Barber i in., 2011). Z drugiej strony nasze dane wykazały również pewne rozbieżności z poprzednimi badaniami. W naszym badaniu piskliwy krzyk wydawał się mapować na pasmach p14.3 – p13.2 w porównaniu z pasmami p15.33 – p15.31 (Overhauser i in., 1994; Gersh i in., 1995; Cerruti Mainardi i in., 2001), p15.31 (Zhang i in., 2005), p15.31 – p15.2 (Church i in., 1995) lub p15.2 (Wu i in., 2005) w innych wcześniejszych raportach.

Płeć jako czynnik różnicujący: korelacje zależne od płci
Rodzice, opiekunowie i kilku specjalistów klinicznych nieustannie sugerowało nam podejrzenie domniemych różnic poznawczych i „funkcjonalnych” między pacjentami płci męskiej i żeńskiej. Jest to pierwszy raport pokazujący „funkcjonalne”

TABELA 7 | Porównanie między osobnikami męskimi i żeńskimi 5p-, w odniesieniu do zmiennych kategorycznych i ciągłych pobranych odpowiednio za pomocą testu chi-kwadrat i testu t-Studenta, w (i) całej kohorcie, (ii) prostych delecjach 5p oraz (iii) 5p delecje plus dodatkowe rearanżacje.

(i) Cała kohorta					
Chi-kwadrat					
	Mężczyzna	Kobieta	Wartość	df	sygn. asymptotyczny (dwustronny)
IUGR	3	27	9.42	1	0,002**
Zaburzenia wzrostu poporodowego	7	26	3.838	1	0,050*
Okrągła twarz	6	26	5.318	1	0,021*
Powiększona twarz	12	11	5.794	1	0,016*
Anomalie szyi	1	12	4.583	1	0,032*
Zmiany palców u rąk i nóg	6	25	4.598	1	0,032*
Anomalie kręgosłupa	2	16	5.194	1	0,023*
Skolioza	4	21	5.009	1	0,035*
Powazny identyfikator	5	26	7.058	1	0,008**
Agresywny i samookaleczający się	4	23	6.486	1	0,011*
Problemy ze snem	8	30	5.255	1	0,022*
Potrafi czytać/pisać	7	5	3.911	1	0,048*
Krótkie zrozumiałe zdania	9	7	4.701	1	0,030*
Lagowy identyfikator	5	3	3.598	1	0,058 \$
uczeń T					
	Mężczyzna	Kobieta	Wartość	df	sygn.
Waga przy urodzeniu (g)	2925,91	689,24	2447,28	621,33	0,006**
OFC przy urodzeniu (cm)	33.17	2.27	31.74	2.37	0,021*
GFAP	358,87	73,39	402,94	108,60	0,050*
Wzrost przy urodzeniu (cm)	47.11	3,79	45.31	3,86	0,074 \$
(ii) Proste delecje 5p					
Chi-kwadrat					
	Mężczyzna	Kobieta	Wartość	df	sygn. asymptotyczny (dwustronny)
IUGR	2	12	4.669	1	0,0031**
Nieprowadzenie w rozwoju	3	13	3.716	1	0,054
Zmiany krtani i nagłośni	1	10	5.002	1	0,025*
Powazny identyfikator	3	14	4.605	1	0,032*
Agresywny i samookaleczający się	3	14	4.605	1	0,032*
Problemy ze snem	4	16	4.740	1	0,029*
Anomalie kręgosłupa	1	8	3.318	1	0,069 \$
uczeń T					
	Mężczyzna	Kobieta	Wartość	df	sygn.
GFAP	336,31	61.36	396,37	123.10	0,040*
Pozycja behawioralna jako składnik GFAP	7.73	11.72	22.63	13.77	0,063 \$
(iii) delecje 5p + dodatkowe przegrupowania					
Chi-kwadrat					
	Mężczyzna	Kobieta	Wartość	df	sygn. asymptotyczny (dwustronny)
IUGR	1	12	4.34	1	0,037*
Okrągła twarz	1	12	1,73	1	0,037*
Powiększona twarz	6	4	9.60	1	0,002**

(Nieprzerwany)

TABELA 7 | Nieprzerwany

(iii) delecje 5p + dodatkowe przegrupowania					
Chi-kwadrat					
	Mężczyzna	Kobieta	Wartość	df	sygn. asymptotyczny (dwustronny)
Anomalie okulistyczne	1	12	4,34	1	0,037*
Krótkie zrozumiałe zdania	2	0	5,59	1	0,018*
Problemy słuchowe	5	6	3,68	1	0,055 \$
uczeń T					
	Mężczyzna	Kobieta			sygn.
Waga przy urodzeniu (g)	3314,29	686,24	2469,60	586,85	0,004**
OFC przy urodzeniu (cm)	34,79	1,55	31,44	2,11	0,001**
Rozmiar usunięć	10,25	6,81	21,60	8,69	0,004**

* oznacza znaczącą wartość p 0,05. ** oznacza znaczącą wartość p 0,01. \$ oznacza możliwą tendencję, istotną przy CI 90% (dane nie pokazane).

różnice między samcami i samicami u osobników 5p-Sd. Stwierdziliśmy, że niektóre z analizowanych cech klinicznych wykazały statystycznie istotne różnice między mężczyznami i kobietami, na przykład w zmiennej GFAP. W ten sposób oznaczyliśmy gorsze wyniki funkcjonalne i większe rozmiary delecji u kobiet niż u mężczyzn, stosując analizę skupień Warda. Należy podjąć dodatkowe wysiłki z systematycznymi ocenami poznawczo-behawioralnymi pacjentów, aby przypisać dokładniejsze różnice.

Powód, dla którego stosunek kobiet do mężczyzn wynosi 2: 1, jest nadal nieznan. Jedną z najbardziej istotnych różnic między płciami jest średnia wartość wielkości delecji. Co ciekawe, analiza klastrów Warda pozwoliła nam zaobserwować, w jaki sposób stosunek kobiet do mężczyzn był modulowany przez różne rozmiary delecji w klastrach (tabele 5, 7 i dane uzupełniające). Liczba samców w tych klastrach drastycznie spadła, gdy rozmiar delecji wzrósł powyżej 15 Mb. Fakt ten może sugerować inny, być może śmiertelny efekt delecji powyżej 15 Mb u mężczyzn i może wyjaśniać różnice w stosunku kobiet do mężczyzn w tym zespole. W rzeczywistości poronienia są częste w tym zespole. Nie jest to niezwykle efekt, ponieważ sugerowano, że inne geny w 5p13.1, takie jak RICTOR i DAB2, są haploletalami (Peng i in., 2020) i mogą wyjaśniać, w jaki sposób delecje nie powiększają się o więcej niż 39 Mb od telomer. Nie możemy jednak wykluczyć żadnego innego dodatkowego efektu genetycznego lub epigenetycznego u mężczyzn, wpływającego na pasma chromosomalne 5p15.1 – p13.2. W rzeczywistości sugerowano już nieprawidłową metylację DNA w zespole Cri du chat związaną z warunkami rozwoju (Naumonova i in., 2018).

WNIOSEK

Podsumowując, opisujemy tutaj dużą grupę pacjentów z zespołem 5p minus, podkreślając niektóre korelacje fenotyp-genotyp. Co ciekawe, znaleźliśmy statystycznie istotne różnice „funkcjonalne” między mężczyznami i kobietami. Przeanalizowaliśmy również subpopulację w 5p-Sd w oparciu o obecność/nieobecność istotnych klinicznie dodatkowych rearanżacji, oprócz strat w

ramię 5p. Obecność tych dodatkowych rearanżacji może odgrywać rolę modulującą część fenotypu w zespole.

Na koniec zalecamy połączenie typowego kariotypowania z CMA jako ostateczną metodą precyzyjnej diagnozy 5p Sd, w celu zapewnienia dokładniejszego poradnictwa genetycznego dla tych rodzin.

OŚWIADCZENIE O DOSTĘPNOŚCI DANYCH

Oryginalne artykuły przedstawione w badaniu są publicznie dostępne. Dane te można znaleźć w bazie danych DECIPHER (<https://www.deciphergenomics.org/>) z następującymi numerami dostępu: 436269 do 436336 odpowiadającymi przypadkom 5pIMG01-5pIMG70.

OŚWIADCZENIE ETYCZNE

Badania z udziałem ludzi zostały zweryfikowane i zatwierdzone przez Institutional Review Board Hospital la Paz. Pisemną świadomą zgodę na udział w tym badaniu wyraził opiekun prawny/najbliższy krewny uczestników. Uzyskano pisemną świadomą zgodę od osoby (osób) na publikację wszelkich potencjalnie identyfikowalnych obrazów lub danych zawartych w tym artykule.

AUTORSKIE WKŁADY

JN wpadł na przedstawiony pomysł, zakończył analizę danych i napisał manuskrypt. Badanie zaprojektowali JN i PL. JN koordynował gromadzenie danych i zbierał dane z drugich kwestionariuszy. AS-T stworzył i zarządzał bazą danych Final 5p. PL, AH, CB-L i BS-R pomagały w zarządzaniu danymi i statystykach. CB-L przeanalizował profile przewodzenia i poznawcze pacjentów. JN, PB i MM-Á zarządzali mikromacierzami SNP i CGH w INGEMM. EM, IV i FG-S dostarczyły badania FISH i kariotypowania w INGEMM.

FS-S i PL dostarczyli i zbadali kilku pacjentów w INGEMM. MM-Fr i MM-Fe stworzyły pierwszy kwestionariusz i zarządzały nim

niektóre analizy cytogenetyczne pacjentów. Wszyscy autorzy przyczynili się do powstania artykułu i zatwierdzili przesłaną wersję.

PODZIĘKOWANIE

Chcielibyśmy podziękować wszystkim osobom i rodzinom za udział w tym badaniu, w szczególności Viviana Alonso, Felix Casado, Pilar Castaño, Carolina Nicolás, Esther Pérez, María Joséfa Porras, Margarita Ruether i Sonia Saíz, za

pomagając nam rozwijać ten projekt. Ponadto dziękujemy lokalnym stowarzyszeniom pacjentów 5p-: Adais 5p, Asimaga, Fundación Síndrome 5p- i Planet 5p.

MATERIAŁ UZUPEŁNIAJĄCY

Materiał uzupełniający do tego artykułu można znaleźć w Internecie pod adresem: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2021.645595/full#materiał-uzupełniający>

BIBLIOGRAFIA

- Barber, JC, Huang, S., Bateman, MSY i Collins, AL (2011). Przekazane delecje przyśrodkowego 5p i trudności w nauce; czy klaster kadheryny staje się penetrujący dopiero po usunięciu genów flankujących? *Jestem. J. Med. Genet. Część A 155A*, 2807–2815. doi: 10.1002/ajmg.a.34241
- Cerruti Mainardi, P. (2006). Syndrom płaczu na czacie. *Orphanet J. Rare Dis.* 1:33.
- Cerruti Mainardi, P., Pastore, G., Castronovo, C., Godi, M., Guala, A., Tamiasso, S., et al. (2006). Historia naturalna zespołu Cri du Chat. raport z rejestru włoskiego. *Eur. J. Med. Genet.* 49, 363–383. doi: 10.1016/j.ejmg.2005.12.004
- Cerruti Mainardi, P., Perfumo, C., Cali, A., Coucourde, G., Pastore, G., Cavani, S., et al. (2001). Kliniczna i molekularna charakterystyka 80 pacjentów z delecją 5p: korelacja genotyp-fenotyp. *J. Med. Genet.* 38, 151–158. doi: 10.1136/jmg.38.3.151
- Cehimi, SN, Zanardo, VA, Ceroni, JRM, Nascimento, AM, Madia, FAR, Dias, AT i in. (2020). Wyznaczenie punktu przerwania u pacjentów z 5p prowadzi do nowych spostrzeżeń na temat małowłgia i typowego wysokiego krzyku. *Mol. Genet. Genom Med.* 8:e957. doi: 10.1002/mgg3.957
- Church, DM, Bengtsson, U., Nielsen, KV, Wasmuth, JJ i Niebuhr, E. (1995). Molekularna definicja delecji różnych segmentów dystalnego 5p, które skutkują odrębnymi cechami fenotypowymi. *J. Hum. Genet.* 56, 1162–1172.
- Cornish, K., Bramble, K., Munir, FY i Pigram, J. (1999). Funkcjonowanie poznawcze dzieci z typowym zespołem cri du chat (5p-). *Dev. Med. Dziecko Neurol.* 41, 263–266. doi: 10.1017/s0012162299000559
- Correa, T., Feltes, BC i Riegel, M. (2019). Zintegrowana analiza regionu krytycznego 5p15.3-p15.2 związanego z zespołem cri-du-chat. *Genet. Mol. Biol.* 42, 186–196. doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2018-0173
- Elmakky, A., Carli, D., Lugli, L., Torelli, P., Guidi, B., Falcinelli, C., et al. (2014). Trzypokoleniowa rodzina z terminalną mikrodelecją obejmującą 5p15.33-32 z powodu translokacji chromosomalnej całego ramienia 5:15 ze stałym fenotypem atypowego zespołu cri du chat. *Eur. J. Med. Genet.* 57, 145–150. doi: 10.1016/j.ejmg.2014.02.005
- Espirito Santo, LD, Moreira, LM i Riegel, M. (2016). Zespół Cri-Du-Chat: profil kliniczny i analiza mikromacierzy chromosomowych u sześciu pacjentów. *BioMed Res. Int.* 5467083.
- Gersh, M., Goodart, SA, Pasztor, LM, Harris, DJ, Weiss, L. i Overhauser, J. (1995). Dowody na istnienie odrębnego regionu powodującego koci płacz u pacjentów z delecjami 5p. *J. Hum. Genet.* 56, 1404-1410.
- Gu, H., Jiang, JH, Li, JY, Zhang, YN, Dong, XS, Huang, YY i in. (2013). Rodzinny zespół delecji cri-du-chat/5p wynikał z rzadkich matczyńskich złożonych rearanżacji chromosomów (ccrs) i/lub możliwej chromothripsis chromosomu 5p. *PLoS One* 8:e76985. doi: 10.1371/journal.pone.0076985
- Higurashi M., Oda M., Iijima K., Iijima S., Takeshita T., Watanabe N. i in. (1990). Częstość żywych urodzeń i obserwacja zespołów wad rozwojowych. *Mózg Dev.* 12, 770–773. doi: 10.1016/s0387-7604(12)80004-0
- Honjo, RS, Mello, CB, Pimenta, LSE, Nuñez-Vaca, EC, Benedetto, LM, Khoury, R., et al. (2018). Zespół Cri du Chat: charakterystyka 73 brazylijskich pacjentów. *J. Intelekt. niepełnosprawny Rez.* 62, 467–473. doi: 10.1111/jir.12476
- Kent, WJ, Sugnet, CW, Furey, TS, Roskin, KM, Pringle, TH, Zahler, AM i in. (2002). Przeglądarka ludzkiego genomu na UCSC. *Genom Res.* 12, 996–1006. doi: 10.1101/gr.229102.
- Kondo, T., Shimokawa, O., Harada, N., Doi, T., Yun, C., Gohda, Y., et al. (2005). Korelacja genotyp-fenotyp zespołu 5p: pułapka diagnozy. *J. Hum. Genet.* 50, 26–29. doi: 10.1007/s10038-004-0213-9
- Ma, T., Chan, K., Kan, A., Tang, M. i Leung, KY (2019). Diagnostyka prenatalna zespołu delecji 5p: opis pięciu przypadków. *J. Obstet. Ginekol. Rez.* 45, 923–926. doi: 10.1111/jog.13911
- Marinescu, RC, Cerruti, P., Collins, MR, Kouahou, M., Coucourde, G., Pastore, G., et al. (2000). Wykresy wzrostu dla zespołu cri-du-chat: międzynarodowe wspólne badanie. *J. Med. Genet.* 94, 153–162. doi: 10.1002/1096-8628(200009)94:2<153::aid-ajmg8>3.0.co;2-#
- Marinescu, RC, Johnson, EI, Dykens, EM, Hodapp, RMY i Overhauser, J. (1999). Brak związku między wielkością delecji a poziomem opóźnienia rozwojowego w zespole cri-du-chat. *J. Med. Genet.* 86, 66–70. doi: 10.1002/(sici)1096-8628(199909)86:1<66::aid-ajmg13>3.0.co;2-n
- Naumonova, OY, Rychkov, SY, Kuznetsova, TV, Odintsova, VV, Kornilov, SA i Grigorenko, EL (2018). Zmiany metylacji DNA w genomie malucha z zespołem cri-du-chat. *Clin. Rep. Sprawa* 6, 14-17. doi: 10.1002/ccr3.1274
- Nguyen, J., Qualmann, K., Okashah, R., Reilly, A., Alexeyev, M. i Campbell, D. (2015). Delecja 5p: obecna wiedza i przyszłe kierunki. *J. Med. Genet. Część C, sem. Med. Genet.* 169, 224–238. doi: 10.1002/ajmg.c.31444
- Niebuhr, E. (1978). Syndrom cri du chat. epidemiologia, cytogenetyka i cechy kliniczne. *Szum. Genet.* 44, 227–275. doi: 10.1007/bf00394291
- Overhauser, J., Huang, X., Gersh, M., Wilson, W., McMahon, J., Bengtsson, U., et al. (1994). Mapowanie molekularne i fenotypowe krótkiego ramienia chromosomu 5: sublokalizacja regionu krytycznego dla zespołu cri-du-chat. *Szum. Mol. Genet.* 3, 247–252. doi: 10.1093/hmg/3.2.247
- Peng, Y., Pang, J., Hu, J., Jia, Z., Xi, H., Ma, N. i in. (2020). Kliniczna i molekularna charakterystyka 12 prenatalnych przypadków zespołu Cri-du-chat. *Mol. Genet. Genom Med.* 8:e1312.
- Rodrigues de Medeiros, JB (2017). Opis przypadków: zespół Cri-du-chat. *Praca magisterska, Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia. Faculdade de Odontologia.*
- Rodríguez-Caballero, A., Torres-Lagares, D., Yáñez-Vico, RM, Gutiérrez-Pérez, JLG i Machuca-Portillo, G. (2012). Ocena cech twarzoczaszki i patologii jamy ustnej związanych z zespołem cri-du-chat. *Zaburzenia jamy ustnej.* 18, 191–197. doi: 10.1111/j.1601-0825.2011.01864.x
- Simmons, AD, Goodart, SA, Gallardo, TD, Overhauser, J. i Lovett, M. (1995). Pięć nowych genów z regionu krytycznego cri-du-chat wyizolowanych przez bezpośrednią selekcję. *Szum. Mol. Genet.* 4, 295–302. doi: 10.1093/hmg/4.2.295
- Su, J., Fu, H., Xie, B., Lu, W., Li, W., Wei, Y., et al. (2019). Diagnostyka prenatalna zespołu cri-du-chat za pomocą tablicy SNP: opis dwunastu przypadków i przegląd literatury. *Mol. Cytogenet.* 12:49.
- Van Buggenhout, GJ, Pijkels, E., Holvoet, M., Schaap, C., Hamel, BC i Fryns, JP (2000). Zespół Cri du Chat: zmiana fenotypu u starszych pacjentów. *J. Med. Genet.* 90, 203–215. doi: 10.1002/(sici)1096-8628(200001)90:3<203::poc-ajmg5>3.0.co;2-a

Wilkins, LE, Brown, JA, Nance, MY i Wilk, B. (1983). Heterogeniczność kliniczna u 80 dzieci wychowywanych w domu z zespołem cri-du-chat. *J. Pediatr.* 102, 528-533. doi: 10.1016/s0022-3476(83)80179-6 Q. Wu, E. Niebuhr, H. Yang i L. Hansen (2005). Określenie „krytycznego regionu” dla kociego krzyku zespołu Cri-du-chat i analiza genów kandydujących za pomocą ilościowego PCR. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* 13, 475-485. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201345

Zhang, A., Snijders, A., Segreaves, R., Zhang, X., Niebuhr, A., Albertson, D., et al. (2005). Mapowanie w wysokiej rozdzielczości relacji genotyp-fenotyp w zespole cri du chat przy użyciu porównawczej hybrydyzacji genomowej macierzy. *Jestem. J. Hum. Genet.* 76, 312-326. doi: 10.1086/427762

Konflikt interesów: Autorzy oświadczają, że badanie zostało przeprowadzone w brak jakichkolwiek powiązań handlowych lub finansowych, które mogłyby być interpretowane jako potencjalny konflikt interesów.

Uwaga wydawcy: Wszystkie roszczenia wyrażone w tym artykule są wyłącznie roszczeniami autorów i niekoniecznie odzwierciedlają roszczenia ich stowarzyszonych organizacji lub wydawcy, redaktorów i recenzentów. Żaden produkt, który może zostać oceniony w tym artykule lub oświadczenie, które może zostać złożone przez jego producenta, nie jest objęte gwarancją ani aprobatą wydawcy.

Copyright © 2021 Nevado, Bel-Fenellós, Sandoval-Talamantes, Hernández, Biencinto-López, Martínez-Fernández, Barrúz, Santos-Simarro, Mori-Álvarez, Mansilla, García-Santiago, Valcorba, Sáenz-Rico, Martínez-Frías i Lapunzina .
To jest artykuł o otwartym dostępie rozpowszechniany na warunkach licencji Creative Commons Uznanie autorstwa (CC BY). Wykorzystywanie, dystrybucja lub powielanie na innych forach jest dozwolone pod warunkiem, że wymienieni zostaną pierwotni autorzy i właściciele praw autorskich oraz że oryginalna publikacja w tym czasopiśmie jest cytowana, zgodnie z przyjętą praktyką akademicką. Żadne użycie, dystrybucja ani powielanie nie jest zgodne z tymi warunkami.