

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Tereza Rašplíčková**

**Význam parentálního původu postiženého chromozomu při vzniku mikrolečních syndromů**

**The significance of the parental origin of the affected chromosome in the development of microdeletion syndromes**

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce: Mgr. Roman Šolc

Praha, 2014

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 7. 5. 2014

Podpis:

Tímto bych chtěla poděkovat svému školiteli Mgr. Romanu Šolcovi za trpělivost, ochotu, cenné rady a připomínky při tvorbě této práce. Velký dík patří celé mé rodině, zvláště tátovi, za jejich velkou podporu a inspiraci.

## **Abstrakt**

Mikrodeleční syndromy jsou komplexní onemocnění, způsobená ztrátou genetické informace v důsledku kryptických delecí menších než 5 Mb. Jsou příčinou velkého množství fenotypových znaků, mezi nejčastější patří vývojové a mentální retardace, nejrůznější tělesné vady a abnormality či poruchy chování. Bylo dokázáno, že v jistých případech hraje parentální původ postiženého chromozomu roli při vzniku mikrodelečních syndromů. Při vzniku Angelmanova, Prader-Williho a Beckwith-Wiedemannova syndromu výrazně zasahuje genový imprinting, který zapříčiňuje nerovnoměrné postižení chromozomů. Důvody výrazné převahy postižení jednoho z paternálně zděděných chromozomů u syndromu Cri du chat, monosomie 1p36 a Phelan-McDermidova syndromu jsou odlišné a vliv genového imprintingu u těchto syndromů nebyl potvrzen.

**Klíčová slova:** mikrodelece, mikrodeleční syndromy, metylace, genový imprinting

## **Abstract**

Microdeletion syndromes are complex diseases caused by loss of genetic information resulting from cryptic deletions which are smaller than 5 Mb. They cause a large number of phenotypic features. Most common are developmental and mental retardations, various physical defects and abnormalities or behavior problems. It has been shown, that in some cases plays a role parental origin of affected chromosome in microdeletion syndrome. In Angelman, Prader-Willi and Beckwith-Wiedemann syndromes is unequal disability of chromosomes caused by genomic imprinting. The reasons for dominance disability of one parental chromosome in Cri du chat syndrome, monosomy 1p36 and Phelan-McDermid syndrome are different and the effect of genomic imprinting has not been confirmed.

**Key words:** microdeletion, microdeletion syndromes, methylation, genomic imprinting

## Seznam použitých zkratk

CNV	copy number variants, počet opakování variant
aCGH	array Comparative Genomic Hybridization , čipová komparativní genomová hybridizace
AS	Angelmanův syndrom
BWS	Beckwith-Wiedemannův syndrom
BZ	bod zlomu
CdCS	syndrom Cri du chat
CGS	contiguous gene syndrome, syndrom přilehlých genů
CNP	copy number polymorphism, počet opakování polymorfismů
CNS	centrální nervová soustava
CpG	cytosin-fosfát-guanin dinukleotidy
DMR	differentially methylated regions, rozdílně metylované regiony
DNMT	DNA methyltransferase , DNA metyltransferáza
FISH	fluorescence <i>in situ</i> hybridization, fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace
IC	imprinting center, centrum imprintingu
ICR	imprinting control regions , regiony kontrolované imprintingem
LINE	long interspersed nuclear elements , dlouhé vmezežené elementy
LOI	loss of imprinting, ztráta imprintingu
m <sup>5</sup> C	5-metylcytosin
MEI	mobile element insertions, mobilní elementy
MLPA	multiplex ligation-dependent probe amplification
MS	mikrodeleční syndrom
mUDP	maternální uniparentální disomie
NAHR	non-allelic homologous recombination, nealelická homologní rekombinace
NHEJ	non-homologous end-joining , nehomologní spojování konců
PcG	polycomb proteiny
PMS	Phelan-McDermidův syndrom
pUDP	paternální uniparentální disomie

PWS	Prader-Williho syndrom
qPCR	quantitative polymerase chain reaction, kvantitativní polymerázová řetězová reakce
SD	segmentární duplikace
SINE	short interspersed nuclear elements, krátké vmezeřené elementy
SNP	single nukleotid polymorfism, jednonukleotidový polymorfismus
TF	transkripční faktor
UDP	uniparentální disomie

## Slovník použitých lékařských pojmů

ataxie	neschopnost koordinace pohybů
dermatoglyfy	uspořádání papilárních linií na dlaních a prstech
epikantus	kožní řasa překrývající část vnitřního očního koutku
hemihypertrofie	nárůst části orgánu na jedné straně těla či obličeje, bez nádorového bujení
hyperfágie	obžerství, přejídání
hyperglykémie	abnormálně vysoká hladina glukosy v krvi
hypertelorismus	neobvykle velká vzdálenost mezi párovými orgány
hypogenitalismus	částečné či úplné selhání zrání pohlavních orgánů
hypogonadismus	nedostatečná funkčnost gonád
hypotonie	zmenšení či ztráta svalového tonu
klinodaktylie	deformace prstu či prstů
kryptorchismus	nesestouplá varlata
makroglosie	zvětšení jazyka
makrosomie	abnormálně velké tělo
mikrocefalie	malá velikost hlavy
mikrognacie	malé čelisti, zejména dolní čelist
neoplázie	proces vedoucí k tvorbě a růstu nádorů
ptóza	klesání částí těla či orgánů
syndaktylie	srůst prstů zahrnující i srůst kostí

# Obsah

Úvod .....	1
<b>1. Mikrodeleční syndromy .....</b>	<b>2</b>
1.1. Chromozomové přestavby .....	2
1.2. Delece .....	2
1.3. Mikrodelece .....	4
1.4. Mikrodeleční syndromy .....	4
1.4.1. Detekce mikrodelecí .....	5
<b>2. Genový imprinting .....</b>	<b>6</b>
2.1. Epigenetické modifikace .....	6
2.2. Metylace DNA .....	7
2.2.1. DNA metyltransferázy .....	8
2.2.2. Mechanismy represe transkripce .....	9
2.3. Genový imprinting .....	9
2.3.1. Cyklus imprintingových metylačních vzorů .....	10
2.3.2. Mechanismy imprintingu .....	11
<b>3. Syndromy vázané na parentální původ postiženého chromozomu .....</b>	<b>12</b>
3.1. Prader-Williho syndrom .....	12
3.1.1. Klinické znaky a diagnostika .....	12
3.1.2. Genetické pozadí .....	13
3.1.3. Léčba .....	15
3.2. Angelmanův syndrom .....	15
3.2.1. Klinické znaky a diagnostika .....	15
3.2.2. Genetické pozadí .....	15
3.2.3. Léčba .....	17
3.3. Beckwith-Wiedemannův syndrom .....	17
3.3.1. Klinické znaky a diagnostika .....	17
3.3.2. Genetické pozadí .....	18
3.3.3. Léčba .....	19
<b>4. Syndromy s nerovnoměrným parentálně-chromozomovým původem .....</b>	<b>19</b>
4.1. Monosomie 1p36 .....	19



4.1.1.	Klinické znaky a diagnostika .....	19
4.1.2.	Genetické pozadí.....	20
4.2.	Syndrom Cri du chat.....	21
4.2.1.	Klinické znaky a diagnostika .....	21
4.2.2.	Genetické pozadí.....	21
4.3.	Phelan-McDermidův syndrom.....	22
4.3.1.	Klinické znaky a diagnostika .....	22
4.3.2.	Genetické pozadí.....	23
<b>Závěr</b>	.....	<b>24</b>
<b>Seznam literatury</b>	.....	<b>25</b>
<b>Seznam webových zdrojů</b>	.....	<b>35</b>

## Úvod

Chromozomové přestavby, mezi které se řadí i mikrolece, jsou zodpovědné za 25 % spontánních potratů a porození mrtvých plodů (Shaffer and Lupski, 2000). Kryptické delece neboli mikrolece způsobují vznik variabilních fenotypových znaků, a tudíž i klinicky rozpoznatelných syndromů. Nejen na tyto znaky mají v některých případech zásadní vliv epigenetické modifikace. Tedy modifikace, které jsou dědičné, a regulují projev genu bez změny v sekvenci DNA. Jednou z nejlépe prostudovaných epigenetických modifikací je metylace DNA, uplatňující se v zásadních buněčných procesech včetně fenoménu genového imprintingu. Genový imprinting způsobuje tzv. monoalelickou expresi, kdy se plně projeví pouze jedna alela genu a druhá je umlčená. Dnes je identifikováno přes 300 lidských imprintovaných genů (Catalogue of parent of origin effects). Mutace některých z nich se významně podílí na vzniku konkrétních onemocnění.

Většina mikrolečnických syndromů vzniká v důsledku mikrolecí, ke kterým dochází ve stejné míře na paternálně a maternálně zděděném chromozomu. Některé mikrolečnické syndromy jsou ovšem pevně spjaty s mikrolecí lokalizovanou právě a pouze na maternálně nebo právě a pouze na paternálně zděděném chromozomu. Takováto situace nastává, pokud k mikroleci dochází v regionu s vysokou koncentrací genů podléhajících genovému imprintingu. Kromě toho existují ještě syndromy, jejichž vznik není závislý na parentálním původu postiženého chromozomu, ovšem míra četnosti mikrolecí mezi paternálně a maternálně zděděnými chromozomy je prokazatelně nerovnoměrná.

Tato práce si klade za cíl podrobněji analyzovat mechanismy genového imprintingu, úlohu genového imprintingu při vzniku vybraných mikrolečnických syndromů a příčiny nerovnoměrného výskytu kauzálních mikrolecí mezi paternálně a maternálně zděděnými chromozomy u vybraných mikrolečnických syndromů

# 1. Mikrodeleční syndromy

## 1.1. Chromozomové přestavby

Chromozomové přestavby jsou mutantní změny postihující genom. Mohou způsobit narušení genu, změnu počtu jeho kopií a genomovou nestabilitu vedoucí k patologickým stavům. Patří mezi ně duplikace, delece, inserce, translokace apod. (Lupski, 1998). V roce 2000 byly chromozomové přestavby detekovány u 0,6 % všech novorozenců. Měly za následek 25% spontánních potratů a porozených mrtvých plodů, z toho k 50 – 60 % došlo v prvním trimestru těhotenství (Shaffer and Lupski, 2000). Distribuce delecí, duplikací a insercí společně označovaných jako *copy number variants (CNV)* nebo *copy number polymorphisms (CNP)*, je napříč populacemi utvářena mutacemi, přírodním výběrem a demografickými faktory (Redon et al., 2006), a je hlavním zdrojem lidské genetické variability a genomové diverzity (Zhang et al., 2009). Nestabilita a z ní vyplývající mutabilita lidského genomu byla umocněna přítomností opakujících se sekvencí jako *low copy repeats (LCR)*, segmentárních duplikací (*SD*), krátkých vmezeřených elementů (*SINE-short interspersed nuclear elements*) a dlouhých vmezeřených elementů (*LINE-long interspersed nuclear elements*) (Carvalho et al., 2010).

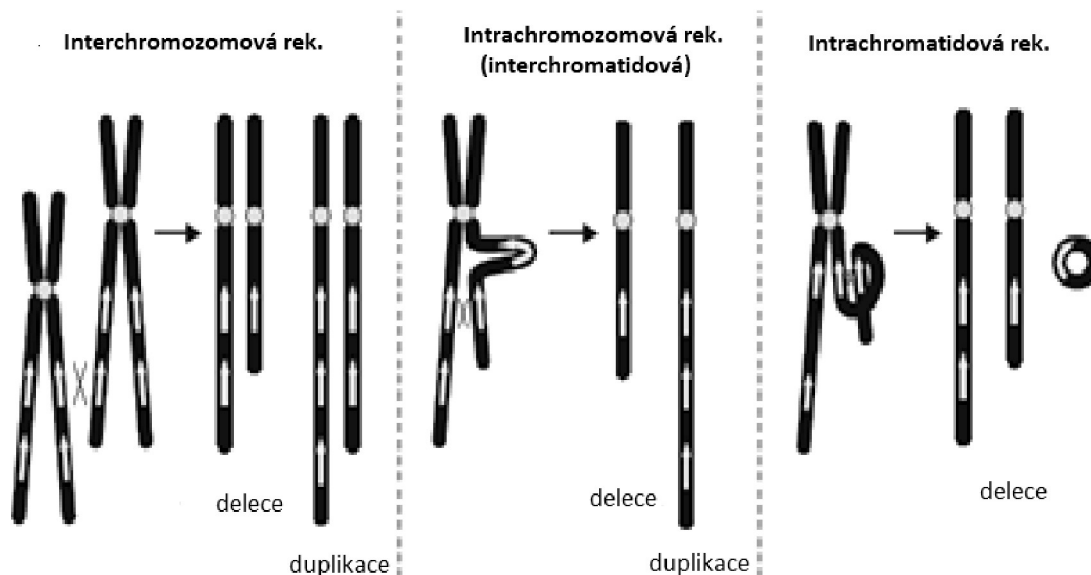
Korelace mezi přestavbami a klinickou manifestací dovolila rozvoj nových diagnostických postupů poskytujících informace k prognóze onemocnění. Bylo navrženo několik hlavních mechanismů chromozomových přestaveb: nealelická homologní rekombinace (*NAHR*), nehomologní spojování konců (*NHEJ*) a replikační mechanismy. Dále zde hrají roli dlouhé vmezeřené elementy (*LINE*) zprostředkované insercí retrotranspozičních nebo mobilních elementů (*MEI*) (Liu et al., 2012).

## 1.2. Delece

Delece je jednou z nebalancovaných strukturních přestaveb chromozomu, tedy přestaveb, které vedou ke ztrátě určité části chromozomu a které tvoří 3% chromozomových abnormalit (Shaffer and Lupski, 2000). Prvními objevenými delecemi u člověka byla delece v distální části krátkého raménka pátého chromozomu (5p), spojovaná se syndromem Cri du chat, a delece v distální části krátkého raménka na čtvrtém chromozomu (4p), která byla později spojena s Wolf-Hirshornovým syndromem. Delece se mohou vyskytovat kdekoli v genomu, ovšem jisté oblasti jsou více náchylné k delecím než jiné (Brewer et al., 1998). Naopak v některých oblastech nebyly delece nikdy pozorovány, což může být způsobeno tím, že tyto

oblasti pravděpodobně obsahují senzitivní geny, u kterých by delece byla letální (Shaffer and Lupski, 2000).

Mezi mechanismy vzniku delecí se řadí zlomy indukované zevními mutageny (chemická činidla, UV záření), chyby při replikaci, abnormální segregace chromozomů s balancovanou přestavbou a zvláště nealeická homologní rekombinace (NAHR) v oblastech LCR (Lupski and Stankiewicz, 2005). LCR (*low copy repeats*), též nazývané jako segmentální duplikace, jsou region-specifické oblasti DNA mající obvykle od 10 do 40 000 kb, jež jsou z více jak 97 % identické. Mohou obsahovat geny, genové fragmenty nebo endogenní retrovirové sekvence (Stankiewicz and Lupski, 2002). Tři mechanismy vzniku delecí následkem NAHR ilustruje obr. 1 – jedná se o interchromozomální, intrachromozomální a intrachromatidovou rekombinaci.



Obr. 1: NAHR jako mechanismus vzniku delecí a duplikací; rekombinace (rek.) (Přeloženo a převzato z Liu et.al. 2012)

Delece rozlišujeme na terminální a intersticiální. Terminální delece jsou výsledkem jednoho zlomu na konci chromozomu a následné ztráty koncového segmentu. Intersticiální delece jsou způsobeny dvěma zlomy a ztrátou segmentu uvnitř raménka a následným spojením zbývajících částí chromozomu. Je nutné podotknout, že pacienti s onemocněními způsobenými intersticiálními delecemi, do jisté míry sdílí lokalizaci i velikost delece. Důkazem může být například DiGeorgův (velocardiofaciální) syndrom, u kterého má více jak 90% pacientů shodnou deleci o velikosti 3Mb (Carlson et al., 1997). Klinické příznaky onemocnění často korelují s rozsahem chybějícího segmentu (Shaffer and Lupski, 2000).

Pokud delece zahrnuje významnou část chromozomu, můžeme hovořit o parciální monozomii. Tedy o stavu, kdy je přítomna pouze jedna kopie příslušné části chromozomu, zatímco ostatní části chromozomu jsou přítomné ve dvou kopiích.

K detekci delecí a obecně chromozomálních přestaveb se od 60. let dvacátého století používá technika pruhování chromozomů. Pruhování je založeno na synchronizaci a inhibici dělení buněk, přidáním mitotického inhibitoru, a následné obarvení chromozomů, což umožní vizualizaci a diferenciaci homologů na základě jejich morfologie. V současné době je nejpoužívanějším typem k detekci chromozomálních aberací G-pruhování, při němž jsou chromozomy částečně natráveny trypsinem a obarveny Giemsou, která vytvoří typické pruhy a vizualizuje tak většinu transkripčně aktivního chromatinu - euchromatinu. Tyto klasické metody jsou ale limitovány rozlišením světelného mikroskopu a nejsou schopny detekovat změny menší než 5Mb (Vissers et al., 2003).

### **1.3. Mikrodelece**

Na počátku osmdesátých let dvacátého století zkombinovala klinická cytogenetika metody cytogenetické a metody molekulární biologie, čímž umožnila identifikaci malých delecí, menších než 5 Mb, též označovaných jako kryptické přestavby (Schinzel, 1988). Mikrodelece jsou tedy kryptické delece o velikosti menší než 5Mb, které můžeme identifikovat pouze technikami s vysokým rozlišením. Často indukující vznik klinicky rozpoznatelných syndromů. První patologické mikrodelece byly objeveny díky sérii pacientů vykazujících stejné klinické znaky. Počet genů, které se nacházejí v deletované oblasti, může přímo korelovat s fenotypovým projevem prostřednictvím klinických příznaků (Shaffer and Lupski, 2000).

### **1.4. Mikrodeleční syndromy**

Mikrodeleční syndromy (MS) jsou syndromy, způsobené ztrátou genetické informace v důsledku kryptických delecí, zahrnující velkou skupinu onemocnění s klinicky rozpoznatelnými příznaky. Velká část delecí má pro každý syndrom uniformní velikost, což naznačuje, že některé regiony chromozomu mohou mít predispozice pro ztrátu malých fragmentů (Devriendt and Vermeesch, 2004). Navzdory uniformní velikosti většiny delecí konkrétního MS jsou jejich klinické rysy různorodé, komplexní a s velkým rozsahem fenotypové manifestace, což můžeme vysvětlit delecí jednoho kauzálního genu způsobující haploinsuficienci, kdy se ztratí jedna alela genu a zbývající funkční alela není schopna

dostatečně vytvářet produkt pro zajištění normální funkce. Další možností je vznik delecí zahrnujících více genů v těsné blízkosti, které ovlivňují fenotyp nezávisle na sobě. V roce 1968 popsal tyto delece R. Schmickel a nazval onemocnění z nich vyplývající jako syndromy přilehlých genů (*contiguous gene syndromes, CGS*) (Theisen and Shaffer, 2010).

Vliv na fenotypovou variabilitu syndromů mají i enviromentální faktory a epigenetické modifikace, jako jsou metylace DNA a remodelace chromatinu (Birney et al., 2007).

#### 1.4.1. Detekce mikrodelecí

Detekce mikrodelecí, vedoucích mnohdy ke vzniku závažných onemocnění, vyžaduje speciální metody molekulární cytogenetiky, mezi něž patří genomové čipy tzv. *arrays*, *fluorescenční in situ hybridizace (FISH)*, *kvantitativní řetězová polymerázová reakce (qPCR)* a *MLPA (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification)*.

*Array Comparative Genomic Hybridization (aCGH)* je metoda, která kvantitativně měří počet submikroskopických změn DNA, mapuje jejich sekvenci v genomu (Solinas-Toldo et al., 1997) a je schopna vyšetřit najednou tisíce genomových lokusů (Vissers et al., 2003). Je založená na principech komparativní genomové hybridizace, kdy jsou pomocí odlišných flouorchromů označeny testovaná DNA (zeleně) a normální kontrolní DNA (červeně). Ty společně hybridizují s normálními metafázickými chromozomy v případě klasické CGH. U čipových CGH metod jsou chromozomy nahrazeny imobilizovanými fragmenty DNA umístěné na mikročipu, což výrazně zvyšuje rozlišovací schopnost metody (Solinas-Toldo et al., 1997). Výsledky se porovnávají pomocí počítače. Pokud je na výstupu lokusu zvýšený poměr zelené barvy, je sekvence amplifikována nebo duplikována. Pokud převažuje barva červená, jedná se o delecí nebo jakoukoli chromozomální ztrátu. Žlutá barva značí nepřítomnost CNVs. (Kallioniemi et al., 1992).

Při *Single Nukleotid Polymorphisms (SNP) array* je označena a hybridizována na komerční čipy (Bernardini et al., 2009) pouze testovaná DNA, která je porovnávána se známými vzorky DNA (Manning and Hudgins, 2010). Oproti *aCGH* je *SNP array* limitována distribucí jednonukleotidových polymorfismů (*SNP*) v genomu, ale poskytuje navíc informaci o ztrátě heterozygoty (Schaaf et al., 2011).

*Fluorescenční in situ hybridizace (FISH)* má široké využití od identifikace chromozomů, detekce chromozomálních abnormalit až k lokalizaci sekvencí na chromozomech (Trask, 1991). Pracuje s fluorescenčně značenými sondami, které jsou komplementární ke zvolené

vyšetřované sekvenci, naváží se na ni a tím ji zviditelní. Tuto specifickou sekvenci DNA či RNA lze pozorovat pomocí fluorescenčního mikroskopu. FISH poskytuje analýzu specifických cílových míst, ale neumožňuje kompletní analýzu genomu (Halder et al., 2013).

*Kvantitativní polymerázová řetězová reakce (qPCR)* je variantou klasické metody PCR, kdy pomocí jednořetězových úseků DNA – primerů amplifikujeme specifickou vybranou sekvenci DNA, přičemž její vstupní množství může být extrémně malé. Exponenciálně se zvyšuje množství vybraného fragmentu jako výsledek opakování cyklů zahrnující denuraci templátu, nasednutí primerů a následnou syntézu nového řetězce pomocí DNA polymerázy (White et al., 1989). Kvantitativní PCR využívá jak nespecifická fluorescenční barviva, tak sekvencně specifické sondy s napojeným fluorescenčním reportérem, které hybridizují s vybranou DNA sekvencí a generují signál jako reakci na amplifikaci sekvence (Gelmini et al., 1997). Monitorováním emitování takto vzniklé fluorescence můžeme sledovat genovou expresi v reálném čase. Nyní se qPCR již běžně používá k detekování CNVs (Weksberg et al., 2005a).

*MLPA (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification)* je metoda odvozená rovněž od PCR, přičemž množství oligonukleotidových sond hybridizuje se specifickou sekvencí nukleové kyseliny. Umožní nám najednou vyšetřovat až padesát sekvencí. Každá sonda se skládá ze dvou oligonukleotidových sekvencí, krátké a dlouhé. Krátká oligonukleotidová sekvence obsahuje specifickou targetovou (cílovou) sekvenci. Dlouhá oligonukleotidová sekvence, odvozená od fága M13, obsahuje kromě specifické targetovací sekvence i sekvenci o variabilní délce. Sekvence se zligují po hybridizování s cílovou sekvencí a jsou zdrojem signálu. Porovnáním vrcholů signálů hybridizačních sond, lze indikovat sekvence s nenormálním počtem kopií (Schouten et al., 2002).

## **2. Genový imprinting**

### **2.1. Epigenetické modifikace**

Jako první použil slovo *epigenetika* v roce 1942 Conrad Waddington při studiu octomilky (*Drosophila Melanogaster*) a to pro vztah mezi genotypem a fenotypem. Waddington usuzoval na základě existence genů, které řídí a regulují vznik částí těla octomilky, že z genotypu vzniká postupnými programovanými změnami fenotyp (Waddington, 1942) Dnes

je epigenetika chápána jako dědičné změny v genové expresi, které nejsou způsobeny změnou v sekvenci DNA (Rodenhiser and Mann, 2006). Epigenetické modifikace tedy regulují interpretaci genetické informace jak prostřednictvím proteinů – metyltransferáz, histon-deacetyláz a proteinů asociovaných s heterochromatinem, tak proteinových komplexů – skupiny *polycomb* proteinů (*PcG*) (Rivera and Bennett, 2010). Protože jsou tyto modifikace dědičné, mohou být stabilně předávány na další generace buněk. Tyto modifikace představují metylace cytosinových zbytků v DNA hrající zásadní roli při genovém imprintingu, posttranslační modifikace histonů zahrnující acetylaci a metylaci lysinových zbytků na jejich N-koncích a umlčování genů pomocí nekódující RNA (např. miRNA), včetně regulace exprese imprintovaných genů (Egger et al., 2004). Každá buňka si nese svůj epigenetický vzor, který musí být řádně udržován pro zajištění správné regulace genové exprese. Odchytky od vzoru metylace DNA nebo modifikace histonů mohou vést k nejrůznějším onemocněním (Egger et al., 2004).

## 2.2. Metylace DNA

Metylace DNA je pravděpodobně nejprostudovanější chemická a epigenetická modifikace chromatinu. Uplatňuje se v buněčné a tkáňové diferenciaci, signální transdukcii růstových faktorů, kontrole buněčného cyklu (Jackson-Grusby et al., 2001). Je využívána k potlačení iniciace (represi) transkripce, umlčení parazitární virové DNA (Jähner et al., 1982) a je nepostradatelná během embryonálního vývoje (Jaenisch, 1997). Dále se uplatňuje při inaktivaci jednoho chromozomu X, který je u savců během samičího embryonálního vývoje transkripčně umlčen (inaktivován) jako kompenzace dávky genů mezi samci (XY) a samicemi (XX) (Lyon, 1961). Hraje stěžejní roli v rámci fenoménu genového imprintingu (Li et al., 1993). Imprintované geny jsou charakteristické rozdílnou expresí maternálně nebo paternálně zděděných alel. Disregulace imprintingu genů může vést k různým onemocněním včetně rakoviny (Bachmann and Bergmann, 2012). U savců se metylace vyskytuje téměř výhradně v CpG (cytosin-fosfát-guanin) dinukleotidech po celém genomu s výjimkou CpG ostrůvků. CpG ostrůvky jsou oblasti genomu o velikosti více jak 500 Mb s nadpolovičním obsahem CG dinukleotidů, které byly uchovány během evoluce bez metylace (Egger et al., 2004). V mnoha případech jsou CpG bohatá místa asociována s promotory genů (Weber et al., 2005). V CpG místech je cytosin metylací změněn na 5-metylcytosin ( $m^5C$ ).  $m^5C$  představuje asi 1 % ze všech bazí DNA a ovlivňuje tak 70 – 80% všech CpG dinukleotidů v genomu (Ehrlich et al., 1982). Metylace navodí vznik heterochromatinu, který je transkripčně neaktivní.



### 2.2.1. DNA metyltransferázy

DNA (cytosin-5) metyltransferázy (DNMT) jsou skupinou proteinů, která je zodpovědná za vytvoření a udržení metylačního vzoru DNA v savcích buňkách tím, že katalyzují adici metylové skupiny z S-adenosyl-L-metioninu, na pátý atom uhlíku cytosinu (Robertson, 2002a). První DNMT byla zaznamenána v roce 1988 a od té doby bylo identifikováno na základě sekvenční podobnosti mnoho proteinových homologů včetně tří rodin savčích metyltransferáz – DNMT1, DNMT2 a DNMT3. Rodiny DNMT1 a 3 jsou katalyticky aktivní a podílejí se na významných buněčných procesech (Bestor, 2000).

DNMT1 je primární udržovací metyltransferázou díky semikonzervativnímu způsobu replikace a vysoké preferenci k hemimetylovaným dvouvláknovým DNA (Bacolla et al., 1999). Při semikonzervativní replikaci DNA vznikají dvě dceřiné molekuly, které jsou hemimetylované. Jedno vlákno je tedy plně metylované a nese v sobě zakódované metylační vzory a druhé nové vlákno metylováno není vůbec. DNMT1 metyluje nově vzniklé vlákno podle vzoru vlákna původního a udržuje tak epigenetickou informaci. Alternativním sestřihem lidského genu *DNMT1* vzniká několik izoform – DNMT1b, DNMT1o a DNMT1p (Robertson, 2002b).

Navzdory tomu, že postrádá katalytickou aktivitu, je DNMT2 pravděpodobně tou nejuniverzálnější metyltransferázou, neboť byla nalezena v celé škále organismů od kvasinek po člověka. Gen *DNMT2* byl objeven při pokusech o identifikování *de novo* metyltransferázy v roce 1998 (Yoder and Bestor, 1998).

Savčí genom kóduje dvě funkční rodiny metyltransferáz DNMT3 – DNMT3a a DNMT3b, které metylují primárně CpG dinukleotidy, a třetí homolog DNMT3L, který postrádá metyltransferázovou aktivitu (Goll and Bestor, 2005). DNMT3a jsou asociované se strukturálními změnami chromatinu přes protein-proteinové interakce a transkripty *DNMT3a* jsou exprimovány v dospělých tkáních, raných embryích, embryonálních zárodečných buňkách a v nádorových buněčných liniích (Xie et al., 1999). V porovnání s *DNMT3a* je exprese *DNMT3b* ve většině tkání nižší s výjimkou varlat, což naznačuje její klíčovou úlohu ve spermatogenezi (Okano et al., 1998; Robertson et al., 1999). Díky alternativnímu sestřihu existuje několik izoform DNMT3b např. DNMT3b1, DNMT3b4, DNMT3b5 (Robertson et al., 1999).

Lidský gen *DNMT3L* (DNA methyltransferase 3-like) byl identifikován v roce 2000 analýzou databáze sekvencí genomu (Aapola et al., 2000). DNMT3L je katalyticky neaktivní, ale vysoce exprimován ve varlatech a myších embryích (Aapola et al., 2001).

### **2.2.2. Mechanismy represe transkripce**

V každé buňce je DNA ovinutá okolo oktamerů bazických proteinů – histonů H2A, H2B, H3 a H4, vytvářejících tak nukleozóm (Peterson and Laniel, 2004). Tyto nukleozómy tvoří chromatin, jehož struktura má výrazný vliv na genovou expresi. Pokud je chromatin kondenzován, geny jsou inaktivovány a naopak – genová exprese je aktivována, když je chromatin rozvolněn. Obecně je chromatin členěn na transkripčně aktivní euchromatin a transkripčně neaktivní heterochromatin (Rountree et al., 2001). Histony jsou hlavním cílem kovalentních modifikací. Ve většině případů jsou modifikovány jejich N-konce. N-konec histonu H3 se zdá být hlavním cílem metylací (Weissmann and Lyko, 2003).

Metylace DNA potlačuje genovou transkripci dvěma způsoby. Prvním způsobem je přímé zabránění navázání transkripčních faktorů (TF) na nukleozóm, které vyžadují kontakt s cytosinem. Většina savčích TF má vazebná místa bohatá na CG a struktury rozpoznávající DNA bohatou na CpG. Metylace CpG vede k narušení či úplnému zničení vazby TF na nukleozóm (Bird and Wolffe, 1999).

Druhou možností je navázání komplexů, které vedou ke změně struktury chromatinu do neaktivní formy. Metylované oblasti DNA sousedící s promotorem genu mohou přijmout metylecytosin-vázající proteiny, které se asociují s proteinovými komplexy obsahující korepresory a histondeacetylázy. Navázání těchto komplexů na DNA má za následek přechod struktury chromatinu z aktivní do neaktivní formy (Attwood et al., 2002). Deacetylázy odeberou acetylové skupiny histonům, což vede ke zkompaktnění chromatinu a tím k represi transkripce (Hui Ng, 2000).

### **2.3. Genový imprinting**

V diploidním organismu existuje každý gen ve dvou kopiích - alelách. Jedna alela pochází od matky a druhá od otce. Většina genů může být exprimována jak z mateřské tak otcovské alely. Existují ale geny s tzv. monoalelickou expresí – což je stav, kdy je jedna alela umlčená (imprintovaná) a plně se projeví pouze druhá alela. Tento jev rozdílné exprese genů závislé na rodičovském původu alely se nazývá genový imprinting (Delaval and Feil, 2004). Zásadní epigenetickou modifikací odlišně označující parentální chromozomy je metylace. Metylace

naplňuje principiální mechanismy genového imprintingu, jimiž jsou vliv na transkripci, dědičnost v somatických buňkách a možnost předávat informaci do dceřiných buněk, schopnost vytvoření se na fyzicky oddělených parentálních chromozomech a možnost vymazání a znovu ustanovení v nové generaci buněk (Ferguson-Smith, 2011). S imprintingem souvisí vyšší riziko spojené s mutacemi, kdy mutace v jedné a jediné funkční alele může vést k absenci produktů genu, která může vyústit v onemocnění jako například Beckwith-Wiedemannův syndrom (Reik et al., 1995).

Genový imprinting byl objeven v roce 1984 díky experimentům s transplantací jader provedeným D. Solterem a A. Suranim a hraje zásadní roli během fetálního a placentárního růstu a vývoje (Abu-Amero et al., 2006). Identifikace imprintovaných genů byla odstartována v roce 1991 objevením prvního imprintovaného genu – *Igf2r* kódujícího insulin-like growth factor 2 receptor, který je exprimován z chromozomu zděděného po matce, zatímco jeho kopie zděděná od otce je umlčena (Barlow et al., 1991). K dnešnímu datu bylo identifikováno 326 lidských imprintovaných genů (Catalogue of parent of origin effects). Po identifikaci prvních imprintovaných genů bylo prokázáno, že se dva rodičovské chromozomy v imprintovaném lokusu liší ve vzoru metylace (Ferguson-Smith et al., 1993). Tato místa se označují jako rozdílně metylované regiony (*differentially methylated regions, DMRs*). Přes 80% imprintovaných genů tvoří s ostatními imprintovanými geny v genomu shluky – regiony kontrolované imprintingem (*imprinting control region, ICR*) (Reik and Walter, 2001). Geny v klastrech (ICR) jsou koordinovaně regulovány imprintingovými centry (*imprinting centre, IC*), ve kterých se projevují epigenetické modifikace regulující jejich aktivitu (Lewis and Reik, 2006).

### **2.3.1. Cyklus imprintingových metylačních vzorů**

Vzory imprintingu se mění v určitých fázích životního cyklu jedince. Jsou založeny během gametogeneze, kdy jsou fyzicky odděleny mateřské a otcovské genomy. Po oplození jsou imprintingové vzory udržovány jako kopie chromozomu a jsou segregovány ve vyvíjejícím se organismu. V zárodečných buňkách nového organismu je vzor vymazán a následně znovu ustaven. V somatických buňkách jsou imprintingové vzory udržovány a měněny během vývoje (Reik and Walter, 2001).

Vyvíjející se zárodečné buňky získávají epigenetické vzory včetně pohlavně specifických metylačních vzorů v ICR. *De novo* DNA metyltransferáza DNMT3A spolu s DNMT3L zakládá DMR v zárodečných buňkách (Kaneda et al., 2004). DNMT3L postrádá metylační

aktivitu, nicméně ovlivňuje strukturu DNMT3A a tím její schopnost navázat se na DNA a přidávat metylové skupiny na ICR (Chedin et al., 2002). Imprintingové metylační vzory jsou vytvořeny jak v mateřském, tak otcovském genomu. Po oplození jsou parentální zárodečné buňky vystaveny celogenomové demetylační vlně a následné *de novo* metylační vlně po implantaci embrya (Monk et al., 1987). DMR imprintovaných genů jsou však proti těmto vlnám rezistentní. V nové generaci zárodečných buněk se musí vymazat předešlé imprintingové vzory a vytvořit nové, pohlavně specifické. Primordiální zárodečné buňky podstoupí komplexní demetylaci, která odstraní rodičovské imprintingové značky (Monk et al., 1987). Toto vymazání nastává kolem desátého dne po splynutí gamet, je rychlé a asynchronní tj. všechny imprintované geny nejsou demetylovány současně (Lee et al., 2002)

Obecně přijímaná teorie vysvětlující přítomnost imprintovaných genů v genomu se nazývá hypotéza konfliktu, která říká, že za genový imprinting je z evolučního hlediska zodpovědná konkurence mezi pohlavími (Jirtle and Weidman, 2007).

### 2.3.2. Mechanismy imprintingu

Centra imprintingu můžeme rozdělit do dvou kategorií podle mechanismu jejich fungování (Ideraabdullah et al., 2008).

#### *Model izolátoru – paternální metylace*

Tento model demonstruje důležitost metylace při udržení vzoru imprintingu. Nejlépe ho charakterizuje klastr obsahující gen *H19*, který je maternálně exprimovaný a gen *Igf2* který je aktivní pouze na otcovském chromozomu (Li et al., 1993). *H19* kóduje gen pro 2,3 kb dlouhou nekódující RNA (Brannan et al., 1990). Proteiny genů *H19* i *Igf2* významně podporují embryonální, placentální růst a vývoj (Ideraabdullah et al., 2008). Tento klastr je regulován IC označovaným IC1 (*imprinting center 1*) u lidí a ICR nebo DMD (*differentially methylated domain*) u myší. ICR/DMD fungující jako izolátor je metylovaný (neaktivní) na otcovské alele a nemetylovaný (aktivní) na mateřské alele a je umístěn mezi geny *H19* a *Igf2* kde reguluje aktivitu jejich zesilovačů (enhancerů). Když je izolátor nemetylovaný, na mateřském chromozomu, naváže se na něj CCCTC-vázající faktor (CTCF), omezí aktivitu zesilovače a stimuluje expresi *H19*. A naopak, když je izolátor metylovaný (na otcovském chromozomu) nemůže se na něj CTCF navázat, zesilovač není omezen a napomáhá expresi *Igf2* (Bartolomei et al., 1993). Delece v ICR/DMD může vyústit ve ztrátu imprintingu (*loss of imprinting, LOI*) (Gicquel et al., 2005).

Většina imprintovaných lokusů je regulována mechanismem nekódující RNA. Nejlépe popsáný je klastér genu *Igf2r* umístěný na myším chromozomu 17A (Ideraabdullah et al., 2008). Klastér obsahuje i sousedící geny *Slc22a2* a *Slc22a3*, které jsou metylovány na paternálním chromozomu a exprimovány maternálně (Zwart et al., 2001). Jejich otcovské kopie jsou umlčeny. Jako jediný nemetylovaný paternálně exprimovaný gen je v tomto klastru gen pro nekódující RNA nazývanou *Air*, jejíž promotor se nachází v druhém intronu genu *Igf2r* a jeho *antisense* transkript překrývá promotor *Igf2r* (Lyle et al., 2000). Exprese *Air* koreluje s represí všech tří genů na jejich otcovské alele, ačkoli se překrývá pouze s *Igf2r* a je nutná k umlčení autozomálních imprintovaných genů (Zwart et al., 2001).

### **3. Syndromy vázané na parentální původ postiženého chromozomu**

Tato kapitola popisuje tři nejlépe charakterizované syndromy, při jejichž vzniku sehrává významnou roli genový imprinting. Prader-Williho syndrom a Angelmanův syndrom jsou způsobeny poruchami v totožné oblasti chromozomu 15. Beckwith-Wiedemannův syndrom je způsobený mutacemi postihujícími mechanismus imprintingu na chromozomu 11.

#### **3.1. Prader-Williho syndrom**

Prader-(Labhart)-Williho syndrom (PWS) je první dědičné multisystémové onemocnění dané do souvislosti s genovým imprintingem (Driscoll et al., 1992). Vyznačuje se širokým spektrem klinických rysů a je jednou z nejčastějších genetických příčin obezity (Cataletto et al., 2011) s incidencí 1/15 000 až 1/25 000 (Procter et al., 2006; Whittington, 2001). Patří mezi syndromy přilehlých genů a je způsoben absencí exprese imprintovaných genů. Spolu s Angelmanovým syndromem tvoří nejznámější příklad vlivu genového imprintingu při vzniku klinicky významného fenotypu.

##### **3.1.1. Klinické znaky a diagnostika**

PWS byl poprvé identifikován doktory Praderem, Labhartem a Willim v roce 1956 na základě klinických znaků zahrnujících abnormální prenatální aktivitu, těžkou hypotonii v dětském věku přetrvávající v lehčí formě v dospělosti, typický facies, slabé sání vedoucí

ke stravovacím problémům v dětství, morbidní obezitu (pokud není strava kontrolována), hypogonadismus a hypogonadismus, častou neplodnost, malou postavu, malé ruce a nohy, zpožděný psychomotorický a mentální vývoj, mentální retardaci. Dalšími znaky jsou problémy v chování včetně výbuchů vzteku, hyperfágie, kompulzivního a manipulativního chování, a tvrdohlavosti (Cassidy et al., 2012). Velké množství klinických znaků se individuálně mění v průběhu života jedince.

PWS se vyskytuje u obou pohlaví a nezávisle na rase (Cassidy, 1997). PWS je diagnostikován na základě sjednocených diagnostických kritérií (Gunay-Aygun et al., 2001) viz Tabulka 1.

Věk posuzování	Znaky vedoucí k vyšetření DNA
od narození do 2 let	Hypotonie a slabé sání
2-6 let	(1) Hypotonie a dříve pozorované slabé sání (2) Celkové zpoždění vývoje
6-12 let	(1) Dříve pozorovaná hypotonie se slabým sáním (hypotonie může přetrvávat) (2) Celkové zpoždění vývoje (3) Nadměrné stravování (hyperfágie, posedlost jídlem) a obezita při nekontrolovatelném stravování
od 13 let do dospělosti	(1) Kognitivní zhoršení, často mírná mentální retardace (2) Nadměrné stravování (hyperfágie, posedlost jídlem) a obezita při nekontrolovatelném stravování (3) Hypothalamický hypergonadismus a/nebo problémové chování (včetně záchvatů vzteku a obsedantně-kompulzivních znaků)

*Tabulka 1: Doporučená aktualizovaná kritéria indikující vyšetření DNA pro potvrzení PWS (převzato a přeloženo z Gunay-Ayun et al., 2001)*

### 3.1.2. Genetické pozadí

Geny související se vznikem PWS se nacházejí v regionu q11 – 13 na dlouhém raménku chromozomu 15 (15q11.2 – q13) jehož velikost je 5 – 6 Mb. Tyto geny se exprimují pouze z paternálně zděděného chromozomu (Butler et al., 1986), zatímco geny na mateřském chromozomu jsou imprintované – umlčené. K rozvoji PWS dochází, když jsou geny na otcovském chromozomu umlčeny, poškozeny nebo zcela chybí (Henkhaus et al., 2012). V oblasti 15q11.2 – q13 sídlí také geny související se vznikem Angelmanova syndromu (AS) s tím rozdílem, že exprimovány jsou maternálně zděděné geny, zatímco paternálně zděděné geny jsou imprintovány (Knoll et al., 1989). Molekulární příčiny vzniku PWS bychom mohli

rozdělit do čtyř kategorií: *de novo* delece, uniparentální disomie, defekty imprintingu a ostatní defekty (například translokace). Nejčastější příčinou nedostatečné exprese genů je delece regionu 15q11.2 – q13 na otcovském chromozomu, která je zodpovědná za 70 – 80 % případů (Elena et al., 2012; Jauregi et al., 2013). Tyto delece se vyskytují u PWS i AS mezi 3 nejčastějšími body zlomu (BZ) rozdělujícími region 15q11.2 – q13 na čtyři autonomní úseky (Christian et al., 1999). Body zlomu 1 (BZ1) a 2 (BZ2) se nacházejí na centromerickém konci regionu, zatímco bod zlomu 3 (BZ3) na telomerickém konci regionu (Butler et al., 2008). Body zlomu BZ1 a BZ2 rozdělují delece na typy I a II. Typ I a II se mezi sebou liší ve velikosti deletovaného úseku, množství a závažnosti určitých klinických následků (Butler et al., 2004). Oblast mezi BZ1 a BZ2 obsahuje čtyři neimprintované geny exprimované u obou pohlaví – *TUBGCP5*, *CYFIP1*, *NIPAI* a *NIPAI2* (Chai et al., 2003). Mezi BZ2 a BZ3 se nachází více jak 15 genů včetně *MKRN3*, *MAGEL2*, *NDN* a malých nekódujících RNA ovlivňujících ostatní geny (paternálně exprimované) a *UBE3A* a *ATP10A* (maternálně exprimované) (Henkhaus et al., 2012). Nejzásadnějším genem v tomto regionu je polycistronní malý jaderný ribonukleoprotein polypeptid N (*SNRPN-SNURF*) překrývající imprintingové centrum a hrající roli při vzniku a rozvoji PWS (Gray et al., 1999).

Druhý nejčastější molekulární mechanismus vzniku PWS je maternální uniparentální disomie (mUPD) vyskytující se u 20 – 25 % pacientů (Elena et al., 2012). Jedná se o stav, ve kterém jsou oba chromozomy zděděné od matky a žádný od otce (Glenn et al., 1997) a ve více jak 80 % případů vzniká nesprávným rozchodem chromozomů během prvního meiotického dělení (Robinson et al., 1993).

Jsou zaznamenány fenotypové rozdíly mezi pacienty s mUPD a delecí. Pacienti s delecí vykazují vyšší riziko epileptických záchvatů, hypopigmentaci, více charakteristických faciálních znaků a lehčí formy problémového chování (Gillissen-Kaesbach et al., 1995). Pacienti s mUPD vykazují vyšší výskyt kryptorchismu a vrozených anomálií, těžší projevy hypotonie (Gillissen-Kaesbach et al., 1995), vyšší pravděpodobnost psychózy (Holland et al., 2003) a s autismem asociovaných onemocnění (Veltman et al., 2004).

Méně jak 5 % případů je způsobeno poruchou v centru imprintingu, balancovanými nebo nebalancovanými translokacemi (Buiting et al., 1995). Defektní imprinting spolu s translokacemi je zodpovědný za většinu zděděných případů PWS (Elena et al., 2012). Riziko opakovaného výskytu PWS závisí na molekulárním mechanismu vzniku.

### 3.1.3. Léčba

Příznaky PWS zvládají pacienti individuálně v závislosti na variabilitě klinických znaků. Mezi základní kroky patří dodržování odpovídající výživy, dokrmování v raném věku jedince jako kompenzace slabého sání, limitace příjmu kalorií, denní fyzická aktivita, fyzioterapie, dodávání růstového hormonu a v neposlední řadě psychologická pomoc (Goldstone, 2004; Scheermeyer, 2013).

## 3.2. Angelmanův syndrom

Angelmanův syndrom (AS) poprvé popsal v roce 1965 lékař H. Angelman díky několika klinickým znakům sdílených u třech pacientů. Původně ho nazval jako syndrom „puppet children“ (v překladu „loutkové děti“) podle jejich typických pohybů (Angelman, 1965 v Hart, 2008). Dnes je jeho incidence odhadovaná na 1/10 000 až 1/20 000 (Williams, 2005). Spolu s PWS je AS jedním z nejlépe a nejdříve popsaných příkladů klinických vlivů genového imprintingu. Oba syndromy vznikají podobným způsobem ve stejném regionu 15q11 – q13, ale jejich fenotypový projev je velmi odlišný (Chan et al., 1993).

### 3.2.1. Klinické znaky a diagnostika

V roce 1995 Ch. Williams sepsal soubor diagnostických kritérií AS, který následně v roce 2005 aktualizoval. Klinické znaky AS rozdělil do tří kategorií podle frekvence výskytu. Ve 100 % případů se u AS vyskytuje opožděný vývoj se závažnými následky (mentální retardace), porucha pohybu či rovnováhy, ataxie způsobující rozechvělé a trhavé pohyby, častý smích a usmívání, porucha řeči. Z více jak 80 % jsou přítomny disproporciální růst hlavy vedoucí často k mikrocefalii, epileptické záchvaty, abnormální EEG. Z velkého počtu přidružených znaků (20 – 80 %) například šilhání, málo pigmentovaná kůže, skolióza, časté slintání a další (Williams et al., 2006). Mezi nejvíce uniformní znaky patří typické chování. Záchvaty smíchu začínají již během prvních týdnů. Pacienti s AS milují vodu a jsou fascinováni lesklými povrchy a umělou hmotou (Clayton-Smith and Laan, 2003).

### 3.2.2. Genetické pozadí

AS vzniká čtyřmi molekulárními mechanismy působícími na mateřském chromozomu 15: delecí v kritickém regionu, mutací v genu *UBE3A*, paternální uniparentální disomií a defektem v imprintingovém centru (Dagli et al., 2011). Pacienty s AS tak můžeme rozdělit do 5 tříd – do 4 podle mechanismu vzniku, zatímco poslední třídu tvoří pacienti vykazující



klinické znaky AS, ale bez abnormálního chromozomu 15 (Clayton-Smith and Laan, 2003). V 65 – 75 % (I. třída) je AS způsoben *de novo* intersticiální delecí (mikrodelecí o velikosti 4Mb) v regionu 15q11 – q13 mezi body zlomu shodnými s PWS (BZ1, BZ2 a BZ3) (Jiang et al., 1999). Tyto delece vznikají jako následek nerovnoměrného crossing-overu v oblastech BZ, bohatých na opakující se sekvence (duplikony), ve kterých se nachází vysoce konzervativní gen *HERC2*, jehož mutovaná forma u myši způsobuje neplodnost, neuromuskulární a vývojové abnormality (Ji et al., 1999). Druhou příčinou (II. třída) je paternální uniparentální disomie (pUPD) chromozomu 15 (3 – 5%) (Jiang et al., 1999). Na rozdíl od maternální UPD jsou v případě paternální UPD přítomny pouze paternálně zděděné chromozomy a žádný maternálně zděděný. V porovnání četností UPD u PWS a AS je četnost UPD u PWS je několikanásobně vyšší než u AS (Robinson et al., 2000). Okolo 7 – 9 % pacientů s AS (III. třída) má mutaci v centru imprintingu (IC) způsobující defektní metylaci, přičemž maternálně zděděný chromozom má paternální vzory metylace a imprintované maternální geny v oblasti 15q11 – q13 (Jiang et al., 1999). V polovině těchto případů se jedná o malé delece zasahující část IC, která se nachází blízko promotoru genu *SNRPN*, které zabrání chromozomu změnit paternální vzor metylace a expresi genů na maternální (Jiang et al., 1999). V ostatních případech delece nebyly dekovány (Jiang et al., 1999) a jedná se pravděpodobně o epimutace nezpůsobující změnu struktury DNA (Buiting et al., 2003). IV. třídu tvoří pacienti (4 – 6 %), u nichž je AS způsoben poruchou genu *UBE3A* kódujícího ubiquitin-protein ligázu (Jiang et al., 1999). *UBE3A* se nachází v regionu 15q11 – q13 a je exprimován v neuronech výhradně z mateřského chromozomu (Jiang et al., 1999). Paternálně zděděná alela genu *UBE3A* je v neuronech imprintována. V ostatních buňkách těla je gen transkribován z obou chromozomů (Dagli et al., 2011). Poslední V. třídou (10 – 14 %) je skupina pacientů vykazujících klinické příznaky AS, ale bez abnormálního chromozomu 15. Pravděpodobnou příčinou mohou být dosud neobjevené poruchy v regionu 15q11 – q13 postihující *UBE3A*, poruchy vyskytující se jinde než v oblasti 15q11 – q13 a ovlivňující *UBE3A*, či špatná diagnóza (Jiang et al., 1999).

Byly pozorovány klinické znaky, které korelují s genotypem a liší se mezi sebou v závislosti na mechanismu vzniku AS. Pacienti s delecí 15q11 – q13 jsou postiženi těžšími formami křečí, mikrocefalií, vadami řeči a pohybu, zatímco jedinci s rozsáhlejší delecí mohou vykazovat znaky autismu (Sahoo et al., 2007). Skupiny pacientů s UPD vykazují mírnější formu AS s nižší frekvencí křečí, mikrocefalií a ataxií oproti pacientům s delecí (Bottani et al., 1994). Někteří pacienti s defekty IC mají pokročilejší schopnost řeči (Nazlican et al.,

2004). Mutace v genu *UBE3A* způsobující narušení jeho proteinu způsobují mentální retardaci a křeče (Williams, 2005).

### **3.2.3. Léčba**

Pro AS neexistuje kompletní účinná léčba. Pacienti pouze mohou zvládat či zmírňovat klinické příznaky. Pro jedince s AS je důležité pravidelné fyzické cvičení, které pomáhá zmírnit příznaky skoliózy. Pacienti s velmi těžkou ataxií vyžadují speciální polohovací křesla. Existují různé terapie řeči. Velkým problémem je v dětství hyperaktivita a s ní spojená porucha spánku. (Guerrini et al., 2003). Kvůli možné frustraci a možné agresi, vyplývající z problémů v komunikaci či problémům s pohybem, je nutno zvážit i psychologickou terapii (Clayton-Smith and Laan, 2003). Ačkoli může být kvalita života jedince s AS vysoká, pacienti vyžadují neustálý dozor a nejsou schopni samostatného života (Dagli et al., 2011).

## **3.3. Beckwith-Wiedemannův syndrom**

Beckwith-Wiedemannův syndrom (BWS) je dětské onemocnění způsobující poruchu regulace růstu projevující se jako nadměrný růst, malformace a predispozice k růstu nádorů. BWS se vyskytuje s odhadovanou incidencí 1/13 700 (Pettenati et al., 1986), napříč všemi světovými rasami, bez rozdílu u mužů a žen s výjimkou jednovaječných dvojčat, u kterých převažuje postižení žen (Weksberg et al., 2010). Jedná se o velmi heterogenní chorobu a u jedinců vykazujících mírnější fenotypové příznaky (zvláště v dospělosti) nemusí být BWS diagnostikován (Greer et al., 2008). Je tedy pravděpodobné, že incidence výskytu choroby je ještě vyšší než dosud stanovená.

### **3.3.1. Klinické znaky a diagnostika**

BWS byl popsán Beckwithem a následně Wiedemannem v 60. letech 20. století. Mezi typické příznaky BWS patří makroglosie, pre/postnatální gigantismus, defekty břišní stěny, ušní záhyby, vady ledvin, porucha cévních kapilár v obličeji (naevus flammeus), hyperglykémie, hemihypertrofie, vrozené srdeční vady, maligní neoplázie, střední až těžká mentální retardace a polydaktylie (Elliott and Maher, 1994). Většina případů (85 %) se vyskytuje sporadicky, ale 15 % má familiární výskyt a řídí se autozomálně dominantní dědičností (Baskin et al., 2014). Nejčastějšími maligními projevy jsou Wilmsův tumor a hepatoblastom (Lapunzina, 2005).

### 3.3.2. Genetické pozadí

BWS vzniká ve většině případů jako následek přestavby či mutace regulačních genů v oblasti 11p15.5 (Li et al., 1997). Region 11p15 je velký asi 1 Mb a je rozdělený na 2 imprintingové domény - distální a proximální, které jsou oddělené neimprintovanými geny z nichž každá obsahuje imprintované geny regulující růst a centrum imprintingu (IC1 a IC2) (Weksberg et al., 2005b). Distální doména 1 obsahuje imprintované geny *IGF2* a *H19* regulované prostřednictvím IC1 (Weksberg et al., 2005b). Paternálně exprimovaný gen *IGF2* (insulin-like growth factor 2) hraje stěžejní roli ve fetálním a dětském vývoji a během tumorigeneze (Hedborg et al., 1994). Maternálně exprimovaný gen *H19* kóduje nepřekládanou mRNA s funkcí nádorového supresoru (Hao et al., 1993). Proximální doména 2 obsahuje řadu imprintovaných genů, ale nejstudovanějšími v souvislosti s BWS a regulací růstu jsou maternálně exprimované geny *CDKN1C*, *KCNQ1* (Maher and Reik, 2000) a paternálně exprimovaný nepřekládaný transkript *KCNQ1OT*, jehož promotor je umístěn v intronu genu *KCNQ1*, k němuž je opačně orientován. 5'konec *KCNQ1OT* funguje jako IC2 (Cerrato et al., 2002) a reguluje expresi imprintovaných genů v doméně 2 (Smilnich et al., 1999). Produkt (p57<sup>KIP2</sup>) genu *CDKN1C* je inhibitor cyklin-dependentních kináz (regulátorů buněčného cyklu) a negativně ovlivňuje buněčnou proliferaci (Matsuoka et al., 1995). Produkt genu *KCNQ1* tvoří část draslíkového kanálu (Wang et al., 1996).

Nejčastější příčinou BWS je ztráta metylace v IC2 na maternálním chromozomu vyskytující se u 50 – 60 % případů (Lee et al., 1999). Ve většině případů jsou příčinou epigenetické mutace *KCNQ1OT1*, který je za normálních okolností umlčený a vzácně delece. Mezi další příčiny patří naopak zvýšená metylace v IC1 na mateřské alele (10 %) způsobená mikrodelecemi ústíci v epigenetické mutace (De Crescenzo et al., 2011; Weksberg et al., 2005b), či paternální uniparentální disomie vyskytující se u v obou doménách asi u 20 % případů (Catchpoole et al., 1997). Bodové mutace a delece v genu *CDKN1C* se vyskytují u 5 – 10 % sporadických případů, ale až u 40% familiárních případů (Lam et al., 1999). Asi 2 % případů tvoří přestavby 11p15.5 jako jsou duplikace, translokace a inverze (Weksberg et al., 2005b).

Zajímavým faktem je vyšší výskyt jednovaječných dvojčat mezi pacienty s BWS, především ženského pohlaví s diskordantními znaky pro BWS. Důvodem mohou být defekty v IC2, vývojové poruchy, které se vyskytují se stejnou frekvencí u mužských i ženských embryí, ale mají letální efekt na mužská embrya, či jako důsledek inaktivace X

chromozomu, která by mohla činit jednovaječná ženská embrya náchylnější k vývojovým poruchám (Weksberg et al., 2002).

### **3.3.3. Léčba**

Existuje několik možností jak udržovat zdravotní stav dětí s BWS. Makroglosie může vést ke stravovacím a dýchacím komplikacím v raném věku. V dospělosti může bránit správné artikulaci a vést až k vadám skusu. Tento problém lze řešit chirurgicky za přispění plastických chirurgů, zubařů a logopedů například odstraněním jazyka či redukcí čelisti. Děti s BWS mají asi 7,5 % riziko rozvoje nádorů (Wiedemann, 1983), proto je doporučeno sledování jeho výskytu pomocí ultrazvuku břicha opakovaného každé čtyři měsíce do 8 let věku (Choyke et al., 1999).

## **4. Syndromy s nerovnoměrným parentálně-chromozomovým původem**

Monosomie 1p36, syndrom Cri du chat, Phelan -McDermidův syndrom jsou onemocnění, u kterých se postižení chromozomů vzhledem k parentálnímu původu nevyskytuje rovnoměrně. Existují hypotézy, proč tomu tak je. V případě syndromu Cri du chat je nepravděpodobnějším vysvětlením vyšší výskyt anomálií při vývoji samčích gamet. Naproti tomu u monosomie 1p36 a Phelan-McDermidova syndromu není zatím důvod známý.

### **4.1. Monosomie 1p36**

Monosomie 1p36 je onemocnění způsobené terminální delecí s incidencí 1/5 000 (Heilstedt et al., 2003b) živě narozených, vyskytující se bez rozdílu pohlaví a napříč všemi etniky (Gajecka et al., 2007). Toto onemocnění je jedním ze syndromů přilehlých genů s širokým spektrem fenotypových projevů, projevuje se zvláště vrozenými vadami a mentální retardací (Heilstedt et al., 2003a).

#### **4.1.1. Klinické znaky a diagnostika**

Klinické znaky přítomné u pacientů s monosomií 1p36 z více jak 50 % jsou: velká přední fontanela, opožděný motorický a růstový vývoj, mírná až těžká mentální retardace (IQ < 60), špičatá brada, zraková postižení, epilepsie, plochý nos, klinodaktylie, nízko posazené a

asymetrické uši, sluchové problémy, hrubé chování a hluboko posazené oči. Mezi další patří například obesita, mikrocefalie, rozštěpy a předkus (Shapira et al., 1997). V roce 1995 byli pacienti podle fenotypových projevů rozděleni do dvou skupin sdílejících dysmorfické rysy, ale odlišujících se přítomností růstových retardací nebo makrosomií. Jako možný důvod těchto rozdílných fenotypových projevů byly navrženy rozdíly ve velikosti delece, ale tato korelace nebyla prokázána (Gajecka et al., 2007).

#### 4.1.2. Genetické pozadí

Hlavní příčinou vzniku syndromu jsou delece, jejichž velikost se pohybuje ve velkém rozmezí od 1,5 Mb do více jak 10,5 Mb. Body zlomu se frekventovaně nacházejí ve vzdálenosti mezi 4,0 – 4,5 od telomery (Heilstedt et al., 2003a). Nejčastější jsou terminální delece (72 %), dále pak delece intersticiální (7 %). Oblast telomery na je v 17 % nahrazena jiným chromozomovým koncem (derivace chromozomu 1). Derivace chromozomu vzniká jako následek špatné segregace rodičovských chromozomů s balancovanou translokací, či *de novo*. Posledními strukturními změnami oblasti 1p36 vedoucími k monosomii jsou komplexní přestavby vyskytující se asi ve 4 % případů (Heilstedt et al., 2003a). 60 % delecí se objevuje na maternálním chromozomu, přičemž většina z nich jsou menší delece o velikosti < 5 Mb vznikající hlavně *de novo*, zatímco delece na paternálním chromozomu, přítomny u 40 % případů, jsou delece větší velikosti (> 5 Mb) (Heilstedt et al., 2003a). Důvod tohoto nerovnoměrného postižení chromozomů je zatím neznámý. Bylo identifikováno několik kandidátních genů, jejichž mutace vedou k některým příznakům monosomie 1p36. Jedním z nich je gen *KCNAB2*, kódující podjednotku sodného kanálu. Ztráta *KCNAB2* je příčinou epileptických záchvatů (Heilstedt et al., 2001). Dalším genem je protoonkogen *SKI*, pravděpodobně zodpovědný za rozštěp patra nebo rtu (Colmenares et al., 2002). Gen *MMP23*, uplatňující se v remodelaci kostí, byl navržen jako regulátor uzavírání fontanel (Gajecka et al., 2005). Jako kandidátní gen pro neuropsychologické a neurovývojové poruchy u monosomie 1p36 byl identifikován *GABRD* (GABA-A receptor) (Windpassinger et al., 2002). Ačkoli se monosomie 1p36 řadí mezi CGS, poslední studie naznačují, že příčiny klinických znaků jsou mnohem složitější než u klasických CGS (Oiglane-Shlik et al., 2014). Rozdílný fenotyp může být způsoben pozičním efektem genu/genů, kdy jsou geny v blízkosti heterochromatinu umlčeny (Redon et al., 2005). CNV, mutace genů mimo 1p36 a environmentální faktory mohou mít také vliv na sílu projevu fenotypu (Oiglane-Shlik et al., 2014). V poslední době narůstá počet zachycených pacientů s monosomií 1p36 díky testování

jedinců s mentální retardací a vývojovými poruchami pomocí array CGH (Shaffer et al., 2006).

## 4.2. Syndrom Cri du chat

Syndrom Cri du chat (CdCS), v překladu syndrom kočičího křiku, byl poprvé popsán v roce 1963 francouzským lékařem J. Lejeunem podle typického dětského pláče nápadně se podobajícímu mňoukání kočky. CdCS je onemocnění postihující růst a vývoj jedince CNS s prevalencí 1/15 000 až 1/50 000, které vzniká jako následek delece na krátkém raménku 5. chromozomu (5p) bez rozdílu výskytu mezi pohlavími či etniky (Higurashi et al., 1990) (Cornish and Pigram, 1996).

### 4.2.1. Klinické znaky a diagnostika

Typické „mňoukání“, jeden z nejtypičtějších znaků CdCS, během několika prvních měsíců až let mizí (Rodriguez-Caballero et al., 2010). Mňoukání je pravděpodobně způsobené vadami hrtanu a hrtanové příklopky. Pacienti s CdCS dále vykazují nízkou porodní hmotnost, mikrocefálii, kulatý obličej, velký nosní můstek, hypertelorismus, epikantus, dolů zahnuté koutky úst, nízko posazené uši, mikrognacii, abnormální dermatoglyfy, těžkou mentální a psychomotorickou retardací (Cerruti Mainardi, 2006). Mezi behaviorální znaky CdCS patří hyperaktivita, hypersenzitivita na zvukové podněty, těžkopádnost, opakování pohybů, ztráta pozornosti, sebepoškozování a agresivní chování (Collins and Cornish, 2002; Cornish and Pigram, 1996).

### 4.2.2. Genetické pozadí

CdCS je z větší části výsledkem *de novo* delece o velikosti od 5 do 40 Mb v regionu 5p15 (Simmons et al., 1995). Ačkoliv se velikost delece u různých pacientů liší, existuje kritický region 5p15.2, který je deletován u všech a který je tak zásadní pro rozvinutí typických klinických znaků (Niebuhr, 1978). Celkově jsou příčinou CdCS terminální delece (77,5 %), intersticiální delece (8,75 %), *de novo* (5 %) a zděděné translokace (3,75 %), dvou-liniové mozaiky (3,75 %) a delece zděděná z rodičovské inverze (1,25 %) (Mainardi et al., 2001). Z 90 % k deleci dochází na paternálně zděděném chromozomu, bez vlivu genového imprintingu. Důvodem může být pravděpodobně převaha delecí v důsledku poškození chromozomu během tvorby spermií (Martin et al., 1987). Jako kandidátní geny CdCS byly prozatím identifikovány *SEMAF* (lidský *semaforin F*) hrající roli v migraci prekurzorů neuronů během vývoje, *CTNND2* (*δ-katenin*), jehož delece koreluje s výskytem mentální

retardace u pacientů s terminální delecí (Medina et al., 2000) a *hTERT* (*telomerázová reverzní transkriptáza*), který nejspíše přispívá k různorodému fenotypovému projevu CdCS (Mainardi et al., 2006). Fenotypové projevy nekorelují s velikostí delece, nýbrž s jejím umístěním. Bylo provedeno několik studií majících za cíl identifikaci kritických regionů pro křik, vadu řeči a obličejové rysy, ale jejich lokalizace se lišila. V poslední době byl jako kritický region, zodpovědný za kočičí křik, identifikovány segmenty 5p15.31 a 5p15.32 ve vzdálenosti 4,5 Mb od telomery (Wu et al., 2005). Haploinsuficience některého z genů v této oblasti má za následek typické mňoukání. Za vadu řeči jsou zodpovědné také regiony 5p15.31 a 5p15.32 ve vzdálenosti 6 – 7,6 Mb od telomery a geny zodpovědné za obličejové rysy se nachází v oblasti 5p15.31 vzdálené od telomery 9 – 11,4 Mb (Zhang et al., 2003). Dále byly v této oblasti popsány 3 regiony zodpovědné za mentální retardaci (MR I, II, III), přičemž míra mentální retardace závisí na postiženém regionu a ne na velikosti delece (Zhang et al., 2003). Pro zkvalitnění života pacientů s CdCS by bylo vhodné investovat čas do dalších studií pro celkové zmapování kritických regionů a důvodu převládajícího postižení paternálně zděděného chromozomu.

### 4.3. Phelan-McDermidův syndrom

Phelan-McDermidův syndrom (PMS) je genetické neurodevelopmentární onemocnění doprovázené autistickými rysy, způsobené delecí v distální části dlouhého raménka chromozomu 22. Bylo zaznamenáno přes 600 případů zahrnujících obě pohlaví, ale incidence nebyla dosud odhadnuta. Důvod tak nízkého počtu zachycených případů je pravděpodobně diagnostická náročnost, neboť u více jak 30 % případů je zapotřebí minimálně dvou cytogenetických vyšetření pro detekci delece (Phelan, 2008).

#### 4.3.1. Klinické znaky a diagnostika

Mezi typické znaky PMS patří celková vývojová retardace, vady řeči či její úplná absence, hypotonie, snížený práh bolesti, normální až zrychlený růst, vady nehtů, dlouhé řasy, masité ruce, velké uši, špičatá brada, dolichocefalie, ptóza, sklon k přehřívání. U méně jak 50 % případů se může dále vyskytovat epikantus, syndaktylie prstů na nohou, opakované zvracení, anomálie ledvin, epilepsie a klinodaktylie pátého prstu a další (Phelan, 2008). Po behaviorální stránce mohou být přítomny stereotypní pohyby, žvýkání, skřípání zuby a agresivita (Phelan, 2008). Někteří pacienti mohou vykazovat autistické rysy v chování, jako jsou porucha komunikace, problémy se socializací, vyhýbání se očnímu kontaktu či úzkostné stavy (Phelan and McDermid, 2011).

### 4.3.2. Genetické pozadí

PMS vzniká v důsledku ztráty genetického materiálu v oblasti 22q13.3 v 80 – 85 % případů *de novo* delecí, z nichž se kolem 70 % nachází na paternálně zděděném chromozomu. Delece je ve většině případů terminální a pojímá telomeru (Cusmano-Ozog et al., 2007). Velikost deletované oblasti se pohybuje od 100 kb po 9 Mb (Phelan, 2008) a nekoreluje se závažností klinických znaků ani s parentálním původem chromozomu (Sarasua et al., 2014). Dále jsou pak příčinou PMS nebalancované přestavby (15 – 20 %) zděděné z 50 % po rodiči s balancovanou přestavbou bez rozdílu v původu zděděného chromozomu. Nejzásadnějším genem při vzniku PMS je *SHANK3* (*SH3 and multiple ankyrin repeat domains 3*), který zaujímá 70 kb velký region chromozomu 22, podléhá alternativnímu sestřihu a jeho produkty se nacházejí v místech excitačních synapsí v CNS. Proto haploinsuficience genu *SHANK3* způsobuje většinu klinických znaků neurologické povahy (Bonaglia et al., 2001). Gen *IB2* (*MAPK8IP2, mitogen-activated protein-kinase 8-interacting protein 2*) exprimovaný v mozku v místech synaptických spojů může také hrát roli v rozvoji neurologických znaků PMS (Phelan and McDermid, 2011). S rozvojem diagnostických technik lze očekávat zvýšení počtu zachycených případů PMS a stanovení jeho prevalence.



## Závěr

Tato práce se zaměřila na vybrané mikrodelační syndromy (MS) z hlediska vlivu parentálního původu chromozomu na fenotypové projevy či na samotný vznik onemocnění. Obecně vzato můžeme rozdělit MS podle vlivu parentálně zděděného chromozomu na tři skupiny.

První skupinou jsou syndromy, u kterých se vyskytují mutace na obou parentálně zděděných chromozomech bez rozdílu ve fenotypových projevech, neboli u kterých na původu postiženého chromozomu nezáleží.

Druhou skupinou jsou syndromy vznikající výhradně v důsledku postižení buď paternálně, nebo maternálně zděděného chromozomu, což souvisí s působením genového imprintingu. PWS a AS jsou velmi dobře zmapované příklady vlivu genového imprintingu na fenotypový projev. U obou syndromů je vždy jedna alela kauzálního genu či genů umlčena a ta druhá podléhá nějaké mutaci. Geny související se vznikem PWS jsou exprimovány pouze z paternálně zděděného chromozomu a analogicky v případě AS pouze z maternálně zděděného chromozomu. PWS i AS propuká ve většině případů v důsledku nedostatku exprese některého z těchto genů. Genový imprinting tak zde neumožní kompenzaci genové dávky, což má za následek vznik onemocnění. V případě BWS jsou převážně postiženy geny na maternálně zděděném chromozomu v důsledku ztráty či nadměrné metylace centra imprintingu.

Poslední skupinou jsou syndromy, které vznikají prokazatelně častěji v důsledku postižení buď paternálně, nebo maternálně zděděného chromozomu. Existují hypotézy vysvětlující, proč některé MS způsobují mutace z větší části na jednom zděděném chromozomu. Navzdory rychlému technickému pokroku, je u některých MS, jako jsou monosomie 1p36 a PMS, příčina stále neznámá. Syndrom kočičího křiku je z majoritní části způsoben delecí, která se z 90 % nachází na paternálním chromozomu. Nejslibněji se jeví hypotézou, proč tomu tak je, je vyšší procento výskytu mutací při vývoji spermií v porovnání s vajíčkem.

Závěrem nezbyvá, než poukázat na nutnost dalšího zkoumání i pro veřejnost méně „atraktivních“ a vzácnějších syndromů neboť jejich prevalence může být v populaci mnohem vyšší než je stanovena. Detailnější pochopení mechanismů vzniku MS by mohlo vést k lepšímu a časnějšímu zachycení některých onemocnění, případně k nalezení vhodnější a účinnější léčby.

## Seznam literatury

- Aapola, U., Kawasaki, K., Scott, H.S., Ollila, J., Vihinen, M., Heino, M., Shintani, a, Minoshima, S., Krohn, K., Antonarakis, S.E., et al. (2000). Isolation and initial characterization of a novel zinc finger gene, DNMT3L, on 21q22.3, related to the cytosine-5-methyltransferase 3 gene family. *Genomics* 65, 293–298.
- Aapola, U., Lyle, R., Krohn, K., Antonarakis, S.E., and Peterson, P. (2001). Isolation and initial characterization of the mouse Dnmt3l gene. *Cytogenetics and Cell Genetics* 92, 122–126.
- Abu-Amero, S., Monk, D., Apostolidou, S., Stanier, P., and Moore, G. (2006). Imprinted genes and their role in human fetal growth. *Cytogenetic and Genome Research* 113, 262–270.
- Attwood, J.T., Yung, R.L., and Richardson, B.C. (2002). DNA methylation and the regulation of gene transcription. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS* 59, 241–257.
- Bacolla, A., Pradhan, S., Roberts, R.J., and Wells, R.D. (1999). Recombinant human DNA (cytosine-5) methyltransferase. II. Steady-state kinetics reveal allosteric activation by methylated dna. *The Journal of Biological Chemistry* 274, 33011–33019.
- Bachmann, N., and Bergmann, C. (2012). Epigenetics and imprinting. *Archives de Pédiatrie : Organe Officiel de La Société Française de Pédiatrie* 19, 1145–1147.
- Barlow, D.P., Stöger, R., Herrmann, B.G., Saito, K., and Schweifer, N. (1991). The mouse insulin-like growth factor type-2 receptor is imprinted and closely linked to the Tme locus. *Nature* 349, 84–87.
- Bartolomei, M.S., Webber, a L., Brunkow, M.E., and Tilghman, S.M. (1993). Epigenetic mechanisms underlying the imprinting of the mouse H19 gene. *Genes & Development* 7, 1663–1673.
- Baskin, B., Choufani, S., Chen, Y.-A., Shuman, C., Parkinson, N., Lemyre, E., Micheil Innes, A., Stavropoulos, D.J., Ray, P.N., and Weksberg, R. (2014). High frequency of copy number variations (CNVs) in the chromosome 11p15 region in patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Human Genetics* 133, 321–330.
- Belin, V., Cusin, V., Viot, G., Girlich, D., Toutain, A., Moncla, A., Vekemans, M., Le Merrer, M., Munnich, A., and Cormier-Daire, V. (1998). SHOX mutations in dyschondrosteosis (Leri-Weill syndrome). *Nature Genetics* 19, 67–69.
- Bernardini, L., Alesi, V., Loddo, S., Novelli, A., Bottillo, I., Battaglia, A., Digilio, M.C., Zampino, G., Ertel, A., Fortina, P., et al. (2009). High-resolution SNP arrays in mental retardation diagnostics: how much do we gain? *European Journal of Human Genetics* 18, 178–185.
- Bestor, T.H. (2000). The DNA methyltransferases of mammals. *Human Molecular Genetics* 9, 2395–2402.
- Binder, G., Ranke, M.B., and Martin, D.D. (2003). Auxology is a valuable instrument for the clinical diagnosis of SHOX haploinsufficiency in school-age children with unexplained short stature. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88, 4891–4896.
- Binder, G., Renz, A., Martinez, A., Keselman, A., Hesse, V., Riedl, S.W., Häusler, G., Fricke-Otto, S., Frisch, H., Heinrich, J.J., et al. (2004). SHOX haploinsufficiency and Leri-Weill dyschondrosteosis: prevalence and growth failure in relation to mutation, sex, and degree of wrist deformity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 89, 4403–4408.
- Bird, A.P., and Wolffe, A.P. (1999). Methylation-induced repression--belts, braces, and chromatin. *Cell* 99, 451–454.

Birney, E., Stamatoyannopoulos, J.A., Dutta, A., Guigó, R., Gingeras, T.R., Margulies, E.H., Weng, Z., Snyder, M., Dermitzakis, E.T., Thurman, R.E., et al. (2007). Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature* 447, 799–816.

Blum, W.F., Crowe, B.J., Quigley, C. a, Jung, H., Cao, D., Ross, J.L., Braun, L., and Rappold, G. (2007). Growth hormone is effective in treatment of short stature associated with short stature homeobox-containing gene deficiency: Two-year results of a randomized, controlled, multicenter trial. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 92, 219–228.

Bonaglia, M.C., Giorda, R., Borgatti, R., Felisari, G., Gagliardi, C., Selicorni, a, and Zuffardi, O. (2001). Disruption of the ProSAP2 gene in a t(12;22)(q24.1;q13.3) is associated with the 22q13.3 deletion syndrome. *American Journal of Human Genetics* 69, 261–268.

Bottani, A., Robinson, W.P., DeLozier-Blanchet, C.D., Engel, E., Morris, M.A., Schmitt, B., Thun-Hohenstein, L., and Schinzel, A. (1994). Angelman syndrome due to paternal uniparental disomy of chromosome 15: a milder phenotype? *American Journal of Medical Genetics* 51, 35–40.

Brannan, C.I., Dees, E.C., Ingram, R.S., and Tilghman, S.M. (1990). The product of the H19 gene may function as an RNA. *Molecular and Cellular Biology* 10, 28–36.

Brewer, C., Holloway, S., Zawalnyski, P., Schinzel, A., and FitzPatrick, D. (1998). A chromosomal deletion map of human malformations. *American Journal of Human Genetics* 63, 1153–1159.

Buiting, K., Saitoh, S., Gross, S., Dittrich, B., Schwartz, S., Nicholls, R.D., and Horsthemke, B. (1995). Inherited microdeletions in the Angelman and Prader-Willi syndromes define an imprinting centre on human chromosome 15. *Nature Genetics* 9, 395–400.

Buiting, K., Gross, S., Lich, C., Gillessen-Kaesbach, G., el-Maarri, O., and Horsthemke, B. (2003). Epimutations in Prader-Willi and Angelman syndromes: a molecular study of 136 patients with an imprinting defect. *American Journal of Human Genetics* 72, 571–577.

Butler, M.G., Meaney, F.J., and Palmer, C.G. (1986). Clinical and cytogenetic survey of 39 individuals with Prader-Labhart-Willi syndrome. *American Journal of Medical Genetics* 23, 793–809.

Butler, M.G., Bittel, D.C., Kibiryeva, N., Talebizadeh, Z., and Thompson, T. (2004). Behavioral differences among subjects with Prader-Willi syndrome and type I or type II deletion and maternal disomy. *Pediatrics* 113, 565–573.

Butler, M.G., Fischer, W., Kibiryeva, N., and Bittel, D.C. (2008). Array comparative genomic hybridization (aCGH) analysis in Prader-Willi syndrome. *American Journal of Medical Genetics. Part A* 146, 854–860.

Carlson, C., Sirotkin, H., Pandita, R., Goldberg, R., McKie, J., Wadey, R., Patanjali, S.R., Weissman, S.M., Anyane-Yeboah, K., Warburton, D., et al. (1997). Molecular definition of 22q11 deletions in 151 velo-cardio-facial syndrome patients. *American Journal of Human Genetics* 61, 620–629.

Carvalho, C.M.B., Zhang, F., and Lupski, J.R. (2010). Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Genomic disorders: a window into human gene and genome evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 Suppl , 1765–1771.

Cassidy, S.B. (1997). Prader-Willi syndrome. *Journal of Medical Genetics* 34, 917–923.

Cassidy, S.B., Schwartz, S., Miller, J.L., and Driscoll, D.J. (2012). Prader-Willi syndrome. *Genetics in Medicine : Official Journal of the American College of Medical Genetics* 14, 10–26.

Cataletto, M., Angulo, M., Hertz, G., and Whitman, B. (2011). Prader-Willi syndrome: A primer for clinicians. *International Journal of Pediatric Endocrinology* 2011, 12.

- Catchpoole, D., Lam, W.W., Valler, D., Temple, I.K., Joyce, J.A., Reik, W., Schofield, P.N., and Maher, E.R. (1997). Epigenetic modification and uniparental inheritance of H19 in Beckwith-Wiedemann syndrome. *Journal of Medical Genetics* 34, 353–359.
- Cerrato, F., Vernucci, M., Pedone, P. V, Chiariotti, L., Sebastio, G., Bruni, C.B., and Riccio, A. (2002). The 5' end of the KCNQ1OT1 gene is hypomethylated in the Beckwith-Wiedemann syndrome. *Human Genetics* 111, 105–107.
- Cerruti Mainardi, P. (2006). Cri du Chat syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 1, 33.
- Clayton-Smith, J., and Laan, L. (2003). Angelman syndrome: a review of the clinical and genetic aspects. *Journal of Medical Genetics* 40, 87–95.
- Collins, M.S.R., and Cornish, K. (2002). A survey of the prevalence of stereotypy, self-injury and aggression in children and young adults with Cri du Chat syndrome. *Journal of Intellectual Disability Research : JIDR* 46, 133–140.
- Colmenares, C., Heilstedt, H. a, Shaffer, L.G., Schwartz, S., Berk, M., Murray, J.C., and Stavnezer, E. (2002). Loss of the SKI proto-oncogene in individuals affected with 1p36 deletion syndrome is predicted by strain-dependent defects in Ski<sup>-/-</sup> mice. *Nature Genetics* 30, 106–109.
- Cornish, K.M., and Pigram, J. (1996). Developmental and behavioural characteristics of cri du chat syndrome. *Archives of Disease in Childhood* 75, 448–450.
- De Crescenzo, A., Coppola, F., Falco, P., Bernardo, I., Ausanio, G., Cerrato, F., Falco, L., and Riccio, A. (2011). A novel microdeletion in the IGF2/H19 imprinting centre region defines a recurrent mutation mechanism in familial Beckwith-Wiedemann syndrome. *European Journal of Medical Genetics* 54, e451–4.
- Cusmano-Ozog, K., Manning, M.A., and Hoyme, H.E. (2007). 22q13.3 deletion syndrome: a recognizable malformation syndrome associated with marked speech and language delay. *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics* 145C, 393–398.
- Dagli, a., Buiting, K., and Williams, C. a. (2011). Molecular and Clinical Aspects of Angelman Syndrome. *Molecular Syndromology* 100–112.
- Delaval, K., and Feil, R. (2004). Epigenetic regulation of mammalian genomic imprinting. *Current Opinion in Genetics & Development* 14, 188–195.
- Devriendt, K., and Vermeesch, J.R. (2004). Chromosomal phenotypes and submicroscopic abnormalities. *Human Genomics* 1, 126–133.
- Driscoll, D.J., Waters, M.F., Williams, C.A., Zori, R.T., Glenn, C.C., Avidano, K.M., and Nicholls, R.D. (1992). A DNA methylation imprint, determined by the sex of the parent, distinguishes the angelman and Prader-Willi syndromes. *Genomics* 13, 917–924.
- Egger, G., Liang, G., Aparicio, A., and Jones, P. a (2004). Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 429, 457–463.
- Ehrlich, M., Gama-Sosa, M.A., Huang, L.H., Midgett, R.M., Kuo, K.C., McCune, R.A., and Gehrke, C. (1982). Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues of cells. *Nucleic Acids Research* 10, 2709–2721.
- Elena, G., Bruna, C., Benedetta, M., Stefania, D.C., and Giuseppe, C. (2012). Prader-willi syndrome: clinical aspects. *Journal of Obesity* 2012, 473941.
- Elliott, M., and Maher, E.R. (1994). Beckwith-Wiedemann syndrome. *Journal of Medical Genetics* 31, 560–564.

- Ferguson-Smith, A.C. (2011). Genomic imprinting: the emergence of an epigenetic paradigm. *Nature Reviews. Genetics* 12, 565–575.
- Ferguson-Smith, a C., Sasaki, H., Cattanach, B.M., and Surani, M. a (1993). Parental-origin-specific epigenetic modification of the mouse H19 gene. *Nature* 362, 751–755.
- Gajecka, M., Yu, W., Ballif, B.C., Glotzbach, C.D., Bailey, K. a, Shaw, C. a, Kashork, C.D., Heilstedt, H. a, Ansel, D. a, Theisen, A., et al. (2005). Delineation of mechanisms and regions of dosage imbalance in complex rearrangements of 1p36 leads to a putative gene for regulation of cranial suture closure. *European Journal of Human Genetics : EJHG* 13, 139–149.
- Gajecka, M., Mackay, K.L., and Shaffer, L.G. (2007). Monosomy 1p36 deletion syndrome. *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics* 145C, 346–356.
- Gelmini, S., Orlando, C., Sestini, R., Vona, G., Pinzani, P., Ruocco, L., and Pazzagli, M. (1997). Quantitative polymerase chain reaction-based homogeneous assay with fluorogenic probes to measure c-erbB-2 oncogene amplification. *Clinical Chemistry* 43, 752–758.
- Gicquel, C., Rossignol, S., Cabrol, S., Houang, M., Steunou, V., Barbu, V., Danton, F., Thibaud, N., Le Merrer, M., Burglen, L., et al. (2005). Epimutation of the telomeric imprinting center region on chromosome 11p15 in Silver-Russell syndrome. *Nature Genetics* 37, 1003–1007.
- Gillissen-Kaesbach, G., Robinson, W., Lohmann, D., Kaya-Westerloh, S., Passarge, E., and Horsthemke, B. (1995). Genotype-phenotype correlation in a series of 167 deletion and non-deletion patients with Prader-Willi syndrome. *Human Genetics* 96, 638–643.
- Glenn, C.C., Driscoll, D.J., Yang, T.P., and Nicholls, R.D. (1997). Genomic imprinting: potential function and mechanisms revealed by the Prader-Willi and Angelman syndromes. *Molecular Human Reproduction* 3, 321–332.
- Goldstone, A.P. (2004). Prader-Willi syndrome: advances in genetics, pathophysiology and treatment. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 15, 12–20.
- Goll, M.G., and Bestor, T.H. (2005). Eukaryotic cytosine methyltransferases. *Annual Review of Biochemistry* 74, 481–514.
- Gray, T.A., Saitoh, S., and Nicholls, R.D. (1999). An imprinted, mammalian bicistronic transcript encodes two independent proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96, 5616–5621.
- Greer, K.J., Kirkpatrick, S.J., Weksberg, R., and Pauli, R.M. (2008). Beckwith-Wiedemann syndrome in adults: observations from one family and recommendations for care. *American Journal of Medical Genetics. Part A* 146A, 1707–1712.
- Guerrini, R., Carozzo, R., Rinaldi, R., and Bonanni, P. (2003). Angelman syndrome: etiology, clinical features, diagnosis, and management of symptoms. *Paediatric Drugs* 5, 647–661.
- Gunay-Aygun, M., Schwartz, S., Heeger, S., O’Riordan, M. a., and Cassidy, S.B. (2001). The Changing Purpose of Prader-Willi Syndrome Clinical Diagnostic Criteria and Proposed Revised Criteria. *PEDIATRICS* 108, e92–e92.
- Halder, A., Jain, M., Chaudhary, I., Gupta, N., and Kabra, M. (2013). Fluorescence in situ hybridization (FISH) using non-commercial probes in the diagnosis of clinically suspected microdeletion syndromes. *The Indian Journal of Medical Research* 138, 135–142.
- Hao, Y., Crenshaw, T., Moulton, T., Newcomb, E., and Tycko, B. (1993). Tumour-suppressor activity of H19 RNA. *Nature* 365, 764–767.

- Harrington, M.A., Jones, P.A., Imagawa, M., and Karin, M. (1988). Cytosine methylation does not affect binding of transcription factor Sp1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *85*, 2066–2070.
- Hart, H. (2008). “Puppet” children. A report on three cases (1965). *Developmental Medicine and Child Neurology* *50*, 564.
- Hedborg, F., Holmgren, L., Sandstedt, B., and Ohlsson, R. (1994). The cell type-specific IGF2 expression during early human development correlates to the pattern of overgrowth and neoplasia in the Beckwith-Wiedemann syndrome. *The American Journal of Pathology* *145*, 802–817.
- Heilstedt, H. a, Burgess, D.L., Anderson, a E., Chedrawi, a, Tharp, B., Lee, O., Kashork, C.D., Starkey, D.E., Wu, Y.Q., Noebels, J.L., et al. (2001). Loss of the potassium channel beta-subunit gene, KCNAB2, is associated with epilepsy in patients with 1p36 deletion syndrome. *Epilepsia* *42*, 1103–1111.
- Heilstedt, H. a, Ballif, B.C., Howard, L. a, Lewis, R. a, Stal, S., Kashork, C.D., Bacino, C. a, Shapira, S.K., and Shaffer, L.G. (2003a). Physical map of 1p36, placement of breakpoints in monosomy 1p36, and clinical characterization of the syndrome. *American Journal of Human Genetics* *72*, 1200–1212.
- Heilstedt, H.A., Ballif, B.C., Howard, L.A., Kashork, C.D., and Shaffer, L.G. (2003b). Population data suggest that deletions of 1p36 are a relatively common chromosome abnormality. *Clinical Genetics* *64*, 310–316.
- Henkhaus, R.S., Kim, S.-J., Kimonis, V.E., Gold, J.-A., Dykens, E.M., Driscoll, D.J., and Butler, M.G. (2012). Methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification and identification of deletion genetic subtypes in Prader-Willi syndrome. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers* *16*, 178–186.
- Higurashi, M., Oda, M., Iijima, K., Iijima, S., Takeshita, T., Watanabe, N., and Yoneyama, K. (1990). Livebirth prevalence and follow-up of malformation syndromes in 27,472 newborns. *Brain and Development* *12*, 770–773.
- Hintz, R.L. (2002). SHOX mutations. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders* *3*, 363–367.
- Holland, a J., Whittington, J.E., Butler, J., Webb, T., Boer, H., and Clarke, D. (2003). Behavioural phenotypes associated with specific genetic disorders: evidence from a population-based study of people with Prader-Willi syndrome. *Psychological Medicine* *33*, 141–153.
- Hui Ng, H. (2000). Histone deacetylases: silencers for hire. *Trends in Biochemical Sciences* *25*, 121–126.
- Chai, J.-H., Locke, D.P., Grealley, J.M., Knoll, J.H.M., Ohta, T., Dunai, J., Yavor, a, Eichler, E.E., and Nicholls, R.D. (2003). Identification of four highly conserved genes between breakpoint hotspots BP1 and BP2 of the Prader-Willi/Angelman syndromes deletion region that have undergone evolutionary transposition mediated by flanking duplicons. *American Journal of Human Genetics* *73*, 898–925.
- Chan, C.T., Clayton-Smith, J., Cheng, X.J., Buxton, J., Webb, T., Pembrey, M.E., and Malcolm, S. (1993). Molecular mechanisms in Angelman syndrome: a survey of 93 patients. *Journal of Medical Genetics* *30*, 895–902.
- Chedin, F., Lieber, M.R., and Hsieh, C. (2002). The DNA methyltransferase-like protein DNMT3L stimulates de novo methylation by Dnmt3a. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *99*, 16916–16921.
- Choyke, P.L., Siegel, M.J., Craft, A.W., Green, D.M., and DeBaun, M.R. (1999). Screening for Wilms tumor in children with Beckwith-Wiedemann syndrome or idiopathic hemihypertrophy. *Medical and Pediatric Oncology* *32*, 196–200.
- Christian, S.L., Fantes, J. a, Mewborn, S.K., Huang, B., and Ledbetter, D.H. (1999). Large genomic duplicons map to sites of instability in the Prader-Willi/Angelman syndrome chromosome region (15q11-q13). *Human Molecular Genetics* *8*, 1025–1037.

- Ideraabdullah, F.Y., Vigneau, S., and Bartolomei, M.S. (2008). Genomic imprinting mechanisms in mammals. *Mutation Research* 647, 77–85.
- Jackson-Grusby, L., Beard, C., Possemato, R., Tudor, M., Fambrough, D., Csankovszki, G., Dausman, J., Lee, P., Wilson, C., Lander, E., et al. (2001). Loss of genomic methylation causes p53-dependent apoptosis and epigenetic deregulation. *Nature Genetics* 27, 31–39.
- Jaenisch, R. (1997). DNA methylation and imprinting: why bother? *Trends in Genetics* : TIG 13, 323–329.
- Jähner, D., Stuhlmann, H., Stewart, C.L., Harbers, K., Löhler, J., Simon, I., and Jaenisch, R. (1982). De novo methylation and expression of retroviral genomes during mouse embryogenesis. *Nature* 298, 623–628.
- Jauregi, J., Laurier, V., Copet, P., Tauber, M., and Thuilleaux, D. (2013). Behavioral profile of adults with Prader-Willi syndrome: correlations with individual and environmental variables. *Journal of Neurodevelopmental Disorders* 5, 18.
- Ji, Y., Walkowicz, M.J., Buiting, K., Johnson, D.K., Tarvin, R.E., Rinchik, E.M., Horsthemke, B., Stubbs, L., and Nicholls, R.D. (1999). The ancestral gene for transcribed, low-copy repeats in the Prader-Willi/Angelman region encodes a large protein implicated in protein trafficking, which is deficient in mice with neuromuscular and spermiogenic abnormalities. *Human Molecular Genetics* 8, 533–542.
- Jiang, Y., Lev-Lehman, E., Bressler, J., Tsai, T.F., and Beaudet, A.L. (1999). Genetics of Angelman syndrome. *American Journal of Human Genetics* 65, 1–6.
- Jirtle, R., and Weidman, J. (2007). Imprinted and More Equal. *American Scientist* 95, 143.
- Kallioniemi, A., Kallioniemi, O., Sudar, D., Rutovitz, D., Gray, J., Waldman, F., and Pinkel, D. (1992). Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 258, 818–821.
- Kaneda, M., Okano, M., Hata, K., Sado, T., Tsujimoto, N., Li, E., and Sasaki, H. (2004). Essential role for de novo DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. *Nature* 429, 900–903.
- Knoll, J.H., Nicholls, R.D., Magenis, R.E., Graham, J.M., Lalande, M., and Latt, S.A. (1989). Angelman and Prader-Willi syndromes share a common chromosome 15 deletion but differ in parental origin of the deletion. *American Journal of Medical Genetics* 32, 285–290.
- Lam, W.W., Hatada, I., Ohishi, S., Mukai, T., Joyce, J. a, Cole, T.R., Donnai, D., Reik, W., Schofield, P.N., and Maher, E.R. (1999). Analysis of germline CDKN1C (p57KIP2) mutations in familial and sporadic Beckwith-Wiedemann syndrome (BWS) provides a novel genotype-phenotype correlation. *Journal of Medical Genetics* 36, 518–523.
- Lapunzina, P. (2005). Risk of tumorigenesis in overgrowth syndromes: a comprehensive review. *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics* 137C, 53–71.
- Lee, J., Inoue, K., Ono, R., Ogonuki, N., Kohda, T., Kaneko-Ishino, T., Ogura, A., and Ishino, F. (2002). Erasing genomic imprinting memory in mouse clone embryos produced from day 11.5 primordial germ cells. *Development (Cambridge, England)* 129, 1807–1817.
- Lee, M.P., DeBaun, M.R., Mitsuya, K., Galonek, H.L., Brandenburg, S., Oshimura, M., and Feinberg, A.P. (1999). Loss of imprinting of a paternally expressed transcript, with antisense orientation to KVLQT1, occurs frequently in Beckwith-Wiedemann syndrome and is independent of insulin-like growth factor II imprinting. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96, 5203–5208.
- Lewis, a, and Reik, W. (2006). How imprinting centres work. *Cytogenetic and Genome Research* 113, 81–89.
- Li, E., Beard, C., and Jaenisch, R. (1993). Role for DNA methylation in genomic imprinting. *Nature* 366, 362–365.

- Li, M., Squire, J. a, and Weksberg, R. (1997). Molecular genetics of Beckwith-Wiedemann syndrome. *Current Opinion in Pediatrics* 9, 623–629.
- Lichtenstein, J.R., Sundaram, M., and Burdge, R. (1980). Sex-influenced expression of Madelung's deformity in a family of dyschondrosteosis. *Journal of Medical Genetics* 17, 41–43.
- Liu, P., Carvalho, C.M.B., Hastings, P.J., and Lupski, J.R. (2012). Mechanisms for recurrent and complex human genomic rearrangements. *Current Opinion in Genetics & Development* 22, 211–220.
- Lupski, J.R. (1998). Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits. *Trends in Genetics : TIG* 14, 417–422.
- Lupski, J.R., and Stankiewicz, P. (2005). Genomic disorders: molecular mechanisms for rearrangements and conveyed phenotypes. *PLoS Genetics* 1, e49.
- Lyle, R., Watanabe, D., te Vruchte, D., Lerchner, W., Smrzka, O.W., Wutz, A., Schageman, J., Hahner, L., Davies, C., and Barlow, D.P. (2000). The imprinted antisense RNA at the *Igf2r* locus overlaps but does not imprint *Mas1*. *Nature Genetics* 25, 19–21.
- Lyon, M.F. (1961). Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.). *Nature* 190, 372–373.
- Maher, E.R., and Reik, W. (2000). Beckwith-Wiedemann syndrome: imprinting in clusters revisited. *The Journal of Clinical Investigation* 105, 247–252.
- Mainardi, P.C., Perfumo, C., Cali, a, Coucourde, G., Pastore, G., Cavani, S., Zara, F., Overhauser, J., Pierluigi, M., and Bricarelli, F.D. (2001). Clinical and molecular characterisation of 80 patients with 5p deletion: genotype-phenotype correlation. *Journal of Medical Genetics* 38, 151–158.
- Mainardi, P.C., Pastore, G., Castronovo, C., Godi, M., Guala, A., Tamiazzo, S., Provera, S., Pierluigi, M., and Bricarelli, F.D. (2006). The natural history of Cri du Chat Syndrome. A report from the Italian Register. *European Journal of Medical Genetics* 49, 363–383.
- Manning, M., and Hudgins, L. (2010). Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genetics in Medicine : Official Journal of the American College of Medical Genetics* 12, 742–745.
- Martin, R.H., Rademaker, a W., Hildebrand, K., Long-Simpson, L., Peterson, D., and Yamamoto, J. (1987). Variation in the frequency and type of sperm chromosomal abnormalities among normal men. *Human Genetics* 77, 108–114.
- Matsuoka, S., Edwards, M.C., Bai, C., Parker, S., Zhang, P., Baldini, A., Harper, J.W., and Elledge, S.J. (1995). p57KIP2, a structurally distinct member of the p21CIP1 Cdk inhibitor family, is a candidate tumor suppressor gene. *Genes & Development* 9, 650–662.
- Medina, M., Marinescu, R.C., Overhauser, J., and Kosik, K.S. (2000). Hemizyosity of delta-catenin (CTNND2) is associated with severe mental retardation in cri-du-chat syndrome. *Genomics* 63, 157–164.
- Monk, M., Boubelik, M., and Lehnert, S. (1987). Temporal and regional changes in DNA methylation in the embryonic, extraembryonic and germ cell lineages during mouse embryo development. *Development (Cambridge, England)* 99, 371–382.
- Nazlican, H., Zeschnigk, M., Claussen, U., Michel, S., Boehringer, S., Gillessen-Kaesbach, G., Buiting, K., and Horsthemke, B. (2004). Somatic mosaicism in patients with Angelman syndrome and an imprinting defect. *Human Molecular Genetics* 13, 2547–2555.
- Niebuhr, E. (1978). Cytologic observations in 35 individuals with a 5p- karyotype. *Human Genetics* 42, 143–156.



- Ogata, T., Matsuo, N., and Nishimura, G. (2001). SHOX haploinsufficiency and overdosage: impact of gonadal function status. *Journal of Medical Genetics* 38, 1–6.
- Oiglane-Shlik, E., Puusepp, S., Talvik, I., Vaher, U., Rein, R., Tammur, P., Reimand, T., Teek, R., Zilina, O., Tomberg, T., et al. (2014). Monosomy 1p36 - A multifaceted and still enigmatic syndrome: Four clinically diverse cases with shared white matter abnormalities. *European Journal of Paediatric Neurology: EJPN: Official Journal of the European Paediatric Neurology Society* 1–9.
- Okano, M., Xie, S., and Li, E. (1998). Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases. *Nature Genetics* 19, 219–220.
- Peterson, C.L., and Laniel, M.-A. (2004). Histones and histone modifications. *Current Biology: CB* 14, R546–R551.
- Pettenati, M.J., Haines, J.L., Higgins, R.R., Wappner, R.S., Palmer, C.G., and Weaver, D.D. (1986). Wiedemann-Beckwith syndrome: presentation of clinical and cytogenetic data on 22 new cases and review of the literature. *Human Genetics* 74, 143–154.
- Phelan, M.C. (2008). Deletion 22q13.3 syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 3, 14.
- Phelan, K., and McDermid, H.E. (2011). The 22q13.3 Deletion Syndrome (Phelan-McDermid Syndrome). *Molecular Syndromology* 186–201.
- Procter, M., Chou, L.-S., Tang, W., Jama, M., and Mao, R. (2006). Molecular diagnosis of Prader-Willi and Angelman syndromes by methylation-specific melting analysis and methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification. *Clinical Chemistry* 52, 1276–1283.
- Rao, E., Weiss, B., Fukami, M., Rump, A., Niesler, B., Mertz, A., Muroya, K., Binder, G., Kirsch, S., Winkelmann, M., et al. (1997). Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. *Nature Genetics* 16, 54–63.
- Redon, R., Rio, M., Gregory, S.G., Cooper, R. a, Fiegler, H., Sanlaville, D., Banerjee, R., Scott, C., Carr, P., Langford, C., et al. (2005). Tiling path resolution mapping of constitutional 1p36 deletions by array-CGH: contiguous gene deletion or “deletion with positional effect” syndrome? *Journal of Medical Genetics* 42, 166–171.
- Redon, R., Ishikawa, S., Fitch, K.R., Feuk, L., Perry, G.H., Andrews, T.D., Fiegler, H., Shapero, M.H., Carson, A.R., Chen, W., et al. (2006). Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 444, 444–454.
- Reik, W., and Walter, J. (2001). Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nature Reviews: Genetics* 2, 21–32.
- Reik, W., Brown, K.W., Schneid, H., Le Bouc, Y., Bickmore, W., and Maher, E.R. (1995). Imprinting mutations in the Beckwith—Wiedemann syndrome suggested by an altered imprinting pattern in the IGF2–H19 domain. *Human Molecular Genetics* 4, 2379–2385.
- Rivera, R.M., and Bennett, L.B. (2010). Epigenetics in humans: an overview. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity* 17, 493–499.
- Robertson, K.D. (2002a). DNA methylation and chromatin - unraveling the tangled web. *Oncogene* 21, 5361–5379.
- Robertson, K.D. (2002b). DNA methylation and chromatin - unraveling the tangled web. *Oncogene* 21, 5361–5379.

- Robertson, K.D., Uzvolgyi, E., Liang, G., Talmadge, C., Sumegi, J., Gonzales, F. a, and Jones, P. a (1999). The human DNA methyltransferases (DNMTs) 1, 3a and 3b: coordinate mRNA expression in normal tissues and overexpression in tumors. *Nucleic Acids Research* 27, 2291–2298.
- Robinson, W.P., Bernasconi, F., Mutirangura, a, Ledbetter, D.H., Langlois, S., Malcolm, S., Morris, M. a, and Schinzel, a a (1993). Nondisjunction of chromosome 15: origin and recombination. *American Journal of Human Genetics* 53, 740–751.
- Robinson, W.P., Christian, S.L., Kuchinka, B.D., Peñaherrera, M.S., Das, S., Schuffenhauer, S., Malcolm, S., Schinzel, a a, Hassold, T.J., and Ledbetter, D.H. (2000). Somatic segregation errors predominantly contribute to the gain or loss of a paternal chromosome leading to uniparental disomy for chromosome 15. *Clinical Genetics* 57, 349–358.
- Rodenhiser, D., and Mann, M. (2006). Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. *CMAJ : Canadian Medical Association Journal = Journal de l'Association Medicale Canadienne* 174, 341–348.
- Rodriguez-Caballero, a., Torres-Lagares, D., Rodriguez-Perez, a., Serrera-Figallo, M., Hernandez-Guisado, J., and Machuca-Portillo, G. (2010). Cri du chat syndrome: A critical review. *Medicina Oral Patología Oral Y Cirugía Bucal* 15, e473–e478.
- Rountree, M.R., Bachman, K.E., Herman, J.G., and Baylin, S.B. (2001). DNA methylation, chromatin inheritance, and cancer. *Oncogene* 20, 3156–3165.
- Sahoo, T., Bacino, C. a, German, J.R., Shaw, C. a, Bird, L.M., Kimonis, V., Anselm, I., Waisbren, S., Beaudet, A.L., and Peters, S.U. (2007). Identification of novel deletions of 15q11q13 in Angelman syndrome by array-CGH: molecular characterization and genotype-phenotype correlations. *European Journal of Human Genetics : EJHG* 15, 943–949.
- Sarasua, S.M., Boccuto, L., Sharp, J.L., Dwivedi, A., Chen, C.-F., Rollins, J.D., Rogers, R.C., Phelan, K., and Dupont, B.R. (2014). Clinical and genomic evaluation of 201 patients with Phelan-McDermid syndrome. *Human Genetics*.
- Shaffer, L.G., and Lupski, J.R. (2000). Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans. *Annual Review* 34, 297–329.
- Shaffer, L.G., Kashork, C.D., Saleki, R., Rorem, E., Sundin, K., Ballif, B.C., and Bejjani, B. a (2006). Targeted genomic microarray analysis for identification of chromosome abnormalities in 1500 consecutive clinical cases. *The Journal of Pediatrics* 149, 98–102.
- Shapira, S.K., McCaskill, C., Northrup, H., Spikes, a S., Elder, F.F., Sutton, V.R., Korenberg, J.R., Greenberg, F., and Shaffer, L.G. (1997). Chromosome 1p36 deletions: the clinical phenotype and molecular characterization of a common newly delineated syndrome. *American Journal of Human Genetics* 61, 642–650.
- Schaaf, C.P., Wiszniewska, J., and Beaudet, A.L. (2011). Copy number and SNP arrays in clinical diagnostics. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 12, 25–51.
- Scheermeyer, E. (2013). Prader-Willi syndrome - care of adults in general practice. *Australian Family Physician* 42, 51–54.
- Schinzel, a (1988). Microdeletion syndromes, balanced translocations, and gene mapping. *Journal of Medical Genetics* 25, 454–462.
- Schneider, K.U., Sabherwal, N., Jantz, K., Röth, R., Muncke, N., Blum, W.F., Cutler, G.B., and Rappold, G. (2005). Identification of a major recombination hotspot in patients with short stature and SHOX deficiency. *American Journal of Human Genetics* 77, 89–96.

- Schouten, J.P., McElgunn, C.J., Waaijer, R., Zwijnenburg, D., Diepvens, F., and Pals, G. (2002). Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Research* *30*, e57.
- Simmons, A.D., Goodart, S.A., Gallardo, T.D., Overhauser, J., and Lovett, M. (1995). Five novel genes from the cri-du-chat critical region isolated by direct selection. *Human Molecular Genetics* *4*, 295–302.
- Smilnich, N.J., Day, C.D., Fitzpatrick, G. V, Caldwell, G.M., Lossie, A.C., Cooper, P.R., Smallwood, A.C., Joyce, J.A., Schofield, P.N., Reik, W., et al. (1999). A maternally methylated CpG island in KvLQT1 is associated with an antisense paternal transcript and loss of imprinting in Beckwith-Wiedemann syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *96*, 8064–8069.
- Solinas-Toldo, S., Lampel, S., Stilgenbauer, S., Nickolenko, J., Benner, A., Döhner, H., Cremer, T., and Lichter, P. (1997). Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes, Chromosomes & Cancer* *20*, 399–407.
- Stankiewicz, P., and Lupski, J.R. (2002). Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. *Trends in Genetics* : TIG *18*, 74–82.
- Theisen, A., and Shaffer, L.G. (2010). Disorders caused by chromosome abnormalities. *The Application of Clinical Genetics* *3*, 159–174.
- Trask, B.J. (1991). Fluorescence in situ hybridization: applications in cytogenetics and gene mapping. *Trends in Genetics* : TIG *7*, 149–154.
- Veltman, M.W.M., Thompson, R.J., Roberts, S.E., Thomas, N.S., Whittington, J., and Bolton, P.F. (2004). Prader-Willi syndrome--a study comparing deletion and uniparental disomy cases with reference to autism spectrum disorders. *European Child & Adolescent Psychiatry* *13*, 42–50.
- Vissers, L.E.L.M., de Vries, B.B.A., Osoegawa, K., Janssen, I.M., Feuth, T., Choy, C.O., Straatman, H., van der Vliet, W., Huys, E.H.L.P.G., van Rijk, A., et al. (2003). Array-based comparative genomic hybridization for the genomewide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *American Journal of Human Genetics* *73*, 1261–1270.
- Waddington, C.H. (1942). The epigenotype. *Endeavour* 18–20.
- Wang, Q., Curran, M.E., Splawski, I., Burn, T.C., Millholland, J.M., VanRaay, T.J., Shen, J., Timothy, K.W., Vincent, G.M., de Jager, T., et al. (1996). Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias. *Nature Genetics* *12*, 17–23.
- Weber, M., Davies, J.J., Wittig, D., Oakeley, E.J., Haase, M., Lam, W.L., and Schübeler, D. (2005). Chromosome-wide and promoter-specific analyses identify sites of differential DNA methylation in normal and transformed human cells. *Nature Genetics* *37*, 853–862.
- Weise, M., De-Levi, S., Barnes, K.M., Gafni, R.I., Abad, V., and Baron, J. (2001). Effects of estrogen on growth plate senescence and epiphyseal fusion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *98*, 6871–6876.
- Weissmann, F., and Lyko, F. (2003). Cooperative interactions between epigenetic modifications and their function in the regulation of chromosome architecture. *BioEssays* : News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology *25*, 792–797.
- Weksberg, R., Shuman, C., Caluseriu, O., Smith, A.C., Fei, Y.-L., Nishikawa, J., Stockley, T.L., Best, L., Chitayat, D., Olney, A., et al. (2002). Discordant KCNQ1OT1 imprinting in sets of monozygotic twins discordant for Beckwith-Wiedemann syndrome. *Human Molecular Genetics* *11*, 1317–1325.

- Weksberg, R., Hughes, S., Moldovan, L., Bassett, A.S., Chow, E.W.C., and Squire, J.A. (2005a). A method for accurate detection of genomic microdeletions using real-time quantitative PCR. *BMC Genomics* 6, 180.
- Weksberg, R., Shuman, C., and Smith, A.C. (2005b). Beckwith-Wiedemann syndrome. *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics* 137C, 12–23.
- Weksberg, R., Shuman, C., and Beckwith, J.B. (2010). Beckwith-Wiedemann syndrome. *European Journal of Human Genetics : EJHG* 18, 8–14.
- White, T.J., Arnheim, N., and Erlich, H.A. (1989). The polymerase chain reaction. *Trends in Genetics : TIG* 5, 185–189.
- Whittington, J.E. (2001). Population prevalence and estimated birth incidence and mortality rate for people with Prader-Willi syndrome in one UK Health Region. *Journal of Medical Genetics* 38, 792–798.
- Wiedemann, H.-R. (1983). Tumours and hemihypertrophy associated with Wiedemann-Beckwith syndrome. *European Journal of Pediatrics* 141, 129–129.
- Williams, C. a (2005). Neurological aspects of the Angelman syndrome. *Brain & Development* 27, 88–94.
- Williams, C.A., Beaudet, A.L., Clayton-Smith, J., Knoll, J.H., Kyllerman, M., Laan, L.A., Magenis, R.E., Moncla, A., Schinzel, A.A., Summers, J.A., et al. (2006). Angelman syndrome 2005: updated consensus for diagnostic criteria. *American Journal of Medical Genetics. Part A* 140, 413–418.
- Windpassinger, C., Kroisel, P.M., Wagner, K., and Petek, E. (2002). The human gamma-aminobutyric acid A receptor delta (GABRD) gene: molecular characterisation and tissue-specific expression. *Gene* 292, 25–31.
- Wu, Q., Niebuhr, E., Yang, H., and Hansen, L. (2005). Determination of the “critical region” for cat-like cry of Cri-du-chat syndrome and analysis of candidate genes by quantitative PCR. *European Journal of Human Genetics : EJHG* 13, 475–485.
- Xie, S., Wang, Z., Okano, M., Nogami, M., Li, Y., He, W.W., Okumura, K., and Li, E. (1999). Cloning, expression and chromosome locations of the human DNMT3 gene family. *Gene* 236, 87–95.
- Yoder, J. a, and Bestor, T.H. (1998). A candidate mammalian DNA methyltransferase related to pmt1p of fission yeast. *Human Molecular Genetics* 7, 279–284.
- Zhang, A., Zheng, C., Hou, M., Lindvall, C., Li, K.-J., Erlandsson, F., Björkholm, M., Gruber, A., Blennow, E., and Xu, D. (2003). Deletion of the telomerase reverse transcriptase gene and haploinsufficiency of telomere maintenance in Cri du chat syndrome. *American Journal of Human Genetics* 72, 940–948.
- Zhang, F., Carvalho, C.M.B., and Lupski, J.R. (2009). Complex human chromosomal and genomic rearrangements. *Trends in Genetics : TIG* 25, 298–307.
- Zwart, R., Sleutels, F., Wutz, a, Schinkel, a H., and Barlow, D.P. (2001). Bidirectional action of the Igf2r imprint control element on upstream and downstream imprinted genes. *Genes & Development* 15, 2361–2366.

## Seznam webových zdrojů

Catalogue of parent origin effects : <http://igc.otago.ac.nz/home.html>, použito 7. 5. 2014

Medical dictionary : <http://www.medilexicon.com/medicaldictionary.php>