

# 1. Úvod

Aberantní fenotyp může vznikat z mnoha různých příčin, například narušením jednoho určitého genu, fúzí více genů dohromady, efektem polohy nebo odhalením recesivní mutované alely (Emanuel, 2008). Všechny tyto případy nastávají v důsledku chromozomové aberace, tedy změny struktury chromozomu. Přestavby se podle výsledného množství genetické informace dělí na balancované a nebalancované, a podle osudu zasažené oblasti rozlišujeme např. inverze, translokace, delece, duplikace atd. V této práci se budeme zabývat pouze mikrolecemi a mikroduplikacemi.

Ke vzniku reciprokých duplikací a delecí (nemusí se jednat pouze o mikropřestavby) dochází během nerovnoměrného crossing-overu v důsledku nesprávného párování homologických chromozomů nebo chromatid. Většina nalezených delecí a duplikací je ohraničena homologními sekvencemi (LCRs nebo SDs), které jsou dobrým substrátem pro nealelickou homologní rekombinaci (NAHR) – dochází skrz ně k vyštěpení nebo vložení sekvence. Během rekombinace dojde k přiložení nehomologických LCRs (díky vysoké sekvenční podobnosti), k výměně nehomologních úseků a vzniku delece na jednom chromozomu a duplikace na druhém.

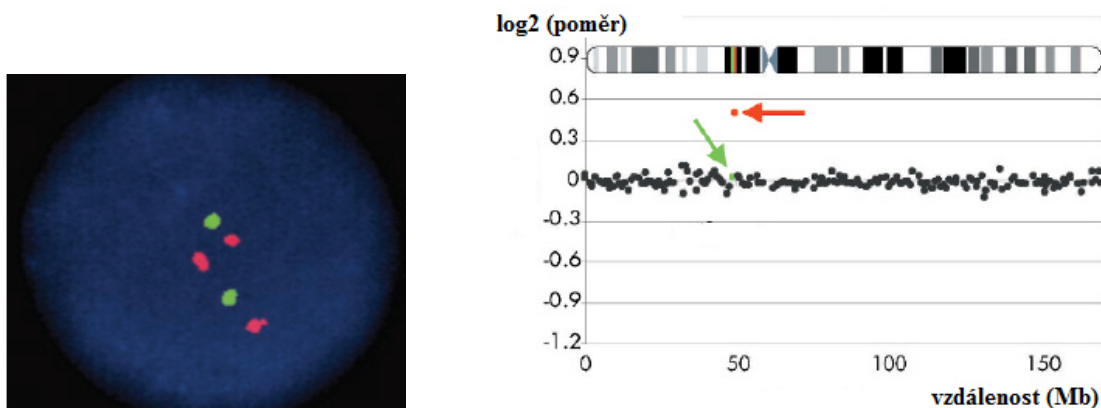
Mikrolece a mikroduplikace se v lidském genomu nevyskytují vzácně, ale zřídka se stane, že je jak delecí, tak duplikací (u různých jedinců), zasažen stejný nebo podobně ohraničený region na stejném chromozomu, přičemž se v obojím případě manifestuje jako genomová porucha, tedy jako zisk nebo ztráta specifické chromozomové oblasti spojené s klinickým genetickým syndromem (Lupski, 1998). Mutované oblasti jsou již z definice velmi malé, nejedná se ale o změny na úrovni sekvence nukleotidů.

Cílem této bakalářské práce je shrnout poznatky o několika vybraných reciprokých mikrolecích a mikroduplikacích nalezených v lidském genomu, popsat jejich fenotypové projevy a posoudit, zda jsou zasažené geny citlivé na počet svých kopií a zda se u pacientů manifestují zrcadlovým (reciprokým) fenotypem.

## 2. Metody detekce chromozomových aberací

Standardně se pro vyšetření karyotypu používají klasické cytogenetické metody jako je pruhování chromozomů, ale vzhledem k jeho malé rozlišovací schopnosti (4 – 10 Mb) (Rosenberg, 2006) nelze takto detekovat mikrolece a mikroduplikace. Pokud cytogenetické metody neodhalí žádnou poruchu v karyotypu, nastupují metody jako fluorescenční in situ hybridizace (FISH) nebo komparativní genomová hybridizace (CGH), které jsou schopné detekovat zmnožení či ztrátu vyšetřovaných lokusů.

Sondy značené fluorescenční barvou (fluorochromem) hybridizují s metafázními chromozomy (z krevních lymfocytů), které jsou denaturovány a ukotveny na mikroskopickém sklíčku. Pokud se na sondy svítí světlem o správné vlnové délce, lze ve fluorescenčním mikroskopu pozorovat emitované barevné světlo a podle typu sondy detekovat genomové sekvence, části ramen, celá ramena nebo chromozomy.



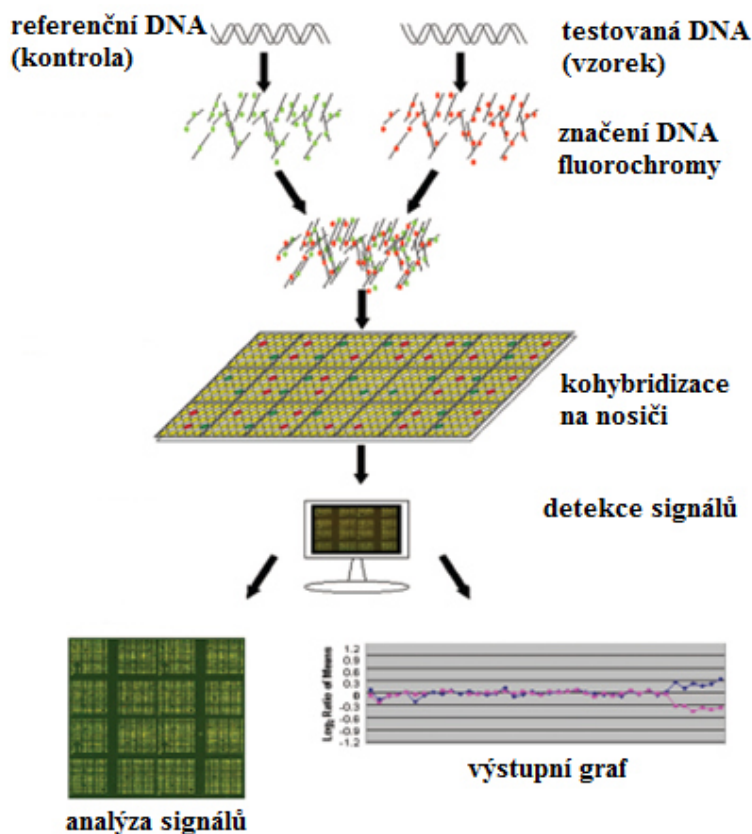
*Obrázek 1a (vlevo):* Analýza chromozomových přestaveb metodou FISH u pacienta s mikroduplikací. Kontrolní sonda je označena zeleně. Testovací sonda (červená) prokázala přítomnost tří kopií regionu 22q11.21 (duplikaci). Na fotografii je interfázní buněčné jádro (Yobb, 2005).

*Obrázek 1b (vpravo):* Graf ukazuje výsledek array CGH s duplikací na chromozomu 6 v oblasti 6p12.3. Červeně je znázorněn testovaný vzorek (duplikace) a zeleně kontrolní sonda (Rosenberg, 2006; upraveno).

Aby bylo možné rozlišit menší úsek chromozomu, například jednotlivé počty genů, používá se komparativní (srovnávací) genomová hybridizace (CGH) nebo její modifikace array CGH, která slouží k porovnávání dvou genomů (studovaný genom s kontrolou). Dvě sady celogenomových sond se označí odlišnou fluorescenční značkou (obvykle červenou a zelenou), smíchají se dohromady a společně hybridizují (kohybridizují) na sekvenční DNA ukotvené na pevném nosiči (mikroskopické sklíčko nebo jiné platformy). V případě klasické CGH se jedná o metafázní chromozomy a v případě array CGH jde o pole (array) sekvencí DNA, které může být tvořeno jednotlivými oligonukleotidy, cDNA nebo genomovými fragmenty naklonovanými do vektorů - např. BAC (bakteriální arteficiální chromozom; uměle vyrobený), plazmid, kosmid (Bejjani, 2006). V klinické diagnostice se nejčastěji používají uměle

vyrobené bakteriální chromozomy, BAC, ale nevýhodou je jejich omezená velikost inzertu 80 - 200 kb. Větší přestavby nebo bodové mutace tak nejsou zjistitelné pomocí tohoto nosiče a je nutné použít jiný. Po hybridizaci se měří výsledný poměr emitované fluorescence jednotlivých vzorků, a pokud se sekvence shodují, bude poměr barev 1:1, zatímco odlišný poměr odráží rozdíly v délce nebo počtu sekvenci (delece, duplikace) (Mefford, 2008). Po hybridizaci je možné úsek osekvenovat a zjistit přesné pořadí nukleotidů a změny.

Výhodou (array) CGH je rychlost, se kterou produkují výsledky. Rozlišovací schopnost této metody je závislá na velikosti cílové DNA a hustotě těchto sekvencí v genomu (jak blízko jsou vedle sebe). Oproti FISH je CGH schopná detekovat přestavby na více místech v genomu současně (Bejjani, 2005). Pomocí array CGH se provádí prenatální vyšetření plodu, kdy je schopná detekovat aneuploidie v DNA vyizolované z 1 ml plodové vody (Rickman, 2006), ale původně byla vyvinuta pro výzkum genomových změn v nádorových buňkách, ze kterých je těžké kultivovat kvalitní metafázni chromozomy (Pinkel, 2005).



Obrázek 2: Schéma metody array CGH (převzato z review Bejjani, 2006; upraveno).

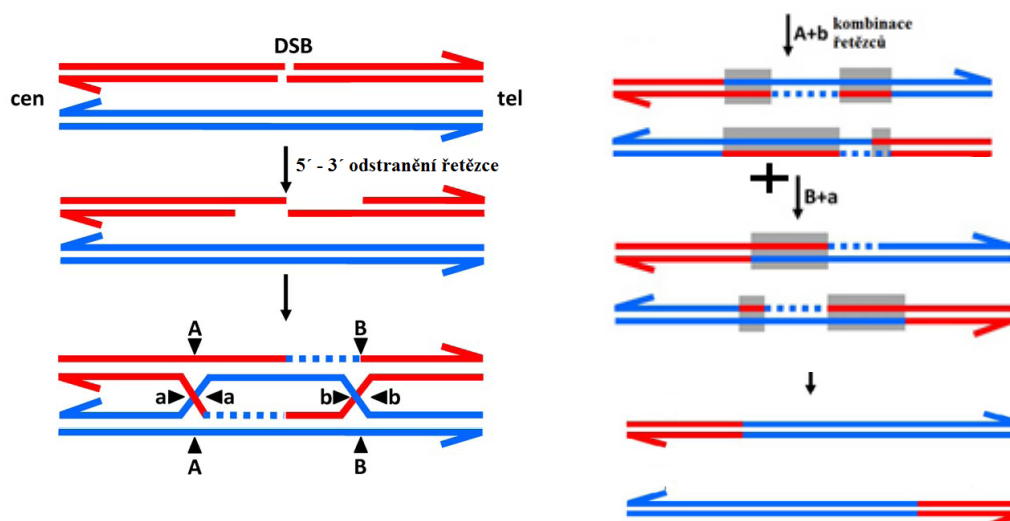
### 3. Chromozomové aberace a nealelická homologní rekombinace

Chromozomové aberace (mutace) představují strukturní změny na chromozomu. Podmínkou pro vznik přestavby je zlom. Důležitým rozdílem je, zda se po změně struktury zachová, ztratí, či zmnoží původní množství genetického materiálu. Pokud se počty genů nezmění, většinou nepozorujeme fenotypové projevy a takové aberace označujeme jako balancované. Změna fenotypu ovšem může nastat, pokud se zlom vytvoří uprostřed genu nebo mezi kódující sekvencí a jejím promotorem. Balancované přestavby nesou riziko vzniku nebalancované mutace v průběhu dalšího meiotického buněčného dělení. Mezi tento typ patří např. inverze a translokace. Pokud dojde k duplikaci (zkopírování) daného úseku (genů) nebo deleci (ztrátě), mluvíme o nebalancovaných aberacích, které mají většinou fenotypové projevy, někdy i závažné až letální (podle konkrétně zasažených genů).

Genetická onemocnění mohou vznikat přestavbou chromozomu, která vede ke změně počtu kopií genů (které jsou citlivé ke genové dávce), jejich narušením nebo fúzí (Gu, 2008). V lidském genomu mohou vzniknout chromozomové aberace několika mechanismy, ale za většinu dosud známých přestaveb je zodpovědná nealelická homologní rekombinace (NAHR; *nonallelic homologous recombination*). Dalším mechanismem je např. spojování nehomologických konců (NHEJ; *nonhomologous end-joining*) nebo špatná replikace, která produkuje samostatné delece, duplikace, inverze, translokace. (Liu, 2012). Model mechanismu NAHR byl navržen před třinácti lety (Stankiewicz, 2002) a předpokládá vznik dvouvláknových zlomů DNA, částečné odstranění jednoho vlákna a invazi přesahu druhého vlákna do molekuly DNA. Vzniká intermediát (dvojitá Hollidayova struktura), který se dále přeměňuje prostřednictvím crossing-overu, čímž produkují delece a duplikace (Kehrer-Sawatzki, 2014).

Obecně jsou pro homologní rekombinaci (AHR, NAHR) důležité specifické nukleotidové sekvence, které přestavbu stimulují a označují se jako horká místa (*hotspots*) rekombinace (Lindsay, 2006; De Raedt, 2006). Ve 40 % horkých míst, vyskytujících se v lidském genomu, byla nalezena sekvence 13 nukleotidů 5'-CCNCCNTNNCCNC-3' (Myers, 2008), která slouží jako vazebné místo pro zinc-finger DNA vazebný protein PRDM9 (*PR domain-containing protein 9*). PRDM9 je považován za faktor určující meiotická rekombinantní horká místa a jeho variabilita ovlivňuje aktivitu těchto míst (Berg, 2010). Nealelická homologní rekombinace (NAHR) je umožněna takovou architekturou, kdy je sekvence ohraničena LCRs (low-copy repeats), které se někdy označují jako segmentové duplikace (SD) (Bailey, 2002; Shaw, 2004) a nesou v sobě horká rekombinační místa. Aby byli páry LCR vhodným substrátem pro NAHR, musí splňovat určitá kritéria ohledně své délky, sekvenční identity či podobnosti a orientace vůči sobě (Ou, 2011). Obvykle sdílejí více než 95 % podobnosti s druhým z páru (Bailey, 2006), což má během dělení za následek párování nealelických kopií a po proběhnutém crossing-overu vznik chromozomových přestaveb v dceřiných buňkách (Gu, 2008). LCRs, měřící průměrně stovky kb, v sobě nesou úsek dlouhý maximálně 500 bp s extrémně vysokou identitou, který se označuje jako MEPS (*minimum efficient processing segment*) (Liskay, 1987; Reiter, 1997).

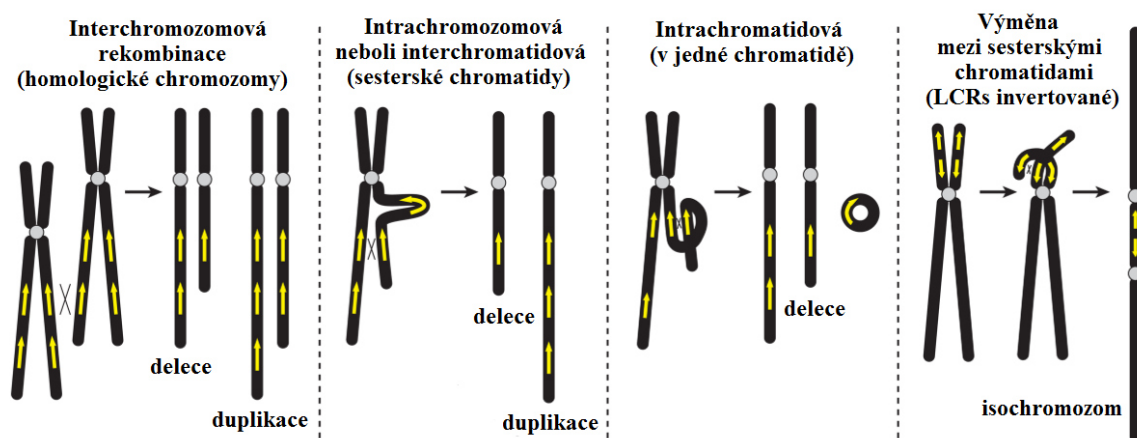
V roce 2006 bylo ze znalosti lidského genomu a pozic LCRs v něm, navrženo kolem sta regionů, které by mohly teoreticky podlehnout přestavbě. Jednotlivé úseky jsou dlouhé od 50 kb do 10 Mb, jsou ohraničeny páry LCRs většími než 10 kb s minimálně 95% sekvenční identitou a neměly by zasahovat centromeru. Mnoho z nich již bylo nalezeno v genomech pacientů s genomovou poruchou (Sharp, 2006; Liu, 2012). Že LCRs zprostředkovávají NAHR a způsobují přestavby vedoucí k onemocněním, bylo prokázáno například u chromozomové oblasti 22q11; 17p11.2 (onemocnění CMT1A); 15q12 (Prader-Williho syndrom); 7q11.23 (Williams-Beurenův syndrom) a 17p11.2 (Smith-Magenisův syndrom).



Obrázek 3: Mechanismus NAHR závislý na opravě dvouřetězcových zlomů (DSB; *double-strand break*). V LCR se vytvoří zlom a následuje krátké 5' - 3' odstranění poškozeného vlákna. Vytvoří se 3' přesah, který invaduje do homologní (vysoce identické) neporušené sekvenční LCR a vytvoří dvojistou Hollidayovu strukturu (dHj; *double Holliday junction*). Pokud se dHj řeší pomocí crossing-overu, jsou možné dva typy křížení vláken. Přerušovaně je znázorněna syntéza řetězce DNA, která probíhá podle druhé alely LCR (na modrém vlákně) (Kehrer-Sawatzki, 2014; upraveno).

Pokud jsou homologické (vysoce identické) LCRs vůči sobě invertované a na stejném chromozomu, produkuje rekombinace inverze, ale pokud se nacházejí na nehomologických chromozomech, vytvoří se translokace (Lupski, 1998). Rekombinace mezi invertovanými LCRs, které leží na sesterských chromatidách, vede ke vzniku izochromozomu, který se vyznačuje částečnou ztrátou jednoho a duplikací druhého raménka a dvěma centromerami, je tedy isodicentromerický a označuje se zkratkou idic. Takový chromozom můžeme často pozorovat u somatických buněk, které podlehli nádorovému bujení (Liu, 2012). V případě, že se LCRs nacházejí v přímé orientaci, mohou přestavby probíhat v rámci jedné chromatidy (intrachromatidově), což vede vždy k delecí, a dále mezi sesterskými chromatidami (interchromatidově nebo také intrachromozomově) nebo mezi homologními chromozomy (interchromozomově) a takto vznikají reciproké delecí a duplikací. Teoreticky by měla být frekvence výskytu delecí vyšší než duplikací (Gu, 2008), ale tato teorie nelze potvrdit ani vyvrátit hned z několika

důvodů. Obě přestavby mohou být letální již ve vývojové fázi zygoty nebo embrya, manifestují se mírným nebo žádným fenotypem a selekce buněk s duplikací může být jinak citlivá než selekce delecí. Ve všech případech nejsou přestavby detekovány a nelze je zahrnout do stanovení frekvence výskytu.



Obrázek č. 4: Znázornění rekombinace mezi homologickými chromozomy, sesterskými chromatidami a v rámci jedné chromatidy za předpokladu, že LCRs jsou v přímé orientaci a mezi sesterskými chromatidami s obrácenou polohou LCRs (Liu, 2012; upraveno).

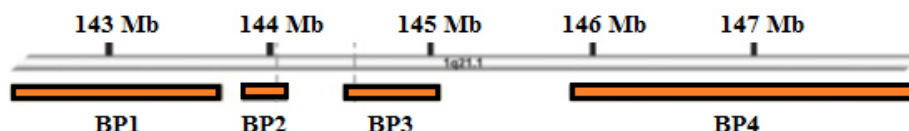
NAHR se vyskytuje během meiotického i mitotického dělení buněk. Pokud proběhne v meióze v zárodečné linii buněk (vajíčko, spermie), jsou vzniklé genomové přestavby přítomny ve všech buňkách organismu, mohou způsobit genomovou poruchu (Turner, 2008) a být předány do další generace potomků. Příkladem významné dědičné genomové poruchy způsobené mechanismem NAHR je reciproká duplikace a delece na krátkém raménku chromozomu 17 způsobující CMT1A (Charcot-Marie-Toothův syndrom typ 1) a HNPP (*hereditary neuropathy with liability to pressure palsy*). Z jedné studie vyplývá, že v mužské zárodečné linii (během spermatogeneze) vznikají delece s dvakrát vyšší frekvencí než duplikace (Turner, 2008), ale jiné studie přicházejí s opačnými výsledky (Lam, 2007). Odlišná frekvence NAHR v průběhu samčí a samičí gametogeneze se odráží také v odlišném podílu chromozomů určitého parentálního původu na vzniku onemocnění, například většina duplikací vedoucích k CMT1A nebo delecí zapříčiňujících spinální muskulární atrofie pochází ze spermie (Lopes, 1997) a naopak většina delecí způsobujících neurofibromatózu typu 1 jsou maternálního původu (López-Correa, 2001). Mitotická NAHR způsobí mozaiku somatických buněk s přestavbou a bez přestavby. Somatické genomové přestavby se často vyskytují u některých druhů rakoviny (Fridlyand, 2006; Darai-Ramqvist, 2008).

Viz příloha č. 1: Schematické znázornění chromozomů s vyznačenými známými mikrodelecemi a mikroduplikacemi.

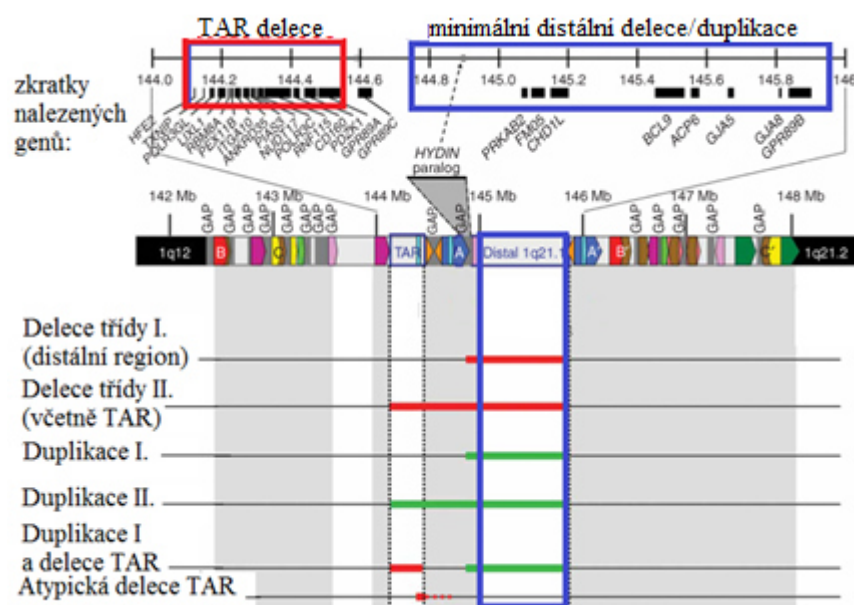
## 4. Reciproké mikrolece a mikroduplikace na lidských chromozomech

### 4.1. Chromozom 1 - oblast 1q21.1

Kritická oblast zkoumaného regionu je dlouhá minimálně 1,35 Mb a zahrnuje asi 12 genů. Celý region obsahuje čtyři body zlomu (*breakpoints*; BP 1 – 4), přičemž většina pacientů s delecí ztratila úsek mezi BP 3 a 4. Nebyly nalezeny výrazné fenotypové rozdíly mezi jedinci s odlišnými deletovanými úseky (Mefford, 2008).



Obrázek 5: Znázornění bodů zlomu v regionu 1q21.1 (Rosenfeld, 2012; upraveno).



Obrázek 6: Schéma chromozomové oblasti 1q21.1. Nalezené geny jsou označeny černými pruhy. Pár velkých přímých repetit, které lemují distální úsek 1q21.2 je označen modrými úseky s písmeny A a A'. Další pár přímých repetit ohraničující 4 Mb oblast je označen červeně s písmeny B a B'. Žluté značky s písmeny C a C' jsou opačně orientované repetice, které ohraničují největší část přestavby (Brunetti-Pierri, 2008; upraveno).

Strukturně se oblast 1q21.1 skládá ze čtyř bloků (segmentů) duplikací (SD) velkých 270 kb až 2,2 Mb. SD jsou podle definice (Mefford, 2008) navzájem shodné ve více než 90 % své sekvence a v genomu přítomné ve dvou a více kopiích, čímž je umožněna a podporována nealelická homologní rekombinace (NAHR) (Sharp, 2005). Pouze 25 % oblasti 1q21.1 je tvořeno unikátními (kódujícími) sekvencemi (Mefford, 2008). Kombinace array-CGH a metody FISH prokázala, že chromozomovou oblast lze podle SD dělit na dvě části a to na proximální a distální (Brunetti-Pierri, 2008).



Podle fenotypu, který způsobují se mikroduplikace/delece dělí do dvou tříd; první třída zahrnuje mutace pouze distálního úseku s telomerickým bodem zlomu, které jsou zodpovědné za špatný vývoj nervové soustavy. Druhá třída obsahuje velké delece distálního i proximálního úseku včetně regionu TAR (Brunetti-Pierri, 2008), které zvyšují citlivost jedince k rozvoji TAR syndromu (*trombocytopenia absent radius; nesrážlivost krve a zkrácená radiální kost*). Čistě proximální mikrodelece je velmi vzácná a k prokázání její škodlivosti by bylo nutno testovat více pacientů. Naopak mikroduplikace proximálního úseku má prokazatelný vliv na fenotyp (Rosenfeld, 2012).

Fenotyp mikrodelece (stejně jako mikroduplikace) je velmi proměnlivý a zahrnuje množství vlastností a projevů – mírná až středně těžká mentální retardace, mikrocefalie, srdeční vady a šedý zákal (katarakt), méně často se vyskytují povolené vazy, hypermobilita a křeče. Reciproká mikroduplikace se projevuje celkovým vývojovým zpožděním (mentální retardací nebo autistickým spektrem poruch), zpomaleným růstem a dysmorfické obličejovými vadami jako např. čelní výrůstek, hluboko posazené oči a baňatý nos (De Vries, 2005; Sharp 2006), u 50 % případů se manifestuje makrocefalie. Často byly pozorovány poruchy chování a problémy s učením (porucha pozornosti, hyperaktivita, úzkost nebo deprese, agrese). Studie mikroduplikací nejsou jasně prokazatelné vzhledem k malému počtu testovaných pacientů a jejich rodičů (Mefford, 2008).

Region obsahuje geny *GJA5* (kódující konexin 40) a *GJA8* (kódující konexin 50), které byly často spojovány s vrozenými vadami srdce (CHDs; *congenital heart defects*) (Greenway, 2009), ale v dalších výzkumech nebyly nalezeny důkazy podporující souvislost těchto genů s CHDs (Mefford, 2008). Meffordem (2008) byl také vyvrácen možný příspěvek metylace DNA, imprintingu a změny genetického pozadí k variabilitě fenotypu. K proměnlivým vlastnostem projevu mikroduplikace mohou přispívat také environmentální faktory jako špatná sociální situace nebo pokrevní příbuznost (Rosenfeld, 2012). Marsell (2008) identifikoval gen *PDZK1* podílející se na tvorbě a funkci urogenitálního systému, jenž reguluje transport na apikální straně buňky v proximálním tubulu nefronu tak, že zvyšuje propustnost pro organický aniont (Anzai, 2004).

Analýza metodou FISH, potvrdila přítomnost genu *HYDIN2* (vyvolávajícího hydrocefalus) v této oblasti mezi BP3 a 4 (Mefford, 2008). Gen se exprimuje zejména v mozku a jeho nedostatek nebo nadměrná exprese má vliv na abnormální velikosti hlavy. *HYDIN2* je ztracen nebo zmnožen u všech studovaných pacientů s mutací v distálním regionu 1q21.1. U jedinců s mutovaným proximálním úsekem chromozomu se velikost hlavy výrazně neliší od normálu (Brunetti-Pierri, 2008).

Studie buněčné linie lymfoblastů (LBCs) se zaměřily na dva geny této oblasti, které jsou kromě dalších genů společné pro všechny postižené: *CHD1L/ALC1* a *PRKAB2*, a provedly analýzu korelace změny genové exprese a počtu kopií CNVs (Harvard; 2011). Gen *CHD1L/ALC1* (nebo jen *CHD1L*) hraje roli v DDR (*DNA damage response*), účastní se remodelace chromatinu během replikace, reparace a transkripce DNA (Deng; 2009). Změna exprese tohoto genu narušuje remodelaci chromatinu během opravy jednovláknové DNA (Ahel, 2009). Byla nalezena další enzymová úloha kódovaného proteinu, a to role v dekatenci DNA během její replikace – topoizomeráza II $\alpha$  tvoří dvouřetězcové DNA zlomy



(DSB) a umožňuje tím rozmotat katenaty. Porucha určení místa, kde má dojít k dekatenačnímu zlomu (DCC – *Decatenation Checkpoint*), vede k rozlámání chromozomu a zvýšení genomové nestability, jejímž důkazem jsou nalezená mikrojádra (Fenech, 2011).

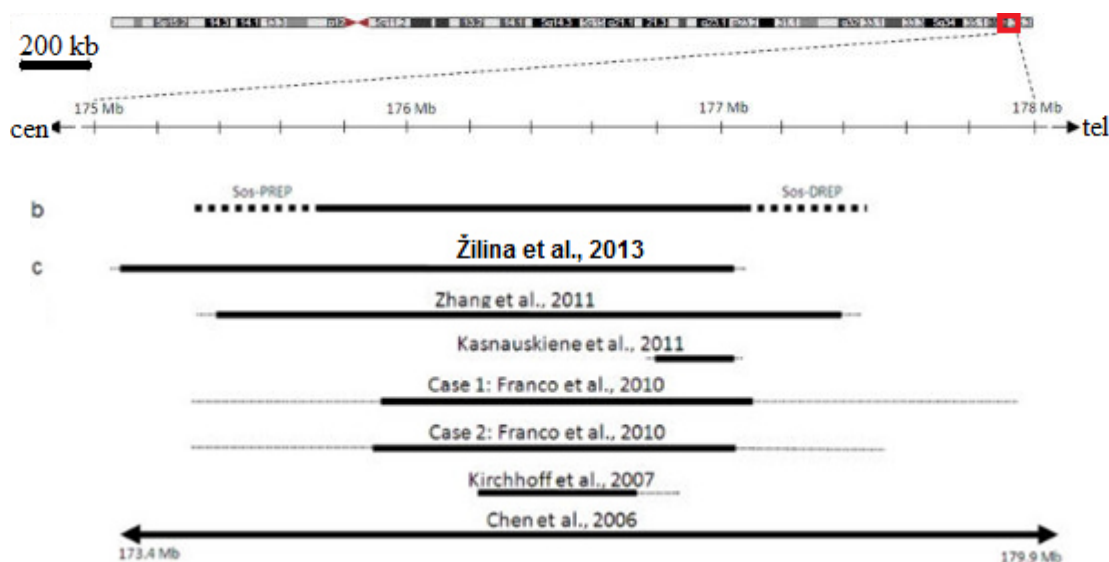
Gen *PRKAB2* je součástí proteinového komplexu AMP-proteinkinázy (AMPK), která reguluje buněčnou a energetickou rovnováhu (regulace příjmu potravy, tělesné hmotnosti, glukózové a lipidové homeostázy) (Kahn, 2005) prostřednictvím negativní regulace mTOR dráhy (kontrola ribozomů a biosyntézy proteinů) (Garelick, 2011). Proteinkináza se skládá ze tří podjednotek a každá má několik izoform. Sledovaný gen kóduje  $\beta$ -2 izoformu regulační podjednotky. AMPK zprostředkovává inhibující fosforylaci serinu na enzymu acetyl-CoA karboxyláze (ACC), který se účastní biosyntézy mastných kyselin. Biosyntéza je zastavena, pokud buňka nemá dostatek energie (převládá koncentrace AMP nad ATP). Fosforyluje také protein RAPTOR, který inhibuje mTORC1 kinázu a zastavuje tak syntézu proteinů a indukuje zastavení buněčného cyklu (opět při nedostatku energie) (Kim, 2002). Role AMPK v mozku nebyla zatím ujasněna, ale byla prokázána účast v dráze mTOR, která je potřebná pro učení a paměť (Qi, 2010). U pacientů s delecí byla detekována snížená proteinová exprese a u buněčné linie s duplikací zase zvýšená. Gen pro izoformu enzymové podjednotky  $\beta$ -1 je lokalizován na chromozomu 12 a tudíž nebyla ovlivněna její funkce. Podle Schuster-Böcklera (2010) je proteinový komplex AMPK citlivý k nerovnováze svých podjednotek a příslušných izoform. Studie delecí prokázala, že snížená hladina AMPK-  $\beta$ -2 podjednotky má souvislost se sníženou stabilitou a funkčností celého komplexu (Harvard, 2011). Duplikace (nadbytek) *PRKAB2* nemá negativní vliv na kinázovou aktivitu. Oba geny jsou tedy citlivé k dávce (dóze).

*De novo* vzniklé mikrolece byly nalezeny, ale duplikace byly vždy děděny od rodičů, což znamená, že nositelé mikroduplikace jsou plodní jedinci schopní reprodukce (Rosenfeld, 2012). Frekvence delecí vzniklých nehomologickou rekombinací je vyšší v mužské zárodečné linii (vznikají během spermatogeneze) (Turner, 2008).

Závěrem výzkumu (Brunetti-Pierri, 2008) zabývajících se tímto kritickým regionem je tvrzení, že fenotyp je podmíněn neúplnou penetrací či variabilní expresivitou. Nedostatek jasně prokazatelných funkcí a vlastností, které by byly charakteristické pro tyto syndromy, komplikuje jejich diagnostiku a genetické poradenství.

## 4.2. Chromozom 5 - oblast 5q35.2 - q35.3

Na dlouhém raménku chromozomu 5 v oblasti 35.2 - 35.3 se nachází až 2,0 Mb dlouhý region, jehož delece je příčinou vzniku Sotosova syndromu (OMIM 117550), který vykazuje autozomálně dominantní dědičnost. Projevuje se nadměrným růstem v dětství, starším kostním věkem než by měl pacient mít, kraniofaciálními abnormalitami, zejména makrocefalií, a poruchou učení (LD; *learning disabilities*) (Sotos, 1964; Tatton-Brown, 2004). Někdy jsou přítomny srdeční vady, defekty ledvin nebo skolióza (Rosenfeld, 2013). Syndrom může být kromě mikrolece způsoben také intragenovou mutací přímo v genu *NSD1* (*Nuclear receptor Set Domain containing protein 1*) nebo částečnou genovou delecí (Kurotaki, 2003). Haploinsuficience (heterozygotní ztráta funkce) tohoto genu byla stanovena jako příčina Sotosova syndromu (Tatton-Brown, 2005). Kvůli ověření tohoto předpokladu byl mutovaný gen vložen do myšího modelu. Myši sice vykazovaly mentální poruchy a abnormality ledvin (Migdalska, 2012) typické pro toto onemocnění, ale nedošlo ke změně velikosti těla ani hlavy, což naznačuje, že *NSD1* má odlišnou funkci v regulaci růstu u myší a lidí (Žilina, 2013).



Obrázek 7: Chromozomová oblast 5q35: (b) znázorněná oblast, která podléhá delecí při vzniku Sotosova syndromu; (c) fragmenty, které byly popsány jako duplikace. Plná čára označuje minimální a přerušovaná čára maximální délku duplikovaného úseku (Žilina, 2013; upraveno).

Pacienti, u kterých syndrom vznikl v důsledku mikrolece celého regionu 5q35.2-3, mají proměnlivější fenotyp než pacienti s bodovou genovou mutací (Kurotaki, 2003), což naznačuje vliv dalších genů nebo jejich citlivost ke genové dávce. Jedinci s mikrolecí zasahující i další geny mají závažnější LD, méně výrazné přerůstání normální výšky postavy a více srdečních anomálií (Saugier-Weber, 2007). Mezi identifikované geny patří i *SLC34A1*, jehož delece způsobuje nefrokalcinózu a/nebo dětskou hyperkalcémii (Kenny, 2011).

Stejně jako řada dalších mikroleceí vzniká i tato nealelickou homologní rekombinací (NAHR), což předpokládá současně vznik reciproké duplikace, jejíž klinický projev byl popsán již v roce 1977 jako Hunter-McAlpinův syndrom (Hunter, 1977). S rozvojem vyšetřovacích technik byla zjištěna genetická podstata onemocnění, která ukázala, že jde o onemocnění způsobené subtelomerickou reciprokou mikroduplikací chromozomového regionu 5q35.2 – 35.3 (Hunter, 2005).

Mikroduplikace se u všech pacientů manifestuje velmi podobnými vlastnostmi, které odpovídají obrácenému fenotypovému projevu (oproti deleci) – malý vzrůst, mikrocefalie, brachydaktylie, zpožděný kostní věk, mírná až středně těžká mentální retardace. Dosud bylo diagnostikováno pouze několik případů této duplikace, což znesnadňuje analýzu genové exprese zasažených genů. U pacientů byly identifikovány reciproké mutace s totožnými i odlišnými body zlomů. Nejmenší nalezená duplikovaná oblast byla dlouhá 520 kb a největší 6,4 Mb (Kirchhoff, 2007). Závažnost fenotypu koreluje s velikostí duplikované oblasti – největší duplikace se projevila i motorickou retardací, šilháním a abnormalitou pátého prstu na ruce (Chen, 2006).

U pacienta s mikroduplikací byla diagnostikována i kraniosynostóza (předčasné uzavření lebečních švů, které způsobuje charakteristicky zdeformovanou lebku). Tato porucha se vyskytuje i samostatně (ne jako součást syndromu) a je způsobena mutací v genu *MSX2* (Jabs, 1993). Genová duplikace vložená do myšího modelu se manifestovala stejnou poruchou jako u lidí (Liu, 1995), což potvrdilo účast genu *MSX2* na fenotypu. Tuto teorii narušila chromozomová analýza, která odhalila duplikaci nepoškozující gen *MSX2*, u pacienta s kraniosynostózou. Buď došlo k poruše nekódující regulační oblasti distálně od genu a pozměnila se míra genové exprese (Ott, 2012) nebo je kraniosynostóza až sekundární projev vzniklý v důsledku mikrocefalie způsobené duplikací genů distálně od *NSD1*. Při ztrátě funkce nebo delece *MSX2* během vývoje lebky dojde ke zpožděnému uzavírání lebečních fontanel (Gajecka, 2005). Gen *NSD1* je transkripční faktor, který řídí expresi dalších genů: ovlivňuje metyltransferázu histonových lyzinů a tím reguluje uspořádání chromatinu během transkripce (Huang, 1998). Dále pomáhá regulovat správnou expresi kostního morfogenetického proteinu 4 (Lucio-Eterovic, 2010).

Stejně jako u mikrolece může být fenotyp mikroduplikace ovlivněn i dalšími geny v regionu 5q35.2 - q35.3. Anomálie prstů jsou zapříčiněny nadměrnou expresí genu *PDLIM7*, který kóduje protein Pdlim7 vážící k sobě aktin a protein Tbx5, současně představuje transkripční faktor pro vývoj srdce, končetin a tvorbu kostí (Camarata, 2006). Interakce proteinů Pdlim7 a Tbx5 byla prokázána na zvířecích modelech, a tak potvrzena účast *PDLIM7* na srdečních defektech. Pacient s tetrasomií regionu 5q35 (oblast zduplikována na velikost 6,6 Mb) vůbec nevyvinul palec na ruce (Sellars, 2011). Heterozygotní nedostatečnost *TBX5* je známá také u Holt-Oramova syndromu, který se projevuje charakteristickými anomáliemi palce na ruce a srdečními defekty (Basson, 1997). Na morfologii kostí mají kromě *PDLIM7* vliv také další geny včetně *NSD1*. Tato teorie je podpořena nálezem duplikace, která nezahrnovala *PDLIM7*, nicméně pacient vykazoval zkrácené prsty a loketní kost.

Na růstové retardaci se může podílet gen *ZNF346*, který kóduje RNA-vazebný protein (zinc finger) a jehož nadměrná exprese spouští apoptózu (Yang, 1999), která vysvětluje zpomalený růst. Transkripční represor *ZNF354C* se podílí na diferenciaci osteoblastů, jeho nadměrná exprese způsobuje přeměnu chrupavky v kost a zastavení růstu (Jheon, 2009). Pro osteoblasty je důležitá také MAP kináza 9, která předává signály v pozdní fázi jejich diferenciaci, při nadměrné expresi kinázy dojde ke zvýšenému ukládání minerálů do kosti (Matsuguchi, 2009). V regionu 5q35 byl také nalezen gen pro pozitivní regulátor růstu (Lazarus, 2007), ale z jeho funkce není pravděpodobné, že by duplikací genu došlo ke zpomalení růstu.

Podle Crespiho (2010) dochází u reciprokých mutací, které mají vliv na výšku, růst a velikost hlavy, ke korelaci právě mezi velikostí hlavy a fenotypem projevujícím se změnou chování nebo pozměněným mentálním stavem. Zvětšená hlava je spojována s autistickým spektrem poruch a naopak jedinci s menším obvodem hlavy jsou často postiženi schizofrenií.

### **4.3. Chromozom 7 - oblast 7q11.23**

Mechanismem vzniku reciprokých chromozomových aberací v regionu 7q11.23 je opět nealelická homologní rekombinace (NAHR) zprostředkovaná vysoce homologními úseky DNA (LCRs), které ohraničují postižený úsek (Lowery, 1995). Rekombinace probíhá jak intrachromozomálně tak interchromozomálně během meiózy. Nejčastějším nepatologickým důsledkem tohoto mechanismu jsou inverze, jejichž nosiči jsou bez příznaků, ale mají vyšší riziko další meiotické nehomologní rekombinace, která by produkovala gamety s možností vzniku mikrodelece (Scherer, 2005).

Mikrodelece v regionu 7q11.23 byla objevena v roce 1993 a stanovena jako příčina Williams-Beurenova syndromu (WBS; MIM 194050) (Ewart, 1993). Kritická oblast je u 95 % pacientů dlouhá 1,55 Mb, v dalších studiích byla nalezena deletovaná oblast velká 1,29 Mb, 1,84 Mb a 2,36 Mb (Pober, 2008; Todorova, 2014). Dochází ke ztrátě přibližně 26 až 28 genů (Schubert, 2009), podle toho, který z telomerických zlomových bodů je dotčen. Deletovaná oblast je ve všech případech ohraničena stejným centromerickým bodem zlomu, ale telomerické body byly nalezeny dva. Mikrodelece vzniká na mateřském i otcovském chromozomu se stejnou frekvencí (Pober, 2008).

Syndrom způsobený mikrolecí byl popsán poprvé v roce 1961 na čtyřech pacientech (Williams, 1961), a o rok později na dalších jedenácti (Beuren, 1962) a nazván po svých objevitelích Williams-Beurenův syndrom. V celosvětové populaci bez ohledu na etnickou skupinu se vyskytuje s frekvencí 1/10 000 živě narozených (Stromme, 2002). U jedinců s WBS se typicky vyskytují kardiovaskulární onemocnění (zejména arteriopatie), mají charakteristické rysy obličeje (rozštěp patra, předkus, mírná hypoplazie, výrazné rty), které se s věkem mění (Morris, 1988; Axelsson, 2005). K častým fenotypovým projevům patří také endokrinní problémy (hyperkalcémie, porucha metabolismu glukózy a hypotyreóza), dentální anomálie (abnormálně tvarované malé zuby, někdy až jejich absence), ztuhlost kloubů, skolióza, ztráta sluchu a neurologické problémy (Morris, 1988). Projevuje se mírná až středně těžká mentální

retardace, pacienti jsou emotivní, přátelští a sociální, ale zároveň trpí úzkostí, různými fobiemi a tendencemi k opakujícím se myšlenkám a chování (perseverativní chování) (Cherniske, 2004). Obvykle se vyskytuje poškození oka, mezi nejčastější defekty patří šilhání (až 78 % pacientů) zejména dětská dědičná forma esotropie a hvězdovitý tvar duhovky (Winter, 1996).



Obrázek 8: Fotografie pacienta s Williams-Beurenovým syndromem. Na fotografii vlevo je pacient ve věku 15 měsíců, uprostřed stejný pacient ve třech letech a vpravo ve 21 letech. Můžeme pozorovat měnící se rysy obličeje, přetrvávají pouze široká ústa a plné rty (Pober, 2008).

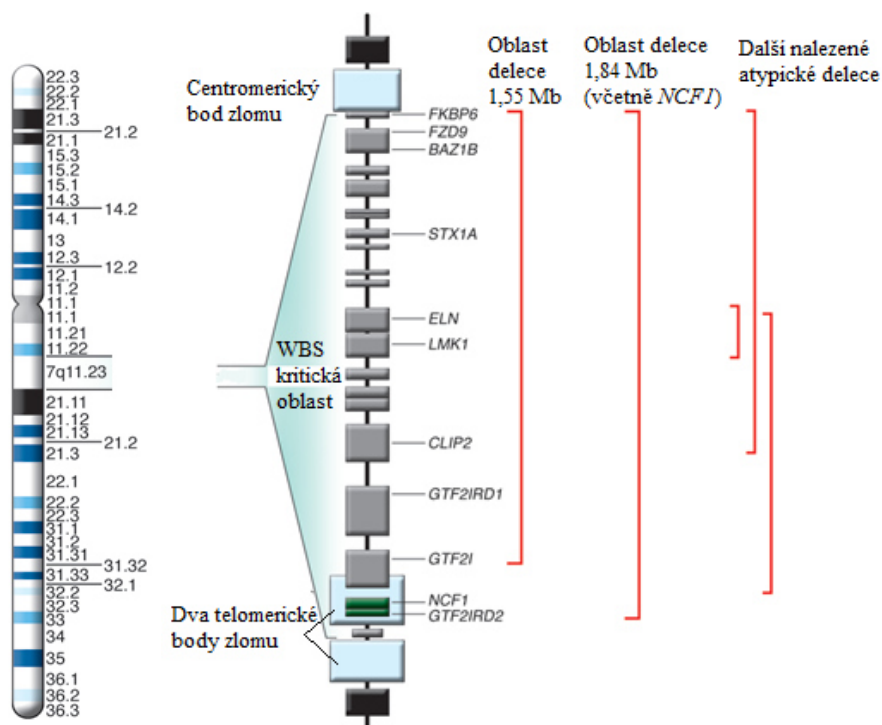
Podobnou patologii pojivových tkání vykazuje familiární SVAS (*supravalvular aortic stenosis syndrome*; OMIM 185500), který je způsoben stejně jako WBS poruchou funkce genu *ELN*, ale neprojevují se u něj neurobehaviorální, metabolické, endokrinní, vývojové a některé kraniofaciální charakteristiky typické pro WBS. Familiární SVAS není mikroleční syndrom, ale je způsoben translokací chromozomové oblasti s *ELN* (Curran, 1993), delecí (Ewart, 1993; Olson, 1993) nebo bodovou mutací v *ELN* (Urbán, 2000). Studie tohoto příbuzného ale geneticky odlišného onemocnění pomohly k pochopení molekulární podstaty WBS (Perou, 1961). Studie genu *ELN*, nalezeného v kritické oblasti pro vznik WBS, prokázaly, že jeho mutace jsou příčinou jak familiární SVAS (Curran, 1993; Olson, 1993), tak Williams-Beurenova syndromu (Ewart, 1993). Hemizygotní ztráta alely *ELN* je považována za nejdůležitější genetickou změnu, která se vyskytuje u této mikrolece (Pober, 2008).

Gen *ELN* kóduje prekursorový protein tropoelastin, ze kterého vznikají v extracelulární matrix elastinová vlákna, jednotlivé izoformy elastinu jsou produktem alternativního sestřihu mRNA (Kielty, 2006). Syntéza elastických vláken vrcholí v době pozdního fetálního a perinatálního období a kromě *ELN* vyžaduje celou řadu dalších genů (Kelleher, 2004).

Jakákoli mutace *ELN* způsobí poruchu na různých úrovních biosyntézy elastinu a elastických vláken (Urbán, 2000). Mutace *ELN* způsobuje kromě snížené syntézy elastinu také zvýšenou proliferaci buněk hladkého svalstva cév a fibroblastů (Urbán, 2002). Elastin je důležitý pro terminální diferenciaci a klidový stav buněk hladkého svalstva cév (Li, 1998). Fibroblasty a buňky hladkého svalstva izolované od pacientů se SVAS, vykazaly zvýšenou proliferaci nepřímo úměrnou k množství syntetizovaného elastinu (Urbán, 2002), z čehož vyplývá, že *ELN* je negativním regulátorem buněčné proliferace.

Ztráta nebo špatná funkce elastinu se manifestuje jako generalizovaná arteriopatie, která se projevuje stenózou velkých a středně velkých elastických tepen a hypertenzí. SVAS (*supravalvular aortic stenosis syndrome*) se u pacientů s WBS projevuje zejména jako lokalizované poškození supravulvárního úseku aorty a plicních cév (Pober, 2008). Několik pacientů (s WBS nebo familiárním SVAS) má závažnější difúzní formu arteriopatie, která se označuje jako syndrom střední aorty (*middle aortic syndrome*) a projevuje se stenózou hrudní a břišní části aorty, mezenterických tepen a renální tepny, hypertrofií levé komory a hypertenzí (Scheiber, 2006). Méně často (27 % případů) se vyskytuje poškození koronárních tepen (Kim, 1999). Všichni pacienti vykazují abnormality cév na histologické úrovni (Pober, 2008).

Haploinsuficience *ELN* je hlavní příčina kardiovaskulárního onemocnění u pacientů s WBS, což bylo potvrzeno také na zvířecích modelech. Myši s homozygotní inaktivací *ELN* umíraly v časném postnatálním období na cévní okluze (uzavření), které byly způsobeny zvýšenou subendoteliální proliferací buněk hladkého svalstva. Úhynu těchto myší zabráňuje transgenní exprese elastinu, která také snižuje krevní tlak. Tento výsledek přináší možnost jak regulovat syntézu dostatečného množství elastinu a tím předcházet arteriopatii. Dosud ale není jasné, zda se tato metoda dá použít i k léčbě již propuknuvšího onemocnění (Pober, 2008). Myši nesoucí heterozygotní delecii *ELN* měly vysoký krevní tlak a zvýšenou tuhost tepen, ale nedošlo k tvorbě cévních stenóz. Hypertenze (charakteristický rys arteriopatie, která je způsobena nedostatkem elastinu) vznikla vývojovou adaptací kvůli udržení funkčního průsvitu cév a dostatečnému prokrvení.



Obrázek 9: Znázornění chromozomu 7 a kritického regionu 7q11.23 pro vznik WBS s označenými geny, které byly popsány. Červeně je vyznačen rozsah nalezených delecí (Pober, 2008; upraveno).

Kvůli kardiovaskulárním poruchám mají pacienti s WBS 25 – 100 násobně zvýšené riziko náhlého úmrtí oproti běžné populaci (Wessel, 2004). Mezi pacienty se závažným poškozením cév a srdce vyžadujícím chirurgický zákrok se ve 45 % případů vyskytla ischemická choroba srdeční (Stamm, 1999). Jsou vedena úmrtí související se sníženým srdečním výdejem, který byl způsoben spojením vlivu anestetik a abnormalitou koronárních tepen. Kromě srdečních a cévních abnormalit jsou poškozením genu *ELN* vysvětleny také charakteristické poruchy v oku (Lowery, 1995). Elastin, který je tímto genem kódován, je součástí kolagenní pojivové tkáně, která se vyskytuje v duhovce. Nedostatečnost elastinu způsobuje hvězdovitý tvar duhovky až u 50 % pacientů (Vogiatzis, 1994).

Reciproké mikroduplikace regionu 7q11.23 způsobují syndrom (OMIM 609757), který nevykazuje žádné charakteristiky typické pro WBS. Byl popsán až v roce 2005 u pacientů se zpožděným vývojem řeči (Berg 2007). *De novo* vzniklé mikroduplikace dlouhé 1,4 Mb, jsou spojovány s mentálním postižením, vývojovým zpožděním, autismem (Sanders, 2011) a v současné době i se schizofrenií (Mulle, 2014). Fenotypově se projevují hypotonií, vrozenými srdečními vadami, někdy epilepsií a špatnou sociální komunikací typickou pro autistické spektrum poruch (ASD) (Kirov, 2012). V oblasti 7q11.23 byly nalezeny CNVs (*copy number variants*), které až desetkrát zvyšují riziko vzniku schizofrenie (Mulle, 2014). Některé z těchto CNVs se s vyšší frekvencí vyskytují i u pacientů s mentálním postižením, autismem a epilepsií (Crespi, 2010), což naznačuje, že by autismus a schizofrenie mohli mít stejnou etiologii a že tyto CNVs (v oblasti 3q23; 22q11) vykazují vysokou patogenitu (Grozeva, 2012).

Jelikož schizofrenie postihuje 1 % populace po celém světě (Gottesman, 1982), je snaha zkoumat chromozomové strukturní rozdíly u schizofrenických pacientů a najít genetické faktory, které zvyšují nebo podmiňují vznik tohoto onemocnění. Bylo nalezeno několik CNVs, které se v genomu pacientů vyskytují zmnoženy a více jak deset specifických CNVs již bylo prohlášeno za rizikové faktory schizofrenie – např. delece v oblasti 22q11; 1q21; 15q11 a 15q13 a čtyři různé duplikace v oblasti 16p11 (Stefansson, 2008; Rujescu, 2009). V duplikované oblasti 7q11.23 bylo nalezeno šest různých CNVs větších než 500 kb.

Podle fenotypu, který vykazuje WBS, by mohl existovat i kvantitativní vztah pro genovou dávku oblasti 7q11.23 a verbální a sociální dovednosti. Pro pochopení odlišných projevů mikrolece a duplikace jsou nutné ještě další studie chromozomové oblasti a zasažených genů (Mulle, 2014).



#### 4.4. Chromozom 16 - oblast 16p11.2 až 12.2

Krátké raménko chromozomu 16 obsahuje mnoho segmentových duplikací a homologních sekvencí (LCRs, CNVs), které předurčují tento úsek ke zvýšené náchylnosti ke strukturním přestavbám. Během evoluce primátů došlo k intenzivnímu zmnožení a tvorbě těchto duplikací do takové míry, že v současné době tvoří na krátkém raménku více než 10 % euchromatinu (Martin, 2004). Jednotlivé bloky duplikací obsahují několik jednotek repetice a označují se jako LCR16a až LCR16t, jsou dlouhé 20 – 600 kb a sdílejí 97 % sekvenční podobnosti (Johnson, 2006). LCR16 podporují nealelickou homologní rekombinaci (NAHR), která je zodpovědná za většinu z chromozomových aberací včetně mikrodellece a její reciproké mikroduplikace.

V oblasti 16p11.2-12.2 byly nalezeny 7,1 – 8,7 Mb dlouhé delece, které jsou zodpovědné za vznik mikrodlečného syndromu (OMIM 613604). Ten se typicky projevuje drobnými změnami obličejových rysů (zejména plochým obličejem, tenkým horním rtem, oční štěrbinou směřující dolů), špatným přijímáním potravy, závažným vývojovým zpožděním, špatným vývojem řeči a opakujícími se ušními infekcemi. Někteří jedinci trpí úzkostí, hyperaktivitou, neudrží pozornost, jsou podrážděni a introvertní (Ballif, 2007; Hempel, 2009).



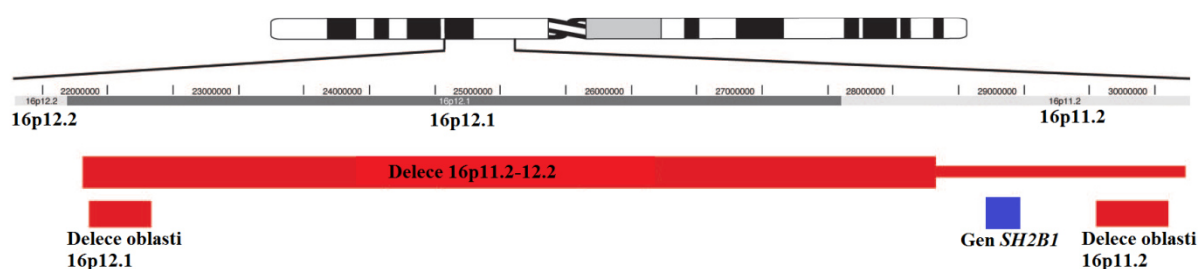
Obrázek 10: Fotografie japonských pacientů a typickými dysmorfiemi obličeje. První dva snímky (zleva) ukazují pacienta s mikrodlečím oblasti 16p11.2-12.2. Snímek vpravo ukazuje pacientku z duplikací stejné oblasti: kulatý obličej, plochý kořen nosu, plné tváře, široká rýha od horního rtu k nosu (*philtrum*) a špičatá brada (Okamoto, 2014).

Jedním z nalezených genů v tomto regionu je *OTOA*, který při heterozygotní ztrátě funkce může způsobit poruchy sluchu. Druhým genem je *CD19*, který je zřejmě zodpovědný za ušní infekce (u pacientů nebyly nalezeny imunologické abnormality, které by mohly infekce způsobit) (Hempel, 2009). Poškozený gen *SH2B1* je spojován s raným nástupem obezity (Walters, 2010), ale ne vždy se tento znak projeví, jelikož pacienti zejména v dětském věku mají problémy s příjmem potravy. *SH2B1* kóduje adaptorový protein, který hraje roli v signální dráze leptinu a inzulinu. Byla prokázána podobnost mezi fenotypem, který se projevuje při deficitu leptinového receptoru a fenotypem, který vykazují pacienti s delecí *SH2B1* (Bochukova, 2010).

Reciproké mikroduplikace regionu 16p11.2-12.2 jsou dlouhé 6,7 – 7,8 Mb a byly nalezeny u některých pacientů s autismem, který byl také důvodem jejich vyšetření (Barber, 2013). Duplikace byly popsány jako nový syndrom projevující se autistickým spektrem poruch (ASD) a dysmorfii (Okamoto, 2014). Duplikace se dále manifestují mírně opožděným vývojem, špatnou sociální komunikací a interakcemi, mírným až těžkým mentálním postižením (fenotyp charakteristický pro autismus) a dysmorfii obličeje (kulatý obličej, plochý kořen nosu, plné tváře, špičatá brada, relativní makrocefalie) (Ballif, 2007; Barber, 2013; Tabet, 2012).

Proximální bod zlomu se může u jednotlivých mikroduplikací lišit. Pokud duplikace nezasáhne oblast 16p11.2, která nese rizikové faktory pro vznik ASD a gen *SH2B1*, jsou její fenotypové projevy mírnější. Studie prokázaly, že zvýšená exprese genů z oblasti 16p11.2 výrazněji přispívá k autistickému spektru poruch (Okamoto, 2014). Což potvrzuje nález duplikace dlouhé až 8,95 Mb, která zasáhla jak region 16p11.2-12.2, tak sousední proximální úsek p11.2, tento pacient vykazoval těžké mentální postižení a autismus (Tabet, 2012).

Vzhledem k menšímu rozsahu duplikací (oproti delecím), je většinou zasažen i menší počet genů, podle umístění proximálního bodu zlomu mohou být geny *SH2B1*, *ATP2A1* a *CD19* vynechány z duplikované oblasti. Poškozený gen *ATP2A1* byl nalezen u autozomálně recesivní Brodyho myopatie, která se projevuje zhoršenou svalovou relaxací (OMIM 601003). Genové produkty CD19 se účastní signalizace B-lymfocytů. Homozygotní ztráta *CD19* se manifestuje deficitem protilátek. Zvýšená dávka genu *PLK1* (*polo-like kinase 1*) má vliv na vývoj neuronů a velikost hlavy. Stejně jako v případě mikrolece i mikroduplikace vznikají *de novo*, nebyly diagnostikovány u žádných rodičů pacientů (Okamoto, 2014).

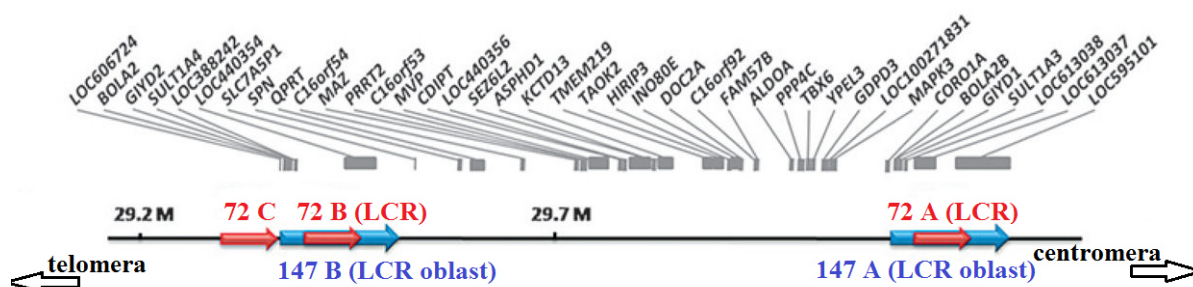


**Obrázek 11:** Ideogram chromozomu 16 s vyznačenou oblastí 16p12.2-p11.2. Nejdelším červeným obdélníkem je vyznačen úsek nejčastější delecce, distální ohraničení (bod zlomu) delecí je vždy stejné, proximální konce se liší (znázorněno tenčím červeným pruhem). Modrým čtvercem je označena pozice genu *SH2B1* a menšími červenými obdélníky další nalezené delecce (Bachmann-Gagescu, 2010; upraveno).

Vedle tohoto poškozeného úseku byly nalezeny 1,7 Mb dlouhé mikrolece, konkrétně v proximálnějším regionu 16p11.2 a popsány jako nový mikroleční syndrom (MIM 611913) spojený s autismem, vývojovým zpožděním a obezitou (Bochukova, 2010). Delece byly nalezeny u 1 % autistických pacientů (Fernandez, 2010), jsou dědičné paternálně i maternálně a mohou vznikat *de novo*. Body zlomu leží v segmentových duplikacích, které se skládají z repetitivních bloků DNA velkých 36 kb a s 99 % sekvenční identity. Bez ohledu na velikost delece se vždy u jejich nositelů projevuje vývojové zpoždění a mentální postižení, což byla indikace pro jejich vyšetření, a panovalo přesvědčení, že fenotyp je výsledkem již dříve popsané mikrolece celého regionu 16p11.2 až 12.2. Dřívější nástup obezity spojený s poruchou genu *SH2B1* je zde potvrzen hodnotami BMI, které se u většiny pacientů nacházejí nad 95. percentilem. Souvislost mezi mikrolecemi a obezitou potvrdil i fakt, že pacienti se zděděnou aberací zahrnující *SH2B1* ji zdědili od svých obézních rodičů (Bachmann-Gagescu, 2010). Vztah se zkoumal také pomocí myši s heterozygotní ztrátou *SH2B1*, které manifestovaly obezitu a těžkou inzulinovou rezistencí (Ren, 2007).

Mikroduplikace regionu 16p11.2 byla nalezena také u pacientů s autismem, ale jejich výška a váha nedosahovala zdaleka tak vysokých hodnot jako u nositelů delece. U jednoho z pacientů se váha dostala pouze k pátému percentilu a výšky k padesátému. Hodnoty BMI se pohybovaly velmi variabilně, ale nestouply k percentilu značícímu obezitu. Fenotypově se tato aberace projevuje srdečními abnormalitami, zejména defektem komorového septa, dilatací levé komory, přítomností foramen ovale, dále mikrocefalií a dlouhými prsty na ruce i nohou. Z hodnot výškových percentilů je vidět zpožděný růst (Bachmann-Gagescu, 2010).

V postiženém chromozomovém regionu byl nalezen gen *TUFM* (mitochondriální elongační faktor), jehož homozygotní ztráta se projevuje dětskou encefalopatií (Valente, 2007). Fenotyp s duplikací genu *SH2B1* se většinou výrazně neliší od kontrolní skupiny, což naznačuje, že se u tohoto genu neprojevuje citlivost k nadměrné expresi jeho produktu. Tato teorie zatím nebyla prokázána kvůli nedostatku pacientů nesoucích mikroduplikace (Bachmann-Gagescu, 2010).



Obrázek 12: Schéma oblasti 16p11.2. Doposud nalezené geny seřazeny podle pořadí, jaké mají na chromozomu 16. Modré a červené šipky představují velké LCR rodiny; modré šipky označují LCR dlouhé 147 kb, v přímé orientaci s 99,6% sekvenční identitou; červené šipky jsou LCR dlouhé 72 kb, také v přímé orientaci, s 98,6% identitou (Shinawi, 2010; upraveno).

#### 4.5. Chromozom 16 - oblast 16p13.11

U pacientů s mentální retardací (MR), mnohočetnými vrozenými anomáliemi (MCA; *multiple congenital anomalies*) a autickým spektrem poruch se často vyskytují duplikace a delece na chromozomu 16 v oblasti 16p13.11. Mikroduplikace a delece dlouhé 1,5 – 1,65 Mb zahrnující asi 15 genů představují predispozice pro rozvoj autismu a/nebo mentální retardace, ale samy nejsou schopné onemocnění způsobit (Ullmann, 2007; Hannes, 2009). Zlomové body se nacházejí v chromozomových ostrovech bohatých na klastry LCR16 (Johnson, 2006). Většina pacientů měla distální i proximální body zlomů lokalizované stejně.

Mezi fenotypové projevy způsobené mikrodelecí 16p13.11 patří mikrocefalie a další anomálie mozku, které vedly k předčasnému úmrtí plodu, epilepsie, menší vzrůst, prenatální rozštěp patra a méně často také mírná mentální retardace a obezita. Mikrodelece, na rozdíl od duplikací, nebyly nalezeny u žádného kontrolního vzorku, podle čehož by se dalo usuzovat, že jsou vždy zodpovědné za aberantní fenotyp, zejména mentální retardaci a MCA (Hannes, 2009).

Naopak mikroduplikace oblasti 16p13.11 se vyskytovaly v kontrolních souborech se skoro stejnou frekvencí jako u jedinců vykazujících onemocnění. Fenotyp, za který jsou duplikace zodpovědné, je zřejmě slučitelný s takovým fenotypem, který zůstane bez povšimnutí nebo je duplikace skutečně klinicky benigní a manifestuje se pouze v kombinaci s dalším rizikovým faktorem pro vznik mentální retardace (Hannes, 2009) nebo při odhalení jiné mutované alely (Lesnik Oberstein, 2006). Duplikace byly nalezeny i u ostatních příslušníků z rodiny pacienta s autismem, tudíž se předpokládá jejich dědičnost, ale nedochází vždy ke stejným fenotypovým projevům u jednotlivých členů rodiny. Někteří nositelé duplikace jsou zdraví nebo postižení pouze lehce. Za variabilní fenotyp způsobený mikroduplikací 16p13.11 může zřejmě i pohlaví rodiče, od kterého byla duplikace zděděna, neboť podle jedné ze studií se duplikace výrazně manifestuje, pokud byla zděděna od matky. Tento trend vykazuje také duplikace na dlouhém raménku chromozomu 15, kde je prokázána asociace aberace s autismem pouze po mateřské linii (Ullmann, 2007).

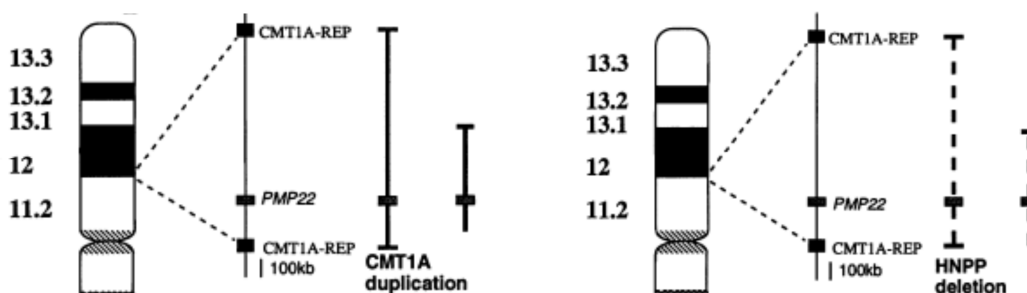
Genové produkty genu *NDE1*, který se exprimuje zejména v mozku a byl nalezen v oblasti 16p13.11 (Luttik, 1998), interagují s kinázou MAPK1, která hraje roli v synaptické plasticitě (Ratto, 2006) a s produkty genu *LIS1*, který je citlivý ke genové dávce a je důležitý pro migraci nervových buněk a rozvoj mozku; jeho mutace jsou prokázány u Miller-Dikerova syndromu lisencefalie (OMIM 247200) (Hannes, 2009). Myší modely s homozygotní ztrátou *NDE1* vykazovaly prokazatelně zmenšený mozek (Feng, 2004), což odpovídá faktu, že pacienti s mikrodelecí trpí mikrocefalií a naopak 20 – 30 % autistických pacientů (nesoucích duplikace) má zvětšený mozek (Ullmann, 2007). Je tedy důležité kolik kopií genu *NDE1* se v genomu nachází (Hannes, 2009). Dalším z genů tohoto regionu je *NTANI* (*asparagine-specific N-terminal amidase*), který kóduje N-terminální asparagin amidázu (Grigoryev, 1996) a je zapojen do procesů sociálního chování, učení a paměti (Balogh, 2001). Myší modely s poškozeným genem změnily své sociální chování a paměť (Kwon, 2000) Tento gen se nachází ve velkém klastru LCRs, což ho předurčuje k častějším přestavbám, než geny v jiných lokusech.

Mezi pacienty s přestavbami v regionu 16p12-p13 byly nalezeny také dvě větší aberace. Duplikace dlouhá 3,4 Mb zahrnovala typický region 16p13.1, ovšem sahala o jeden LCR16 bod dál v proximálním směru a obsahovala 12 genů. Mikrodelece dlouhé 1,6 a 2,1 Mb zahrnovaly pouze 2 geny a nacházely se mezi druhým a třetím LCR16 klastrem. Oba typy aberací byly zděděny od fenotypově zdravé matky (Hannes, 2009).

#### 4.6. Chromozom 17 - oblast 17p11.2

V roce 1886 bylo nezávisle na dvou místech v Evropě popsáno onemocnění periferní nervové soustavy, které vede k atrofii svalstva, podle objevitelů dostalo název Charcot-Marie-Toothův syndrom, ve zkratce CMT (Charcot a Marie, 1886; Tooth, 1886). Fenotypově se začíná projevovat mezi desátým a dvacátým rokem života jako distální svalová atrofie nejdříve nohou a později i rukou, areflexií a deformovanou chůzí. Podle elektrofyziologických a patologických studií se CMT dělí na dva základní typy. Typ 1 (CMT1) představuje demyelinizující formu onemocnění (MIM 118200), která napadá nejdříve gliové podpůrné buňky, čímž ničí Schwannovy buňky, které jsou zodpovědné za vedení vzruchu v periferních nervech. Tím dojde ke snížení rychlosti nervového vedení (NCV). Typ 2 (MIM 118220) neboli axonální typ (CMT2) se neprojevuje sníženou NCV, ale ztrátou myelinu, kdy dojde k poškození axonálního zapojení mezi jednotlivými nervy nebo nervy a cílovou tkání.

Na základě molekulárního studia sekvence genomu se odhalila duplikace v proximálním úseku krátkého raménka chromozomu 17 v oblasti p11.2. Jedné se konkrétně o úsek dlouhý 1,4 Mb ohraničený 24kb přímými LCR (*low copy repeats*) repeticemi označenými jako CMT1A-REPs (Reiter, 1997). Kromě těchto již dříve nalezených repetit, byly objeveny další tři LCR. Za distálním koncem rizikové oblasti se nachází LCRA2 velká 11 kb a uvnitř oblasti (také distálně) její shodná (97 % homologie) obrácená kopie. Na proximální straně před rizikovou sekvencí se nachází LCRB zkrácená pouze na 4 kb.

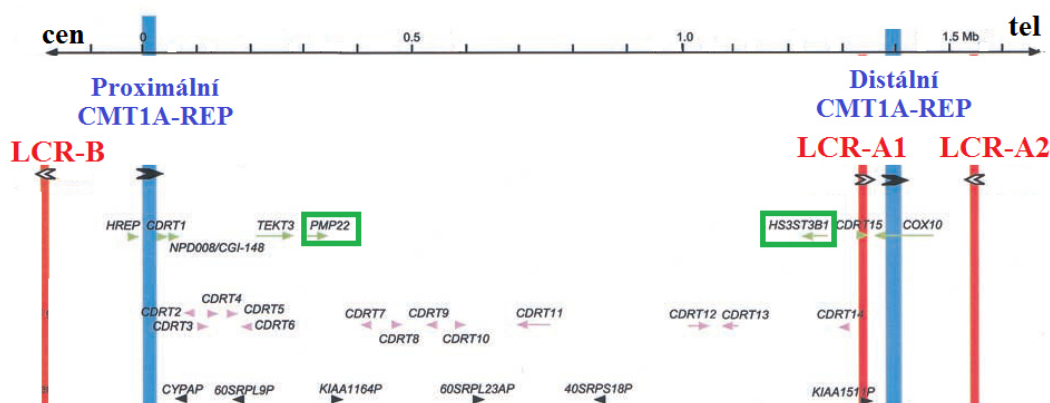


*Obrázek 13:* Ideogram krátkého raménka chromozomu 17 s pruhy znázorněnými G barvením. Podrobněji zobrazená oblast na rozhraní pruhu 11.2 a 12 ukazuje rizikovou oblast pro vznik CMT duplikace /HNPP delecí ohraničenou repetitami (Lupski, 1998).

Homologní repetice (REPs) na okrajích sledované oblasti jsou substrátem pro nerovnoměrnou rekombinaci (Chen, 1997) – výměnu nesesterských chromatid. Duplikace vznikají mnohem častěji v průběhu spermatogeneze a jsou tedy většinou zděděny paternálně (Blair, 1996). Tímto mechanismem vznikají jak duplikace, tak reciproční přestavby - delece (Pentao, 1992), které byly popsány jako příčina dědičné neuropatie odpovědné za ochrnutí (tlakovou obrnu), ve zkratce HNPP (MIM 162500; *hereditary neuropathy with liability to pressure palsy*). HNPP se projevuje mírnou senzickou a motorickou neuropatií s opakujícími se stavy necitlivosti, svalové slabosti a atrofie svalů (Chance, 1994).

Fenotypové projevy CMT/HNPP jsou různorodé, protože ve sledované oblasti, dlouhé 1,4 Mb, se nachází velký počet genů a lokusů. Podle Shy (2002) bylo k roku 2002 identifikováno 21 genů, které jsou spojeny s CMT. K různorodosti CMT přispívá také fakt, že mutace segregují podle několika Mendelovských vzorů dědičnosti – nejčastěji jsou hlášeny případy s autozomálně dominantní dědičností, méně často s recesivní.

Molekulární studie rizikové oblasti prokázaly přítomnost několika významných genů, mezi které patří *PMP22*. Kóduje periferní myelinový protein 22 a je zamapován zhruba do středu rizikové oblasti (Matsunami, 1992). Gen je velký 35 kb a skládá se ze čtyř kódujících a dvou alternativně využívaných exonů (Sabéran-Djoneidi, 2000). Přepisuje se směrem k telomeře. Z 30 – 50 genů z oblasti 11.2 (Murakami 1997) je pouze *PMP22* citlivý na genovou dávku – nadměrná exprese proteinu při duplikaci způsobuje CMT1 a monosomická nedostatečnost genu se projevuje jako HNPP (Lupski 1995). Většina genů, které byly v tomto regionu nalezeny, je exprimována zejména v embryonálním období, ale zatím nebyl prokázán jejich přímý vliv na rozvoj onemocnění (Inoue, 2001).



**Obrázek 14:** Genomová sekvence oblasti 17p12 (CMT1A duplikace/HNPP delece). Modré svislé čáry představují CMT1A-REPs (proximální a distální) a červené svislé čáry označují místa nově objevených LCR (A1 uvnitř, A2 a B vně). Zelené šipky označují směr transkripce genů se známou funkcí, fialové představují geny s pravděpodobnou funkcí a černě jsou znázorněny pseudogeny (Inoue, 2001; upraveno).

Gen *HS3ST3B1*, který se také nachází v oblasti 17p12, kóduje jednu ze tří izoform enzymu, účastnícího se biosyntézy heparansulfátu (heparansulfát-sulfotransferáza). Enzym velký 390 aminokyselin katalyzuje připojování sulfátu na heparin (Liu, 1999), tato reakce je důležitá pro následující vazbu heparansulfátu ke specifickému proteinu a regulaci biologických procesů jako např. antikoagulace nebo angiogeneze (Rosenberg, 1997). Změny v genové dávce *HS3ST3B1* nemají ve většině případů vliv na biosyntézu heparansulfátu, protože existují další izoformy enzymu (paralogy genu), které jsou schopné ho zastoupit jako např. forma 3A1 s podobnou tkáňovou expresí a vlastnostmi (Inoue, 2001).

K dalším významným genům patří gen kódující myelin P<sub>0</sub> (*MPZ*) nebo konexin, který je součástí gap junction mezi neurony (Cx32) (Warner, 1996). Bodové mutace v genu *MPZ* a *PMP22* byly nalezeny u pacientů s jiným neuropatologickým onemocněním projevujícím se také ztrátou myelinové pochvy na nervech – Dejerine-Sottasovým syndromem (DSN). U CMT (CMT4A) byly identifikovány také bodové nebo posunové (generující stop kodon) mutace v genu *GADP1* (*ganglioside induced differentiation-associated protein 1*) kódujícím protein exprimovaný v centrálním i periferním nervovém systému se zatím neupřesněnou funkcí. Podle Cuesta (2002) by měl mít podobnou funkci jako glutathion-S-transferáza. Mutace jsou dědičné, ale mohou vznikat také *de novo* (Claramunt, 2005).

#### 4.7. Chromozom 17 - oblast 17q11.2

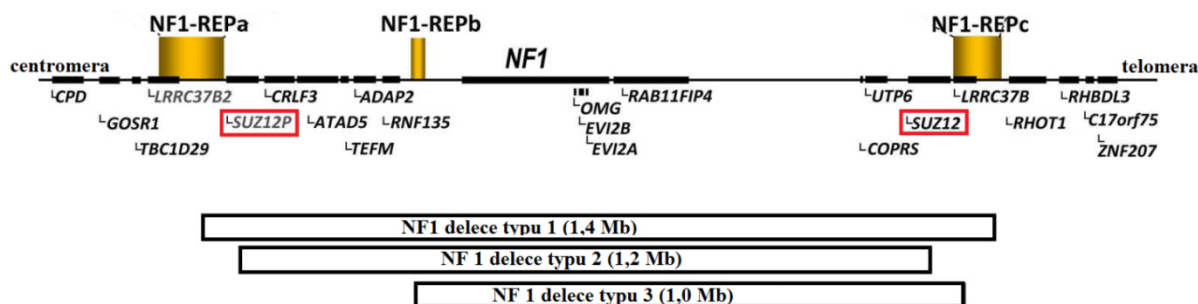
V regionu 17q11.2 se nachází gen *NF1*, jehož mutace způsobují onemocnění, které se ve zkratce značí stejně jako gen a nazývá se neurofibromatóza typu 1 (NF1; MIM 162200). NF1 vykazuje autozomálně dominantní typ dědičnosti a typicky se projevuje neurofibromy, tj. skvrnami barvy bílé kávy na kůži (CALS; café au lait spots), axiálními a/nebo tříselnými pihami a Lischovým uzlíkem (nodus) na duhovce v oku (Kehrer-Sawatzki, 2014), někdy těžkým vývojovým zpožděním, dysmorfii obličeje a kardiovaskulárními poruchami (Mautner, 2010). Vyskytuje se u jednoho z 60 000 živě narozených jedinců. Toto onemocnění se manifestuje vždy v plném fenotypu, dosud nebyly hlášeny případy zdravých nositelů delece v *NF1*.

Neurofibromatóza typu 1 vzniká buď intragenovou mutací v genu *NF1*, nebo v 5 % případů mikroleceí regionu 17q11.2, který tento gen obsahuje (Kluwe, 2004), a pak se řadí do skupiny genomových poruch vyvolaných aberantními rekombinacemi mezi segmentovými duplikacemi (Bengesser, 2010). Pacienti s touto delecí mají až o 13 % vyšší riziko vzniku zhoubných nádorů (De Raedt, 2003) a projevují se výraznější dysmorfie obličeje (Mautner, 2010).

Podle bodů zlomů se mikrolece v oblasti 17q11.2 rozděluje do tří typů. Nejčastějším prvním typem (70 – 80 % případů NF1 způsobených mikroleceí) je mikrolece zahrnující 1,4 Mb oblast se 14 geny (Dorschner, 2000) a s body zlomů v LCR označovaných jako NF1-REPa a REPC (Messiaen, 2011). V místech REP byla nalezena horká místa pro rekombinaci dlouhá pouze 2,2 kb, která se nazývají paralogní rekombinační místa 1 a 2 (PRS1, PRS2) (Forbes, 2004). Delece typu 2 se vyskytují u 10 – 20 % pacientů s NF1, jsou dlouhé 1,2 Mb, zahrnují 13 genů a body zlomů jsou umístěny v genu *SUZ12*



a jeho pseudogenu *SUZ12P* (*suppressor of zeste 12*), které jsou lokalizované poblíž REPa a REPC. U toho typu byl, na rozdíl od typu 1 a 3, identifikován i postzygotický původ, kdy vzniká mozaika s normálními zdravými buňkami (Roehl, 2010). Mikrodelece typu 3 dlouhé 1,0 Mb se vyskytují vzácně maximálně u 4 % pacientů (Zickler, 2012). Jejich body zlomů byly nalezeny ve vysoce homologních místech oblasti REPb a REPC a zahrnují devět genů (Bengesser, 2010). Všechny tři typy mikrodelecí vznikají nejčastěji nealelickou homologní rekombinací (NAHR).



Obrázek 15: Schéma chromozomové oblasti 17q11.2 zahrnující gen *NF1*: Znázorněny tři typy delecí, jejich rozsah na chromozomu a body zlomů v NF1-REPa až c (Kehrer-Sawatzki, 2014; upraveno).

Vůči mikrodeleci typu 1 byly popsány reciproké 1,4 Mb dlouhé mikroduplikace, jejichž zlomové body byly opět lokalizovány v REPa a REPC (Kehrer-Sawatzki, 2014). V současnosti jde pouze o 22 popsanych případů NF1 duplikací, ale vzhledem k mírnému či žádnému fenotypu může jít o aberaci vyskytující se se stejnou frekvencí jako její reciproká delece. Žádný z pacientů s duplikací nevykazoval znaky charakteristické pro onemocnění NF1 (skvrny barvy bílé kávy, pihy, neurofibromy), ale nespecifické vývojové zpoždění a mentální postižení (které nelze jednoznačně připsat duplikacím), malý vzrůst, mikrocefalii, křeče. U několika pacientů se manifestovaly atypické CALS (s nepravidelnými okraji a nehomogenní pigmentací), pihy a Lischův nodus, který byl důvodem ke genetickému vyšetření (Moles, 2012).

Výskyt CALS je spojován s nejméně 21 dalšími patologickými stavy (Ponti, 2012). Pro diagnostikování NF1 je stanoven jejich počet na šest. Za vznik skvrn barvy bílé kávy je zodpovědná intragenová mutace v genu *NF1*, takže se CALS mohou a nemusí manifestovat u nositelů duplikace. Záleží, zda je duplikovaný gen dále mutován nebo nikoli. U žádného pacienta se neukázal neurofibrom či jiný typ nádoru, z čehož se usuzuje, že zasažené geny nejsou citlivé na zvýšení dávky. V regionu 17q11.2 bylo nalezeno 14 genů kódující proteiny a pět genů kódujících mikroRNA (Kehrer-Sawatzki, 2014).

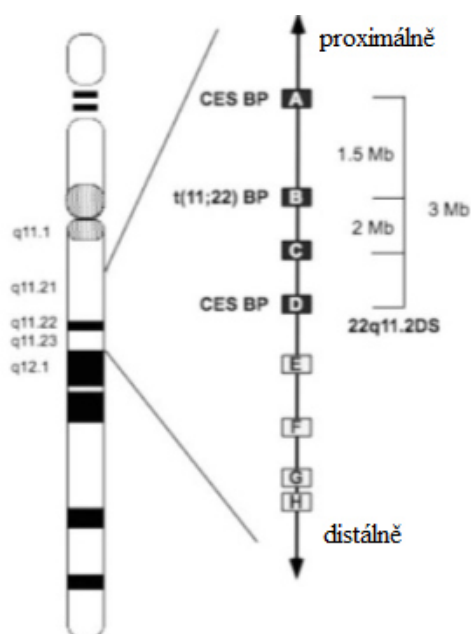
#### 4.8. Chromozom 22 - oblast 22q11.2

Na chromozomu 22 se nachází oblast 22q11.2, která je velmi náchylná ke strukturním chromozomovým přestavbám, jelikož obsahuje několik bloků LCR (*low-copy repeats*) (Ensenauer, 2003), které jsou díky vysokému stupni sekvenční podobnosti (až 98 %) (Shaikh, 2000) dobrým substrátem pro nealelickou homologní rekombinaci (NAHR). K vyšší frekvenci vzniku chromozomových přestaveb přispívají také palindromatické AT-bohaté repetice, které se v blocích LCR vyskytují (Gotter, 2007). Výsledkem NAHR může být delece, duplikace a inverze (Shaffer, 2000; Feuk, 2006). Tyto přestavby mohou způsobit chybné párování a následný nerovnoměrný crossing-over či rekombinaci mezi homologními chromozomy nebo sesterskými chromatidami (Emanuel, 2008). Takto vzniká duplikace, která se částečně překrývá s rizikovou oblastí pro vznik DG/VCFS a je zodpovědná za syndrom kočičího oka (CES, Cat Eye; MIM 115470), který je způsoben změnou genové dávky (McDermid, 2002). Pacienti, u kterých byla nalezena velká duplikace zahrnující kritickou oblast jak pro CES tak pro DG/VCFS syndrom, vykazovali fenotyp typický spíše pro syndrom kočičího oka (Knoll, 1995). Nestabilitu chromozomové oblasti 22q11.2 dokládá také vznik translokace, která se manifestuje jako Emanuelův syndrom (MIM 609029) (Zackai, 1980).

V regionu 22q11.2 byly nalezeny čtyři velké LCRs (LCR22A až D, od proximálního k distálnímu) a čtyři menší LCRs (LCR22E až H), které leží distálně od LCR22D. Všechny mohou být součástí bodů zlomu a způsobit různě velké přestavby, podle toho, který bod je účasten na nerovnoměrné rekombinaci (Shaikh, 2007).

Nerovnoměrnou rekombinací v regionu 22q11.2 vznikají mikrolece (Saitta, 2004), které jsou s frekvencí výskytu 1 : 4 000 – 6 000 živě narozených dětí nejčastěji detekovanými delecemi u člověka (Shaffer, 2000; Kato, 2003), a většina z nich vzniká *de novo*. Deletovaná oblast je u 85 % pacientů dlouhá 3 Mb (Emanuel, 2008) a tuto délku nikdy nepřesahuje, což nasvědčuje tomu, že v oblasti rozsáhlejší delece by se vyskytovaly geny, u kterých není tolerována snížená genová dávka (Kato, 2003). U většiny pacientů (3Mb delece) je region ohraničen LCR22A a LCR22D. Minimum pacientů nese menší, 1,5 Mb dlouhou, deleci ohraničenou LCR22A a LCR22B. Jsou popsány také mikrolece, u kterých LCR22D vystupuje jako proximální bod zlomu a LCR22E až H jako distální bod (Ben-Shachar, 2008). Tyto přestavby se týkají oblasti 22q11.21 až 11.23 a zahrnují gen *BCR*. Pacienti vykazují fenotyp podobný syndromu DG/VCFS. Mikrolece oblasti 22q11.21 způsobuje syndrom DG/VCFS (DiGeorgeův syndrom, MIM 188400/velokardiofaciální syndrom, MIM192430), který se projevuje velofaryngeální nedostatečností, „nosovou“ řečí, rozštěpem patra, charakteristickými rysy obličeje, srdečními vadami, poruchou učení a chování (Swillen, 1999). U některých pacientů došlo ke ztrátě thymu a projevu hypokalcémie.

Duplikovaný region v oblasti 22q11.21 je dlouhý nejčastěji 3 Mb, někdy 4 Mb nebo i 6 Mb (ten zahrnuje oblast 22q11.21 až 23) a většina z doposud identifikovaných vznikla *de novo* (Ensenauer, 2003). Nejčastěji duplikovaná 3Mb oblast odpovídá deletovanému úseku, který způsobuje syndrom DG/VCFS. LCRs lemují duplikovanou oblast a fungují opět jako body zlomu, tudíž jsou zodpovědné za přestavbu v chromozomu (Edelmann, 1999; Shaffer, 2000; Shaikh, 2000). Proximální (centromerický) bod zlomu je shodný u většiny pacientů, ale distální bod byl nalezen ve třech různých místech (Ensenauer, 2003). Fenotypově se mikroduplikační syndrom manifestuje mírnými až těžkými projevy. Často se vyskytují kardiovaskulární defekty (Fallotova tetralogie, hypoplazie levého srdce), rozštěpy patra a charakteristické dysmorfie obličeje (výše položené obočí, široké oční štěrby, dlouhý úzký obličej), u 70 % případů velofaryngeální nedostatečnost (Edelmann, 1999). U menšího procenta pacientů dochází ke ztrátě sluchu nebo nedoslýchavosti, ztrátě thymu i k předčasnému úmrtí v důsledku mnoha těžkých vývojových vad. U několika pacientů se projeví defekty srdce (*conotruncal heart defects*) typické spíše pro pacienty s mikrodelečním syndromem (DG/VCFS) (Emanuel, 2001), stejně tak byla pozorována deformace patra, aplázie thymu a tendence k velofaryngeální nedostatečnosti (Ensenauer, 2003).



**Obrázek 16:** Ideogram chromozomu 22 s vyznačenou oblastí 22q11.2. Černé obdélníky představují LCRs (LCR22A – D), u kterých byla prokázána účast na chromozomových přestavbách. Bílé obdélníky označují LCRs (E-F), které se do přestaveb zapojují jen výjimečně (do duplikací). Vysvětlivky: CES BP – místa zlomů, které způsobují syndrom kočičího oka; t(11;22) BP – bod zlomu, který je zodpovědný za translokaci a Emanuelův syndrom; 22q11.2DS – souhrnné označení pro mikrodeleční syndromy, které jsou způsobeny delecemi v tomto regionu (Emanuel, 2008).

Kromě duplikace byla analyzována také triplicace oblasti 22q11.21 – pacienti nesli čtyři alely jednoho lokusu, tudíž dvě kopie stejného chromozomového úseku navíc (Yobb, 2005), ale nebyl u nich diagnostikován odlišný nebo závažnější fenotyp než u pacientů s duplikací. U pacientů s intersticiální mikroduplikací nebo duplikací zahrnující velký chromozomový úsek se manifestoval fenotypový znak syndromu kočičího oka – šikmé oční štěrby. Dosud žádná studie nemá výsledky, které by podpořily korelaci mezi velikostí duplikované oblasti a závažností fenotypu. U těchto onemocnění se zřejmě neprojevuje změna genové dávky, ale mechanismy jako genetické a environmentální interakce nebo imprinting.

Mikroduplikace regionu 22q11.2 jsou hlášeny vzácně, ale podle některých studií jsou duplikace stejně časté jako delece. Duplikace se musí diagnostikovat metodou FISH (fluorescenční in situ hybridizace) na interfázních buněčných jádrech (Ensenauer, 2003). Dalším důvodem, proč se mikroduplikace špatně diagnostikují je fenotypový projev, který se při mírné manifestaci příliš neliší od zdravého jedince (Edelmann, 1999). Teoreticky by měl výskyt duplikace odpovídat frekvenci reciprokého produktu – deleci (1 : 4 000 – 6 000 živě narozených).

Mikroduplikace v regionu 22q11.21-23, který leží distálně od rizikové oblasti pro syndrom DG/VCFS (22q11.21) jsou zprostředkovány menšími LCR. Proximální bod zlomu je tvořen LCR22D a distální buď LCR22E nebo F. Mikroduplikace u pacientů způsobuje vývojové zpoždění, mentální retardaci, vrozené anomálie srdce, ledvin a trávicího traktu, šilhání a odstávající ušní boltce. Klinický projev se velmi liší, což ukazuje výskyt protichůdných projevů jako je např. makrocefalie a mikrocefalie. Opět nebyla prokázána korelace mezi velikostí duplikovaného regionu a závažností fenotypu – např. delece dlouhá 1,4 Mb (bod zlomu F-H) se projevuje závažným zpožděním ve vývoji jedince a těžkou hypotonií, naopak velká 3,6Mb duplikace (D-H) způsobuje pouze mírné dysmorfie, bez problémů s vývojem a svalovým tonem (Coppinger, 2009).

## 5. Závěr

Popsané reciproké mikroleční a mikroduplikační syndromy, ukazují, že není možné obecně říct, že reciproké aberaci vůči sobě vykazují obrácený fenotypem (jak bychom u reciprokých aberací očekávali). Projevy onemocnění, způsobeného těmito aberacemi, jsou závislé na genech a okolních kódujících sekvencích, které přestavba postihla.

Protichůdný fenotyp můžeme sledovat u syndromů způsobených aberacemi v oblasti 1q21.1 (pacienti s delecí trpí mikrocefalií, pacienti s duplikací makrocefalií) a regionu 5q35.2-q35.3 (delece se manifestuje Sotosovým syndromem - nadměrným růstem a makrocefalií, duplikace se projevují malým vzrůstem a mikrocefalií). K vysvětlení je v prvním případě vhodný gen *HYDIN2*, jehož ztráta nebo zmnožení se projevuje abnormální velikostí hlavy. V druhém případě se zdají být za fenotyp zodpovědné dva geny (*MSX2* a *NSD1*), jejichž produkty mají úlohu ve vývoji lebky a dalších kostí zejména končetin. Obdobně se projevuje změna počtu kopií genu *NDE1* ležícím na krátkém raménku chromozomu 16 (delece – zmenšení mozku / duplikace – zvětšení).

Aberace v oblasti 17p11.2 se oproti předcházejícím příkladům manifestují podobnými až shodnými fenotypovými vlastnostmi. Jak Charcot-Marie-Toothův syndrom (CMT; způsobený duplikacemi), tak dědičná neuropatie (HNPP; způsobena delecemi) se projevují poškozením periferních nervových vláken, vedoucím k svalové slabosti a atrofii. Aberantní fenotyp těchto syndromů je způsobený poškozením genu pro periferní myelinový protein (*PMP22*), který na ztrátu nebo zmnožení zřejmě reaguje stejným způsobem. Podobným případem jsou aberace v oblasti 22q11.2, kdy se delece způsobující DiGeorgeův /velokardiofaciální syndrom (DG/VCFS) i duplikace manifestují kardiovaskulárním onemocněním, rozštěpy patra a velofaryngeální nedostatečností. V regionu 17q11.2 se nachází gen *NF1*, jehož poškození nebo delece způsobuje neurofibromatózu typu 1 (NF1). Jedním z charakteristických rysů *NF1* je výskyt skvrn barvy bílé kávy na kůži (CALS), které se ale vyskytují i u některých pacientů s mikroduplikací tohoto regionu. Tato stav je způsobený tím, že CALS vznikají intragenovou mutací v genu *NF1*, takže pokud duplikovaná oblast obsahuje ještě mutovaný gen, mohou se CALS objevit i u nositelů duplikací.

Zcela odlišný fenotyp se projevuje u mikrolece (příčina Williams-Beurenova syndromu - kardiovaskulární defekty, rozštěpy patra, předkus) a mikroduplikace oblasti 7q11.23 (spojeno se schizofrenií). Tato situace je způsobena tím, že v případě mikrolece je poškozen gen pro elastin (*ELN*), který ale nereaguje na nadměrnou expresi v případě duplikace. Tam se zase projevuje vysoký počet CNVs, který zvyšují riziko vzniku schizofrenie.

U mnoha případů nejsme schopni ještě říct, který gen a proč je zodpovědný za vznik daného fenotypu. Svou roli hraje jistě i variabilní expresivita a neúplná penetrance, která komplikuje diagnostiku a prognózu v genetickém poradenství.

## 6. Literatura

- Ahel, D., Horejsi, Z., Wiechens, N., Polo, S.E., Garcia-Wilson, E., Ahel, I., Flynn, H., Skehel, M., West, S.C., Jackson, S.P., Owen-Hughes, T., Boulton, S.J. (2009). Poly(ADPribose)- dependent regulation of DNA repair by the chromatin remodeling enzyme ALC1. *Science*. 325:1240-43.
- Anzai, N., Miyazaki, H., Noshiro, R., Khamdang, S., Chairoungdua, A., Shin, H.J., Enomoto, A., Sakamoto, S., Hirata, T., Tomita, K., Kanai, Y., Endou, H. (2004). The multivalent PDZ domain-containing protein PDZK1 regulates transport activity of renal urate-anion exchanger URAT1 via its C terminus. *J Biol Chem*. 279:45942-50.
- Axelsson, S. (2005). Variability of the cranial and dental phenotype in Williams syndrome. *Swed Dent J Suppl*. 170:3-67.
- Bachmann-Gagescu, R., Mefford, H.C., Cowan, Ch., Glew, G.M., Hing, A.V., Wallace, S., Bader, P.I., Hamati, A., Reitnauer, P.J., Smith, R., Stockton, D.W., Muhle, H., Helbig, I., Eichler, E.E., Ballif, B.C., Rosenfeld, J., Tsuchiya, K.D. (2010). Recurrent 200-kb deletions of 16p11.2 that include the SH2B1 gene are associated with developmental delay and obesity. *Genet Med*. 12:641-47.
- Bailey, J.A., Eichler, E.E. (2006). Primate segmental duplications: crucibles of evolution, diversity and disease. *Nat Rev Genet*. 7:552-64.
- Bailey, J.A., Gu, Z., Clark, R.A., Reinert, K., Samonte, R.V., Schwartz, S., Adams, M.D., Myers, E.W., Li, P.W., Eichler, E.E. (2002). Recent segmental duplications in the human genome. *Science*. 297:1003-7.
- Ballif, B.C., Hornor, S.A., Jenkins, E., Madan-Khetarpal, S., Surti, U., Jackson, K.E., Asamoah, A., Brock, P.L., Gowans, G.C., Conway, R.L., Graham, J.M. Jr., Medne, L., Zackai, E.H., Shaikh, T.H., Geoghegan, J., Selzer, R.R., Eis, P.S., Bejjani, B.A., Shaffer, L.G. (2007). Discovery of a previously unrecognized microdeletion syndrome of 16p11.2-p12.2. *Nat Genet*. 39:1071-73.
- Balogh, S.A., McDowell, C.S., Tae Kwon, Y., Denenberg, V.H. (2001). Facilitated stimulus-response associative learning and long-term memory in mice lacking the NTAN1 amidase of the N-end rule pathway. *Brain Res*. 892:336-43.
- Barber, J.C., Hall, V., Maloney, V.K., Huang, S., Roberts, A.M., Brady, A.F., Foulds, N., Bewes, B., Volleth, M., Liehr, T., Mehnert, K., Bateman, M., White, H. (2013). 16p11.2-p12.2 duplication syndrome; a genomic condition differentiated from euchromatic variation of 16p11.2. *Eur J Hum Genet*. 21:182-89.
- Basson, C.T., Bachinsky, D.R., Lin, R.C., Levi, T., Elkins, J.A., Soult, J., Grayzel, D., Kroumpouzou, E., Traill, T.A., Leblanc-Straceski, J., Renault, B., Kucherlapati, R., Seidman, J.G., Seidman, C.E. (1997). Mutations in human TBX5 cause limb and cardiac malformation in Holt-Oram syndrome. *Nat Genet*. 15:30-35.
- Bejjani, B. A., Shaffer, L.G. (2006). Application of Array-based comparative genomic hybridization to clinical diagnostics. *J Mol Diagn*. 8:528-533.
- Bejjani, B.A., Saleki, R., Ballif, B.C., Rorem, E.A., Sundin, K., Theisen, A., Kashork, C.D., Shaffer, L.G. (2005). Use of targeted array-based CGH for the clinical diagnosis of chromosomal imbalance: Is less more? *Am J Med Genet A*. 134:259-67.
- Bengesser, K., Cooper, D.N., Steinmann, K., Kluwe, L., Chuzhanova, N.A., Wimmer, K., Tatagiba, M., Tinschert, S., Mautner, V.F., Kehrer-Sawatzki, H. (2010). A novel third type of recurrent NF1 microdeletion mediated by nonallelic homologous recombination between LRRC37B-containing low-copy repeats in 17q11.2. *Hum Mutat*. 31:742-51.
- Ben-Shachar, S., Ou, Z., Shaw, C.A., Belmont, J.W., Patel, M.S., Hummel, M., Amato, S., Tartaglia, N., Berg, J., Sutton, V.R., Lalani, S.R., Chinault, A.C., Cheung, S.W., Lupski, J.R., Patel, A. (2008). 22q11.2 distal deletion: a recurrent genomic disorder distinct from DiGeorge syndrome and velocardiofacial syndrome. *Am J Hum Genet*. 82:214-21.
- Berg, I.L., Neumann, R., Lam, K.W., Sarbajna, S., Odenthal-Hesse, L., May, C.A., Jeffreys, A.J. (2010). PRDM9 variation strongly influences recombination hot-spot activity and meiotic instability in humans. *Nat Genet*. 42:859-63.
- Berg, J.S., Brunetti-Pierri, N., Peters, S.U., Kang, S. L., Fong, Ch., Salamone, J., Freedenberg, D., Hannig, V.L., Prock, L.A., Miller, D.T., Raffalli, P., Harris, D.J., Erickson, R.P., Cuniff, Ch., Clark, G.D., Blazo, M.A., Peiffer, D.A., Gunderson, K.L., Sahoo, T., Patel, A., Lupski, J.R., Beaudet, A.L., Cheung, S.W. (2007). Speech delay and autism spectrum behaviors are frequently associated with duplication of the 7q11.23 Williams-Beuren syndrome region. *Genet Med*. 9:427-41.

- Beuren, A.J., Apitz, J., and Harmjanz, D. (1962).** Supravalvular aortic stenosis in association with mental retardation and a certain facial appearance. *Circulation*. 26:1235-40.
- Blair, I.P., Nash, J., Gordon, M.J., Nicholson, G.A. (1996).** Prevalence and origin of de novo duplications in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: first report of a de novo duplication with a maternal origin. *Am J Hum Genet*. 58:472-76.
- Bochukova, E.G., Huang, N., Keogh, J., Henning, E., Purmann, C., Blaszczyk, K., Saeed, S., Hamilton-Shield, J., Clayton-Smith, J., O'Rahilly, S., Hurles, M.E., Farooqi, I.S. (2010).** Large, rare chromosomal deletions associated with severe early-onset obesity. *Nature*. 463:666-70.
- Brunetti-Pierri, N., Berg, J.S., Scaglia, F., Belmont, J., Bacino, C.A., Sahoo, T., Lalani, S.R., Graham, B., Lee, B., Shinawi, M., Shen, J., Kang, S.H., Pursley, A., Lotze, T., Kennedy, G., Lansky-Shafer, S., Weaver, C., Roeder, E.R., Grebe, T.A., Arnold, G.L., Hutchison, T., Reimschisel, T., Amato, S., Geraghty, M.T., Innis, J.W., Obersztyn, E., Nowakowska, B., Rosengren, S.S., Bader, P.I., Grange, D.K., Naqvi, S., Garnica, A.D., Bernes, A.M., Fong, Ch., Summers, A., Walters, W.D., Lupski, J.R., Stankiewicz, P., Cheung, S.W., Patel, A. (2008).** Recurrent reciprocal 1q21.1 deletions and duplications associated with microcephaly or macrocephaly and developmental and behavioral abnormalities. *Nat Genet*. 40:1466-71.
- Camarata, T., Bimber, B., Kulisz, A., Chew, T.L., Yeung, J., Simon, H.G. (2006).** LMP4 regulates Tbx5 protein subcellular localization and activity. *J Cell Biol*. 174:339-48.
- Claramunt, R., Pedrola, L., Sevilla, T., López de Munain, A., Berciano, J., Cuesta, A., Aánchez-Navarro, B., Millán, J.M., Saifi, G.M., Lupski, J.R., Vilchez, J.J., Espinós, C., Palau, F. (2005).** Genetics of Charcot-Marie-Tooth disease type 4A: mutations, inheritance, phenotypic variability, and founder effect. *J Med Genet*. 42:358-65.
- Coppinger, J., McDonald-McGinn, D., Zackai, E., Shane, K., Atkin, J.F., Asamoah, A., Leland, R., Weaver, D.D., Lansky-Shafer, S., Schmidt, K., Feldman, H., Cohen, W., Phalin, J., Powell, B., Ballif, B.C., Theisen, A., Geiger, E., Haldeman-Englert, C., Shaikh, T.H., Saitta, S., Bejjani, B.A., Shaffer, L.G. (2009).** Identification of familial and de novo microduplications of 22q11.21-q11.23 distal to the 22q11.21 microdeletion syndrome region. *Hum Mol Genet*. 18:1377-83.
- Crespi, B., Stead, P., Elliot, M. (2010).** Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Comparative genomics of autism and schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 107:1736-41.
- Cuesta, A., Pedrola, L., Sevilla, T., Garcia-Planells, J., Chumillas, M.J., Mayordomo, F., LeGuern, E., Marin, I., Vilchez, J.J., Palau, F. (2002).** The gene encoding ganglioside-induced differentiation-associated protein 1 is mutated in axonal Charcot-Marie-Tooth type 4A disease. *Nat Genet*. 30:22-25.
- Curran, M.E., Atkinson, D.L., Ewart, A.K., Morris, C.A., Leppert, M.F., Keating, M.T. (1993).** The elastin gene is disrupted by a translocation associated with supravalvular aortic stenosis. *Cell*. 73:159-68.
- Darai-Ramqvist, E., Sandlund, A., Müller, S., Klein, G., Imreh, S., Kost-Alimova, M. (2008).** Segmental duplications and evolutionary plasticity at tumor chromosome break-prone regions. *Genome Res*. 18:370-79.
- De Raedt, T., Brems, H., Wolkenstein, P., Vidaud, D., Pilotti, S., Perrone, F., Mautner, V., Frahm, S., Sciort, R., Legius, E. (2003).** Elevated risk for MPNST in NF1 microdeletion patients. *Am J Hum Genet*. 72:1288-92.
- De Raedt, T., Stephens, M., Heyns, I., Brems, H., Thijs, D., Messiaen, L., Stephens, K., Lazaro, C., Wimmer, K., Kehrer-Sawatzki, H., Vidaud, D., Kluwe, L., Marynen, P., Legius, E. (2006).** Conservation of hotspots for recombination in low-copy repeats associated with the NF1 microdeletion. *Nat Genet*. 38:1419-23.
- de Vries, B.B., Pfundt, R., Leisink, M., Koolen, D.A., Vissers, L.E., Janssen, I.M., Reijmersdal, S., Nillesen, W.M., Huys, E.H., Leeuw, N., Smeets, D., Sistermans, E.A., Feuth, T., van Ravenswaaij-Arts, C.M., van Kessel, A.G., Schoenmakers, E.F., Brunner, H.G., Veltman, J.A. (2005).** Diagnostic genome profiling in mental retardation. *Am J Hum Genet*. 77:606-16.
- Deng, W. (2009).** PARylation: strengthening the connection between cancer and pluripotency. *Cell Stem Cell*. 5:349-50.
- Dorschner, M.O., Sybert, V.P., Weaver, M., Pletcher, B.A., Stephens, K. (2000).** NF1 microdeletion breakpoints are clustered at flanking repetitive sequences. *Hum Mol Genet*. 9:35-46.
- Edelmann, L., Pandita, R.K., Spiteri, E., Funke, B., Goldberg, R., Palanisamy, N., Chaganti, R.S., Magenis, E., Shprintzen, R.J., Morrow, B.E. (1999).** A common molecular basis for rearrangement disorders on chromosome 22q11. *Hum Mol Genet*. 8:1157-67.



- Emanuel, B.S. (2008).** Molecular mechanisms and diagnosis of chromosome 22q11.2 rearrangements. *Dev Disabil Res Rev.* 14:11-18.
- Emanuel, B.S., McDonald-McGinn, D., Saitta, S.C., Zackai, E.H. (2001).** The 22q11.2 deletion syndrome. *Adv Pediatr.* 48:39-73.
- Ensenauer, R.E., Adeyinka A., Flynn H.C., Michels V.V., Lindor N.M., Dawson, D.B., Thorland, E.C., Lorentz, C.P., Goldstein, J.L., McDonald, M.T., Smith, W.E., Simon-Fayard, E., Alexander, A.A., Kulharya, A.S., Ketterling, R.P., Clark, R.D., Jalal, S.M. (2003).** Microduplication 22q11.2, an emerging syndrome: Clinical, cytogenetic, and molecular analysis of thirteen patients. *Am J Hum Genet.* 73:1027-40.
- Ewart, A.K., Morris, C., Atkinson, D., Jin, W., Sternes, K., Spallone, P., Stock, A.D., Leppert, M., Keating, M.T. (1993).** Hemizyosity at the elastin locus in a developmental disorder, Williams syndrome. *Nat Genet.* 5:11-16.
- Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A.T., Surrallés, J., Crott, J.W., Parry, J., Norppa, H., Eastmond, D.A., Tucker, J.D., Thomas, P. (2011).** Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis.* 26:125-32.
- Feng, Y., Walsh, C.A. (2004).** Mitotic spindle regulation by Ndel controls cerebral cortical size. *Neuron.* 44:279-93.
- Fernandez, B.A., Roberts, W., Chung, B., Weksberg, R., Meyn, S., Szatmari, P., Joseph-George, A.M., Mackay, S., Whitten, K., Noble, B., Vardy, C., Crosbie, V., Luscombe, S., Tucker, E., Turner, L., Marshall, C.R., Scherer, S.W. (2010).** Phenotypic spectrum associated with de novo and inherited deletions and duplications at 16p11.2 in individuals ascertained for diagnosis of autism spectrum disorder. *J Med Genet.* 47:195-203.
- Feuk, L., Carson, A.R., Scherer, S.W. (2006).** Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet.* 7:85-97.
- Forbes, S.H., Dorschner, M.O., Le, R., Stephens, K. (2004).** Genomic context of paralogous recombination hotspots mediating recurrent NF1 region microdeletion. *Genes Chromosomes Cancer.* 41:12-15.
- 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., Rice, R., Rice, D.P., Shaffer, L.G. (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. *Eur J Hum Genet.* 13:139-49.
- Garelick, M.G., Kennedy, B.K. (2011).** TOR on the brain. *Exp Gerontol.* 46:155-63.
- Gotter, A.L., Nimmakayalu, M.A., Jalali, G.R., Hacker, A.M., Vorstman, J., D. Duffy, D.C., Medne, L., Emanuel, B.S. (2007).** A palindrome-driven complex rearrangement of 22q11.2 and 8q24.1 elucidated using novel technologies. *Genome Res.* 17:470-81.
- Gottesman, I.I., Shields, J., Hanson, D.R. (1982)** Schizophrenia, the Epigenetic Puzzle. *Cambridge University Press.* 258.
- Greenway, S. C., Pereira, A.C., Lin, J.C., DePalma, S.R., Israel, S.J., Mesquita, S.M., Ergul, E., Conta, J.H., Korn, J.M., McCarroll, S.A., Gorham, J.M., Gabriel, S., Altshuler, D.M., Quintanilla-Dieck Mde, L., Artunduaga, M.A., Eavey, R.D., Plenge, R.M., Shadick, N.A., Weinblatt, M.E., De Jager, P.L., Hafler, D.A., Breitbart, R.E., Seidman, J.G., Seidman, C.E. (2009).** De novo copy number variants identify new genes and loci in isolated, sporadic tetralogy of Fallot. *Nat Genet.* 41:931-35.
- Grigoryev, S., Stewart, A.E., Kwon, Y.T., Arfin, S.M., Bradshaw, R.A., Jenkins, N.A., Copeland, N.G., Varshavsky, A. (1996).** A mouse amidase specific for N-terminal asparagine. The gene, the enzyme, and their function in the N-end rule pathway. *J Biol Chem.* 271:28521-32.
- Grozeva, D., Conrad, D.F., Barnes, C.P., Hurles, M., Owen, M.U., O'Donovan, M.C., Craddock, N., Kirov, G. (2012).** Independent estimation of the frequency of rare CNVs in the UK population confirms their role in schizophrenia. *Schizophr Res.* 135:1-7.
- Gu, W., Zhang, F., Lupski J.R., Chen A.J. (2008).** Mechanisms for human genomic rearrangements: Mutational Mechanisms. *Pathogenetics.* 1:4
- Hannes, F.D., Sharp, A.J., Mefford, H.C., de Ravel, T., Ruivenkamp, C.A., Breuning, M.H., Fryns, J.F., Devriendt, K., van Buggenhout, G., Vogels, A., Stewart, H., Hennekam, R.C., Cooper, G.M., Regan, R., Knight, S.J.L., Eichler, E.E., Vermeesch, J.R. (2009).** Recurrent reciprocal deletions and duplications of 16p13.11: the deletion is a risk factor for MR/MCA while the duplication may be a rare benign variant. *J Med Genet.* 46:223-32.

- Harvard, C., Strong, E., Mercier, E., Colnaghi, R., Alcantara, D., Chow, E., Martell, S., Tyson, Ch. Hrynychak, M., McGillivray, B., Hamilton, S., Marles, S., Mhanni, A., Dawson, A.J., Pavlidis, P., Qiao, Y., Holden, J.J., Lewis, S., O'Driscoll, M., Rajcan-Separovic, E. (2011).** Understanding the impact of 1q21.1 copy number variant. *Orphanet J Rare Dis.* 6:54.
- Hempel, M., Brugués, N.R., Wagenstaller, J., Lederer, G., Weitensteiner, A. Seidel, H., Meitinger, T., Strom, T.M. (2009).** Microdeletion syndrome 16p11.2-p12.2: Clinical and molecular characterization. *Am J Med Genet A.* 149A:2106-12.
- Huang, N., vom Baur, E., Garnier, J.M., Lerouge, T., Vonesch, J.L., Lutz, Y., Chambon, P., Losson, R. (1998).** Two distinct nuclear receptor interaction domains in NSD1, a novel SET protein that exhibits characteristics of both corepressors and coactivators. *EMBO J.* 17:3398-412.
- Hunter, A.G., Dupont, B., McLaughlin, M., Hinton, L., Baker, E., Ades, L., Haan, E., Schwartz, C.E. (2005).** The Hunter-McAlpine syndrome results from duplication 5q35-qter. *Clin Genet.* 67:53-60.
- Hunter, A.G., McAlpine, P.J., Rudd, N.L., Fraser, F.C. (1977).** A 'new' syndrome of mental retardation with characteristic facies and brachyphalangy. *J Med Genet.* 14:430-37.
- Chance, P.F., Abbas, N., Lensch, M.W., Pentao, L., Roa, B.B., Patel, P.I., Lupski, J.R. (1994).** Two autosomal dominant neuropathies result from reciprocal DNA duplication/deletion of a region on chromosome 17. *Hum Mol Genet.* 3:223-28.
- Charcot, J.M., Marie, P. (1886).** Sur une forme particuliere datrophie musculaire progressive souvent familiale debutant par les pied et les jambes et atteignant plus tard les mains. *Rev Med.* 6:97-138.
- Chen, C.P., Lin, S.P., Lin, C.C., Chen, Y.J., Chern, S.R., Li, Y.C., Hsieh, L.J., Lee, C.C., Pan, C.W., Wang, W. (2006).** Molecular cytogenetic analysis of de novo dup(5)(q35.2q35.3) and review of the literature of pure partial trisomy 5q. *Am J Med Genet A.* 140A:1594-600.
- Chen, K.S., Manian, P., Koeuth, T., Potocki, L., Zhao, Q., Chinault, A.C., Lee, C.C., Lupski, J.R. (1997).** Homologous recombination of a flanking repeat gene cluster is a mechanism for a common contiguous gene deletion syndrome. *Nat Genet.* 17:154-63.
- Cherniske, E.M., Carpenter, T.O., Klaiman, Ch., Young, E., Bregman, J., Insogna, K., Schultz, R.T., Pober, B.P. (2004).** Multisystem study of 20 older adults with Williams syndrome. *Am J Med Genet A.* 131A:255-64.
- Inoue, K., Dewar, K., Katsanis, N., Reiter, L.T., Lander, E. S., Devon, K.L., Wyman, D.W., Lupski, J.R., Birren, B. (2001).** The 1.4-Mb CMT1A Duplication/HNPP Deletion Genomic Region Reveals Unique Genome Architectural Features and Provides Insights into the Recent Evolution of New Genes. *Genome Res.* 11:1018-33
- Jabs, E.W., Muller, U., Li, X., Ma, L., Luo, W., Haworth, I.S., Klisak, I., Sparkes, R., Warman, M.L., Mulliken, J.B., Snead, M.L., Maxson, R. (1993).** A mutation in the homeodomain of the human MSX2 gene in a family affected with autosomal dominant craniosynostosis. *Cell.* 75:443-50.
- Jheon, A., Bansal, A.K., Zhu, B., Ganss, B., Cheifetz, S., Sodek, J. (2009).** Characterisation of the constitutive over-expression of AJ18 in a novel rat stromal bone marrow cell line (D8-SBMC). *Arch Oral Biol.* 54:705-16.
- Johnson, M.E., Cheng, Z., Morrison, V.A., Scherer, S., Ventura, M., Gibbs, R.A., Green, E.D., Eichler, E.E. (2006).** Recurrent duplication-driven transposition of DNA during hominoid evolution. *Proc Natl Acad Sci USA.* 103:17626-31.
- Kahn, B.B., Alquier, T., Carling, D., Hardie, D.G. (2005).** AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab.* 1:15-25.
- Kato, T., Kosaka, K., Kimura, M., Imamura, S., Yamada, O., Iwai, K., Ando, M., Joh-o, K., Kuroe, K., Ohtake, A., Takao, A., Momma, K., Matsuoka, R. (2003).** Thrombocytopenia in patients with 22q11.2 deletion syndrome and its association with glycoprotein Ib-beta. *Genet Med.* 5:113-19.
- Kehrer-Sawatzki, H., Bengesser, K., Callens, T., Mikhail, F., Fu, Ch., Hillmer, M., Walker, M.E., Saal, H.M., Lacassie, Y. Cooper, D.N., Messiaen, L. (2014).** Identification of Large NF1 Duplications Reciprocal to NAHR-Mediated Type-1 NF1 Deletions. *Hum Mutat.* 35:1469-75.
- Kelleher, C.M., McLean, S.E., Mecham, R.P. (2004).** Vascular extracellular matrix and aortic development. *Curr Top Dev Biol.* 62:153-88.
- Kenny, J., Lees, M.M., Drury, S., Barnicoat, A., Van't Hoff, W., Palmer, R., Morrogh, D., Waters, J.J., Lench, N.J., Bockenhauer, D. (2011).** Sotos syndrome, infantile hypercalcemia, and nephrocalcinosis: a contiguous gene syndrome. *Pediatr Nephrol.* 26:1331-34.

- Kielty, C.M. (2006).** Elastic fibres in health and disease. *Expert Rev Mol Med.* 8:1-23.
- Kim, D.H., Sarbassov, D.D., Ali, S.M., King, J.E., Latek, R.R., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Sabatini, D.M. (2002).** mTOR interacts with raptor to form a nutrientsensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell.* 110:163-75.
- Kim, Y.M., Yoo, S.J., Choi, J.Y., Kim, S.H., Bae, E.J., Lee, Y.T. (1999).** Natural course of supralvalvar aortic stenosis and peripheral pulmonary arterial stenosis in Williams' syndrome. *Cardiol Young.* 9:37-41.
- Kirchhoff, M., Bisgaard, A.M., Bryndorf, T., Gerdes, T. (2007).** MLPA analysis for a panel of syndromes with mental retardation reveals imbalances in 5.8% of patients with mental retardation and dysmorphic features, including duplications of the Sotos syndrome and Williams-Beuren syndrome regions. *Eur J Med Genet.* 50:33-42.
- Kirov, G., Pocklington, A.J., Holmans, P., Ivanov, D., Ikeda, M., Ruderfer, D., Moran, J., Chambert, K., Toncheva, D., Georgieva, L., Grozeva, D., Fjodorova, M., Wollerton, R., Rees, E., Nikolov, I., van de Lagemat, L.N., Bayés, A., Fernandez, E., Olason, P.I., Böttcher, Y., Komiyama, N.H., Collins, M.O., Choudhary, J., Stefansson, K., Stefansson, H., Grant, S.G., Purcell, S., Sklar, P., O'Donovan, M.C., Owen, M.J. (2012).** De novo CNV analysis implicates specific abnormalities of postsynaptic signalling complexes in the pathogenesis of schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 17:142-53.
- Kluwe, L., Siebert, R., Gesk, S., Friedrich, R.E., Tinschert, S., Kehrer-Sawatzki, H., Mautner, V.F. (2004).** Screening of 500 unselected neurofibromatosis 1 patients for deletions of the NF1 gene. *Hum Mutat.* 23:111-16.
- Knoll, J.H., Asamoah, A., Pletcher, B.A., Wagstaff, J. (1995).** Interstitial duplication of proximal 22q: phenotypic overlap with cat eye syndrome. *Am J Med Genet.* 55:221-24.
- Kurotaki, N., Harada, N., Shimokawa, O., Miyake, N., Kawame, H., Uetake, K., Makita, Y., Kondoh, T., Ogata, T., Hasegawa, T., Nagai, T., Ozaki, T., Touyama, M., Shenhav, R., Ohashi, H., Medne, L., Shiihara, T., Ohtsu, S., Kato, Z., Okamoto, N., Nishimoto, J., Lev, D., Miyoshi, Y., Ishikiriyama, S., Sonoda, T., Sakazume, S., Fukushima, Y., Kurosawa, K., Cheng, J.F., Yoshiura, K., Ohta, T., Kishino, T., Niikawa, N., Matsumoto, N. (2003).** Fifty microdeletions among 112 cases of Sotos syndrome: low copy repeats possibly mediate the common deletion. *Hum Mutat.* 22:378-87.
- Kwon, Y.T., Balogh, S.A., Davydov, I.V., Kashina, A.S., Yoon, J.K., Xie, Y., Gaur, A., Hyde, L., Denenberg, V.H., Varshavsky, A. (2000).** Altered activity, social behavior, and spatial memory in mice lacking the NTAN1p amidase and the asparagine branch of the N-end rule pathway. *Mol Cell Biol.* 20:4135-48.
- Lam, K.W., Jeffreys, A.J. (2007).** Processes of de novo duplication of human alfa-globin genes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 104:10950-55.
- Lazarus, J.E., Hegde, A., Andrade, A.C., Nilsson, O., Baron, J. (2007).** Fibroblast growth factor expression in the postnatal growth plate. *Bone.* 40:577-86.
- Lesnik Oberstein, S.A., Kriek, M., White, S.J., Kalf, M.E., Szuhai, K., den Dunnen, J.T., Breuning, M.H., Hennekam, R.C. (2006).** Peters Plus syndrome is caused by mutations in B3GALT1, a putative glycosyltransferase. *Am J Hum Genet.* 79:562-66.
- Li, D.Y., Faury, G., Taylor, D.G., Davis, E.C., Boyle, W.A., Mecham, R.P., Stenzel, P., Boak, B., Keating, M.T. (1998).** Novel arterial pathology in mice and humans hemizygous for elastin. *J Clin Invest.* 102:1783-87.
- Lindsay, S.J., Khajavi, M., Lupski, J.R., Hurles, M.E. (2006).** A chromosomal rearrangement hotspot can be identified from population genetic variation and is coincident with a hotspot for allelic recombination. *Am J Hum Genet.* 79:890-902.
- Liskay, R.M., Letsou, A., Stachelek, J.L. (1987).** Homology requirement for efficient gene conversion between duplicated chromosomal sequences in mammalian cells. *Genetics.* 115:161-67.
- Liu, J., Shworak, N.W., Sinäy, P., Schwartz, J.J., Zhang, L., Fritze, L.M.S., Rosenberg, R.D. (1999).** Expression of heparan sulfate D-glucosaminyl 3-O-sulfotransferase isoforms reveals novel substrate specificities. *J Biol Chem.* 274:5185-92.
- Liu, P., Carvalho, C., Hastings, P.J., Lupski J. R. (2012).** Mechanisms for recurrent and complex human genomic rearrangements. *Curr Opin Genet Dev.* 22:211-20.
- Liu, Y.H., Kundu, R., Wu, L., Luo, W., Ignelzi, M.A., Snead, M.L., Maxson, R.E. Jr. (1995).** Premature suture closure and ectopic cranial bone in mice expressing Msx2 transgenes in the developing skull. *Proc Natl Acad Sci USA.* 92:6137-41.

- Lopes, J., Vandenberghe, A., Tardieu, S., Ionasescu, V., Lévy, N., Wood, N., Tachi, N., Bouche, P., Latour, P., Brice, A., LeGuern, E. (1997).** Sex-dependent rearrangements resulting in CMT1A and HNPP. *Nat Genet.* 17:136-37.
- López-Correa, C., Dorschner, M., Brems, H., Lázaro, C., Clementi, M., Upadhyaya, M., Dooijes, D., Moog, U., Kehrer-Sawatzki, H., Rutkowski, J.L., Fryns, J.P., Marynen, P., Stephens, K., Legius, E. (2001).** Recombination hotspot in NF1 microdeletion patients. *Hum Mol Genet.* 10:1387-92.
- Lowery, M.C., Morris, C.A., Ewart, A., Brothman, L.J., Zhu, X.L., Leonard, C.O., Carey, J.C., Keating, M., Brothman, A.R. (1995).** Strong correlation of elastin deletions, detected by FISH, with Williams syndrome: evaluation of 235 patients. *Am J Hum Genet.* 57:49-53.
- Lucio-Eterovic, A.K., Singh, M.M., Gardner, J.E., Veerappan, C.S., Rice, J.C., Carpenter, P.B. (2010).** Role for the nuclear receptor-binding SET domain protein 1 (NSD1) methyltransferase in coordinating lysine 36 methylation at histone 3 with RNA polymerase II function. *Proc Natl Acad Sci USA.* 107:16952-57.
- Lupski, J.R. (1995).** Charcot-Marie-Tooth Disease: A gene-dosage effect. *Hosp Pract.* 32:83-4, 89-91, 94-5.
- Lupski, J.R. (1998).** Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits. *Trends Genet.* 14:417-422.
- Luttik, M.A., Overkamp, K.M., Kötter, P., de Vries, S., van Dijken, J.P., Pronk, J.K. (1998).** The *Saccharomyces cerevisiae* NDE1 and NDE2 genes encode separate mitochondrial NADH dehydrogenases catalyzing the oxidation of cytosolic NADH. *J Biol Chem.* 273:24529-34.
- Marsell, R., Krajisnik, T., Göransson, H., Ohlsson, C., Ljunggren, O., Larsson, T.E., Jonsson, K.B. (2008).** Gene expression analysis of kidneys from transgenic mice expressing fibroblast growth factor-23. *Nephrol Dial Transplant.* 23:827-33.
- Martin, J., Han, C., Gordon, L.A., Terry, A., Prabhakar, S., She, X., Xie, G., Hellsten, U., Chan, Y.M., Altherr, M., Couronne, O., Aerts, A., Bajorek, E., Black, S., Blumer, H., Branscomb, E., Brown, N.C., Bruno, W.J., Buckingham, J.M., Callen, D.F., Campbell, C.S., Campbell, M.L., Campbell, E.W., Caoile, C., Challacombe, J.F., Chasteen, L.A., Chertkov, O., Chi, H.C., Christensen, M., Clark, L.M., Cohn, J.D., Denys, M., Detter, J.C., Dickson, M., Dimitrijevic-Bussod, M., Escobar, J., Fawcett, J.J., Flowers, D., Fotopulos, D., Glavina, T., Gomez, M., Gonzales, E., Goodstein, D., Goodwin, L.A., Grady, D.L., Grigoriev, I., Groza, M., Hammon, N., Hawkins, T., Haydu, L., Hildebrand, C.E., Huang, W., Israni, S., Jett, J., Jewett, P.B., Kadner, K., Kimball, H., Kobayashi, A., Krawczyk, M.C., Leyba, T., Longmire, J.L., Lopez, F., Lou, Y., Lowry, S., Ludeman, T., Manohar, C.F., Mark, G.A., McMurray, K.L., Meincke, L.J., Morgan, J., Moyzis, R.K., Mundt, M.O., Munk, A.C., Nandkeshwar, R.D., Pitluck, S., Pollard, M., Predki, P., Parson-Quintana, B., Ramirez, L., Rash, S., Retterer, J., Ricke, D.O., Robinson, D.L., Rodriguez, A., Salamov, A., Saunders, E.H., Scott, D., Shough, T., Stallings, R.L., Stalvey, M., Sutherland, R.D., Tapia, R., Tesmer, J.G., Thayer, N., Thompson, L.S., Tice, H., Torney, D.C., Tran-Gyamfi, M., Tsai, M., Ulanovsky, L.E., Ustaszewska, A., Vo, N., White, P.S., Williams, A.L., Wills, P.L., Wu, J.R., Wu, K., Yang, J., Dejong, P., Bruce, D., Doggett, N.A., Deaven, L., Schmutz, J., Grimwood, J., Richardson, P., Rokhsar, D.S., Eichler, E.E., Gilna, P., Lucas, S.M., Myers, R.M., Rubin, E.M., Pennacchio, L.A. (2004).** The sequence and analysis of duplication-rich human chromosome 16. *Nature.* 432:988-94.
- Matsuguchi, T., Chiba, N., Bandow, K., Kakimoto, K., Masuda, A., Ohnishi, T. (2009).** JNK activity is essential for Atf4 expression and latestage osteoblast differentiation. *J Bone Miner Res.* 24:398-410.
- Matsunami, N., Smith, B., Ballard, L., Lensch, M.W., Robertson, M., Albertsen, H., Hanemann, C.O., Müller, H.W., Bird, T.D., White, R., Chance, P.F. (1992).** Peripheral myelin protein-22 gene maps in the duplication in chromosome 17p11.2 associated with Charcot-Marie-Tooth 1A. *Nat Genet.* 1:176-79.
- Mautner, V.F., Kluwe, L., Friedrich, R.E., Roehl, A.C., Bammert, S., Högel, J., Spöri, H., Cooper, D.N., Kehrer-Sawatzki, H. (2010).** Clinical characterisation of 29 neurofibromatosis type-1 patients with molecularly ascertained 1.4 Mb type-1 NF1 deletions. *J Med Genet.* 47:623-30.
- McDermid, H.E., Morrow, B.E. (2002).** Genomic disorders on 22q11. *Am J Hum Genet.* 70:1077-88.
- Mefford, H.C., Sharp, A.J., Baker, C., Itsara, A., Jiang, Z., Buysse, K., Huang, S., Maloney, V.K., Crolla, J.A., Baralle, D., Collins, A., Mercer, C., Norga, K., de Ravel, T., Devriendt, K., Bongers, E.M., de Leeuw, N., Reardon, W., Gimelli, S., Bena, F., Hennekam, R.C., Male, A., Gaunt, L., Clayton-Smith, J., Simonic, I., Park, S.M., Mehta, S.G., Nik-Zainal, S., Woods, C.G., Firth, H.V., Parkin, G., Fichera, M., Reitano, S., Lo Giudice, M., Li, K.E., Casuga, I., Broome, A., Conrad, B., Schwerzmann, M., Räber, L., Gallati, S., Striano, P., Coppola, A., Tolmie, J.L., Tobias, E.S., Lilley, C., Armengol, L., Spysschaert, Y., Verloo, P., De Coene, A., Goossens, L., Mortier, G., Speleman, F., van Binsbergen, E., Nelen, M.R., Hochstenbach, R., Poot, M., Gallagher, L., Gill, M., McClellan, J., King, M.C., Regan, R., Skinner, C.,**

- Stevenson, R.E., Antonarakis, S.E., Chen, C., Estivill, X., Menten, B., Gimelli, G., Gribble, S., Schwartz, S., Sutcliffe, J.S., Walsh, T., Knight, S.J., Sebat, J., Romano, C., Schwartz, C.E., Veltman, J.A., de Vries, B.B., Vermeesch, J.R., Barber, J.C., Willatt, L., Tassabehji, M., Eichler, E.E. (2008). Recurrent rearrangements of chromosome 1q21.1 and variable pediatric phenotypes. *N Engl J Med.* 359:1685-99.
- Messiaen, L., Vogt, J., Bengesser, K., Fu, C., Mikhail, F., Serra, E., Garcia-Linares, C., Cooper, D.N., Lazaro, C., Kehrer-Sawatzki, H. (2011). Mosaic type-1 NF1 microdeletions as a cause of both generalized and segmental neurofibromatosis type-1 (NF1). *Hum Mutat.* 32:213-19.
- Migdalska, A.M., van der Weyden, L., Ismail, O., Rust, A.G., Rashid, M., White, J.K., Sanchez-Andrade, G., Lupski, J.R., Logan, D.W., Arends, M.J., Adams, D.J. (2012). Generation of the Sotos syndrome deletion in mice. *Mamm Genome.* 23:749-57.
- Moles, K.J., Gowans, G.C., Gedela, S., Beversdorf, D., Yu, A., Seaver, L.H., Schultz, R.A., Rosenfeld, J.A., Torchia, B.S., Shaffer, L.G. (2012). NF1 microduplications: identification of seven nonrelated individuals provides further characterization of the phenotype. *Genet Med.* 14:508-14.
- Morris, C.A., Demsey, S.A., Leonard, C.O., Dilts, C., Blackburn, B.L. (1988). Natural history of Williams syndrome: physical characteristics. *J Pediatr.* 113:318-26.
- Mulle, J. G., Pulver, A. E., Mcgrath, J. A., Wolynec, P. S., Dodd, A.F., Cutler, D.J., Sebat, J., Malhotra, D., Nestadt, G., Conrad, D.F., Hurles, M., Barnes, Ch.P., Ikeda, M., Iwata, N., Levinson, D.F., Gejman, P.V., Sanders, A.R., Duan, J., Mitchell, A.A., Peter, I., Sklar, P., O'Dushlaine, C.T., Grozeva, D., O'Donovan, M.C., Owen, M.J., Hultman, Ch.M., Kähler, A.K., Sullivan, P.F., Kirov, G., Warren, S.T. (2014). Reciprocal Duplication of the Williams-Beuren Syndrome Deletion on Chromosome 7q11.23 Is Associated with Schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 75:371-77.
- Murakami, T., Sun, Z.S., Lee, C.C., Lupski, J.R. (1997). Isolation of novel genes from the CMT1A duplication/HNPP deletion critical region in 17p11.2-p12. *Genomics.* 39:99-103.
- Myers, S., Freeman, C., Auton, A., Donnelly, P., McVean, G. (2008). A common sequence motif associated with recombination hot spots and genome instability in humans. *Nat Genet.* 40:1124-29.
- Okamoto, N., Fujii, T., Tanaka, J., Saito, K., Matsui, T., Harada, N. (2014). A clinical study of patients with pericentromeric deletion and duplication within 16p12.2-p11.2. *Am J Med Genet A.* 164A:213-19.
- Olson, T.M., Michels, V.V., Lindor, N.M., Pastores, G.M., Weber, J.L., Schaid, D.J., Driscoll, D.J., Feldt, R.H., Thibodeau, S.N. (1993). Autosomal dominant supravalvular aortic stenosis: localization to chromosome 7. *Hum Mol Genet.* 2:869-73.
- Ott, C.E., Hein, H., Lohan, S., Hoozeboom, J., Foulds, N., Grünhagen, J., Stricker, S., Villavicencio-Lorini, P., Klopocki, E., Mundlos, S. (2012). Microduplications upstream of MSX2 are associated with a phenocopy of cleidocranial dysplasia. *J Med Genet.* 49:437-41.
- Ou, Z., Stankiewicz, P., Xia, Z., Breman, A.M., Dawson, B., Wiszniewska, J., Szafranski, P., Cooper, M.L., Rao, M., Shao, L., South, S.T., Coleman, K., Fernhoff, P.M., Deray, M.J., Rosengren, S., Roeder, E.R., Enciso, V.B., Chinault, A.C., Patel, A., Kang, S.H., Shaw, C.A., Lupski, J.R., Cheung, S.W. (2011). Observation and prediction of recurrent human translocations mediated by NAHR between nonhomologous chromosomes. *Genome Res.* 21:33-46.
- Pentao, L., Wise, C.A., Chinault, A.C., Patel, P.I., Lupski, J.R. (1992). Charcot-Marie-Tooth type 1A duplication appears to arise from recombination at repeat sequences flanking the 1.5 Mb monomer unit. *Nat Genet.* 2:292-300.
- Perou, M.L. (1961). Congenital supravalvular aortic stenosis. A morphological study with attempt at classification. *Arch Pathol.* 71:453-66.
- Pinkel, D., Albertson, D.G. (2005). Comparative genomic hybridization. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 6:331-54.
- Pober, B.R., Johnson, M., Urban, Z. (2008). Mechanisms and treatment of cardiovascular disease in Williams-Beuren syndrome. *J Clin Invest.* 118:1606-15.
- Ponti, G., Tomasi, A., Pastorino, L., Ruini, C., Guarneri, C., Mandel, V.D., Seidenari, S., Pellacani, G. (2012). Diagnostic and pathogenetic role of café-au-lait macules in nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Hered Cancer Clin Pract.* 10:15.
- Qi, S., Mizuno, M., Yonezawa, K., Nawa, H., Takei, N. (2010). Activation of mammalian target of rapamycin signaling in spatial learning. *Neurosci Res.* 68:88-93.
- Ratto, G.M., Pizzorusso, T. (2006). A kinase with a vision: role of ERK in the synaptic plasticity of the visual cortex. *Adv Exp Med Biol.* 557:122-32.

- Reiter, L.T., Murakami, T., Koeuth, T., Gibbs, R.A., Lupski, J.R. (1997).** The human COX10 gene is disrupted during homologous recombination between the 24 kb proximal and distal CMT1A-REPs. *Hum Mol Genet.* 6:1595-603.
- Ren, D., Zhou, Y., Morris, D., Li, M., Li, Z., Rui, L. (2007).** Neuronal SH2B1 is essential for controlling energy and glucose homeostasis. *J Clin Invest.* 117:397-406.
- Rickman, L., Fiegler, H., Shaw-Smith, C., Nash, R., Cirigliano, V., Voglino, G., Ng, B.L., Scott, C., Whittaker, J., Adinolfi, M., Carter, N.P., Bobrow, M. (2006).** Prenatal detection of unbalanced chromosomal rearrangements by array CGH. *J Med Genet.* 43:353-61.
- Roehl, A.C., Vogt, J., Mussotter, T., Zickler, A.N., Spöri, H., Högel, J., Chuzhanova, N.A., Wimmer, K., Kluwe, L., Mautner, V.F., Cooper, D.N., Kehrer-Sawatzki, H. (2010).** Intrachromosomal mitotic nonallelic homologous recombination is the major molecular mechanism underlying type-2 NF1 deletions. *Hum Mutat.* 31:1163-73.
- Rosenberg, C., Knijnenburg, J., Bakker, E., Vianna-Morgante, A.M., Sloos, W., Otto, P.A., Kriek, M., Hansson, K., Krepischi-Santos, A.C.V., Fiegler, H., Carter, N.P., Bijlsma, E.K., van Haeringen, A., Szuhai, K., Tanke, H.J. (2006).** Array-CGH detection of micro rearrangements in mentally retarded individuals: clinical significance of imbalances present both in affected children and normal parents. *J Med Genet.* 43:180-186.
- Rosenberg, R.D., Shworak, N.W., Liu, J., Schwartz, J.J., Zhang, L. (1997).** Heparan sulfate proteoglycans of the cardiovascular system. Specific structures emerge but how is synthesis regulated?. *J Clin Invest.* 99:2062-70.
- Rosenfeld, J.A., Traylor, R.N., Schaefer, G.B., McPherson, E.W., Ballif, B.C., Klopocki, E., Mundlos, S., 4, Shaffer, L.G., Aylsworth, A.S. (2012).** Proximal microdeletions and microduplications of 1q21.1 contribute to variable abnormal phenotypes. *Eur J Hum Genet.* 20:754-61.
- Rosenfeld, J.A., Kim, K.H., Angle, B., Troxell, R., Gorski, J.L., Westemeyer, M., Frydman, M., Senturias, Y., Earl, D., Torchia, B., Schultz, R.A., Ellison, J.W., Tsuchiya, K., Zimmerman, S., Smolarek, T.A., Ballif, B.C., Shaffer, L.G. (2013).** Further Evidence of Contrasting Phenotypes Caused by Reciprocal Deletions and Duplications: Duplication of NSD1 Causes Growth Retardation and Microcephaly. *Mol Syndromol.* 3:247-54.
- Rujescu, D., Ingason, A., Cichon, S., Pietiläinen, O.P., Barnes, M.R., Touloupoulou, T., Picchioni, M., Vassos, E., Ettinger, U., Bramon, E., Murray, R., Ruggeri, M., Tosato, S., Bonetto, C., Steinberg, S., Sigurdsson, E., Sigmundsson, T., Petursson, H., Gylfason, A., Olason, P.I., Hardarsson, G., Jonsdottir, G.A., Gustafsson, O., Fossdal, R., Giegling, I., Möller, H.J., Hartmann, A.M., Hoffmann, P., Crombie, C., Fraser, G., Walker, N., Lonnqvist, J., Suvisaari, J., Tuulio-Henriksson, A., Djurovic, S., Melle, I., Andreassen, O.A., Hansen, T., Werge, T., Kiemeny, L.A., Franke, B., Veltman, J., Buizer-Voskamp, J.E., Sabatti, C., Ophoff, R.A., Rietschel, M., Nöthen, M.M., Stefansson, K., Peltonen, L., St Clair, D., Stefansson, H., Collier, D.A. (2009).** Disruption of the neurexin 1 gene is associated with schizophrenia. *Hum Mol Genet.* 18:988-96.
- Sabéran-Djoneidi, D., Sanguedolce, V., Assouline, Z., Lévy, N., Passage, E., Fontés, M. (2000).** Molecular dissection of the Schwann cell specific promoter of the PMP22 gene. *Gene.* 248:223-31.
- Saitta, S.C., Harris, S.E., Gaeth, A.P., Driscoll, D.A., McDonald-McGinn, D.M., Maisenbacher, M.K., Yersak, J.M., Chakraborty, P.K., Hacker, A.M., Zackai, E.H., Ashley, T., Emanuel, B.S. (2004).** Aberrant interchromosomal exchanges are the predominant cause of the 22q11.2 deletion. *Hum Mol Genet.* 13:417-28.
- Sanders, S.J., Ercan-Sencicek, A.G., Hus, V., Luo, R., Murtha, M.T., Moreno-De-Luca, D., Chu, S.H., Moreau, M.P., Gupta, A.R., Thomson, S.A., Mason, C.E., Bilguvar, K., Celestino-Soper, P.B., Choi, M., Crawford, E.L., Davis, L., Wright, N.R., Dhodapkar, R.M., DiCola, M., DiLullo, N.M., Fernandez, T.V., Fielding-Singh, V., Fishman, D.O., Frahm, S., Garagaloyan, R., Goh, G.S., Kammela, S., Klei, L., Lowe, J.K., Lund, S.C., McGrew, A.D., Meyer, K.A., Moffat, W.J., Murdoch, J.D., O'Roak, B.J., Ober, G.T., Pottenger, R.S., Raubeson, M.J., Song, Y., Wang, Q., Yaspan, B.L., Yu, T.W., Yurkiewicz, I.R., Beaudet, A.L., Cantor, R.M., Curland, M., Grice, D.E., Günel, M., Lifton, R.P., Mane, S.M., Martin, D.M., Shaw, C.A., Sheldon, M., Tischfield, J.A., Walsh, C.A., Morrow, E.M., Ledbetter, D.H., Fombonne, E., Lord, C., Martin, C.L., Brooks, A.I., Sutcliffe, J.S., Cook, E.H. Jr., Geschwind, D., Roeder, K., Devlin, B., State, M.W. (2011).** Multiple recurrent de novo CNVs, including duplications of the 7q11.23 Williams syndrome region, are strongly associated with autism. *Neuron.* 70:863-85.
- Saugier-Verber, P., Bonnet, C., Afenjar, A., Drouin-Garraud, V., Coubes, C., Fehrenbach, S., Holder-Espinasse, M., Roume, J., Malan, V., Portnoi, M.F., Jeanne, N., Baumann, C., Héron, D., David, A.,**

- Gérard, M., Bonneau, D., Lacombe, D., Cormier-Daire, V., Billette de Villemeur, T., Frébourg, T., Bürglen, L. (2007). Heterogeneity of NSD1 alterations in 116 patients with Sotos syndrome. *Hum Mutat.* 28:1098-107.
- Sellars, E.A., Zimmerman, S.L., Smolarek, T., Hopkin, R.J. (2011). Ventricular noncompaction and absent thumbs in a newborn with tetrasomy 5q35.2–5q35.3: an association with Hunter-McAlpine syndrome?. *Am J Med Genet A.* 155A:1409-13.
- Shaffer, L.G., Lupski, J.R. (2000). Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans. *Annu Rev Genet.* 34:297-329.
- Shaikh, T.H., Kurahashi, H., Saitta, S.C., O'Hare, A.M., Hu, P., Roe, B.A., Driscoll, D.A., McDonald-McGinn, D.M., Zackai, E.H., Budarf, M.L., Emanuel, B.S. (2000). Chromosome 22-specific low copy repeats and the 22q11.2 deletion syndrome: genomic organization and deletion endpoint analysis. *Hum Mol Genet.* 9:489-501.
- Shaikh, T.H., O'Connor, R.J., Pierpont, M.E., McGrath, J., Hacker, A.M., Nimmakayalu, M., Geiger, E., Emanuel, B.S. and Saitta, S.C. (2007). Low copy repeats mediate distal chromosome 22q11.2 deletions: sequence analysis predicts breakpoint mechanisms. *Genome Res.* 17:482-91.
- Sharp, A.J., Hansen, S., Selzer, R.R., Cheng, Z., Regan, R., Hurst, J.A., Stewart, H., Price, S.M., Blair, E., Hennekam, R.C., Fitzpatrick, C.A., Segraves, R., Richmond, T.A., Guiver, C., Albertson, D.G., Pinkel, D., Eis, P.S., Schwartz, S., Knight, S.J., Eichler, E.E. (2006). Discovery of previously unidentified genomic disorders from the duplication architecture of the human genome. *Nat Genet.* 38:1038-42.
- Sharp, A.J., Locke, D.P., McGrath, S.D., Cheng, Z., Bailey, J.A., Vallente, R.U., Pertz, L.M., Clark, R.A., Schwartz, S., Segraves, R., Oseroff, V.V., Albertson, D.G., Pinkel, D., Eichler, E.E. (2005). Segmental duplications and copy-number variation in the human genome. *Am J Hum Genet.* 77:78-88.
- Shaw, C.J., Lupski, J.R. (2004). Implications of human genome architecture for rearrangement-based disorders: the genomic basis of disease. *Hum Mol Genet.* 13(Spec No 1):57-64.
- Shinawi, M., Liu, P., Kang, S.H., Shen, J., Belmont, J. W., Scott, D.A., Probst, F.J., Craigen, W.J., Graham, B.H., Pursley, A., Clark, G., Lee, J., Proud, M., Stocco, A., Rodriguez, D.L., Kozel, B.A., Sparagana, S., Roeder, E.R., McGrew, S.G., Kurczynski, T.W., Allison, L.J., Amato, S., Savage, S., Patel, A., Stankiewicz, P., Beaudet, A.L., Cheung, S.W., Lupski, J.R. (2010). Recurrent reciprocal 16p11.2 rearrangements associated with global developmental delay, behavioural problems, dysmorphism, epilepsy, and abnormal head size. *J Med Genet.* 47:332-41.
- Shy, M.E., Garbern, J.Y., Kamholz, J. (2002). Hereditary motor and sensory neuropathies: a biological perspective. *Lancet Neurol.* 1:110-18.
- Scheiber, D., Fekete, G., Urban, Z., Tarjan, I., Balaton, G., Kosa, L., Nagy, K., Vajo, Z. (2006). Echocardiographic findings in patients with Williams-Beuren syndrome. *Wien Klin Wochenschr.* 118:538-42.
- Scherer, S.W., Gripp, K.W., Lucena, J., Nicholson, L., Bonnefont, J.P., Pérez-Jurado, L.A., Osborne, L.R. (2005). Observation of a parental inversion variant in a rare Williams-Beuren syndrome family with two affected children. *Hum Genet.* 117:383-88.
- Schubert, C. (2009). The genomic basis of the Williams-Beuren syndrome. *Cell Mol Life Sci.* 66:1178-97.
- Schuster-Böckler, B., Conrad, D., Bateman, A. (2010). Dosage sensitivity shapes the evolution of copy-number varied regions. *PloS One.* 5:e9474.
- Sotos, J.F., Dodge, P.R., Muirhead, D., Crawford, J.D., Talbot, N.B. (1964). Cerebral gigantism in childhood. A syndrome of excessively rapid growth and acromegalic features and a nonprogressive neurologic disorder. *N Engl J Med.* 271:109-16.
- Stamm, C., Kreutzer, C., Zurawski, D., Nollert, G., Friehs, I., Mayer, J.E., Jonas, R.A., del Nido, P.J. (1999). Forty-one years of surgical experience with congenital supraaortic stenosis. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 118:874-85.
- Stankiewicz, P., Lupski, J.R. (2002). Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. *Trends Genet.* 18:74-82.
- Stefansson, H., Rujescu, D., Cichon, S., Pietiläinen, O.P., Ingason, A., Steinberg, S., Fossdal, R., Sigurdsson, E., Sigmundsson, T., Buizer-Voskamp, J.E., Hansen, T., Jakobsen, K.D., Muglia, P., Francks, C., Matthews, P.M., Gylfason, A., Halldorsson, B.V., Gudbjartsson, D., Thorgeirsson, T.E., Sigurdsson, A., Jonasdottir, A., Jonasdottir, A., Bjornsson, A., Mattiasdottir, S., Blondal, T., Haraldsson, M., Magnúsdóttir, B.B., Giegling, I., Möller, H.J., Hartmann, A., Shianna, K.V., Ge, D., Need, A.C., Crombie,



- C., Fraser, G., Walker, N., Lonnqvist, J., Suvisaari, J., Tuulio-Henriksson, A., Paunio, T., Touloupoulou, T., Bramon, E., Di Forti, M., Murray, R., Ruggeri, M., Vassos, E., Tosato, S., Walshe, M., Li, T., Vasilescu, C., Mühleisen, T.W., Wang, A.G., Ullum, H., Djurovic, S., Melle, I., Olesen, J., Kiemeny, L.A., Franke, B., Sabatti, C., Freimer, N.B., Gulcher, J.R., Thorsteinsdottir, U., Kong, A., Andreassen, O.A., Ophoff, R.A., Georgi, A., Rietschel, M., Werge, T., Petursson, H., Goldstein, D.B., Nöthen, M.M., Peltonen, L., Collier, D.A., St Clair, D., Stefansson, K. (2008). Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature*. 455:232-36.
- Stromme, P., Bjornstad, P.G., Ramstad, K. (2002).** Prevalence estimation of Williams syndrome. *J Child Neurol*. 17:269-71.
- Swillen, A., Devriendt, K., Legius, E., Prinzie, P., Vogels, A., Ghesquiere, P., Fryns, J.P. (1999).** The behavioural phenotype in velocardio-facial syndrome (VCFS): from infancy to adolescence. *Genet Couns*. 10:79-88.
- Tabet, A.C., Pilorge, M., Delorme, R., Amsellem, F., Pinard, J.M., Leboyer, M., Verloes, A., Benzacken, B., Betancur, C. (2012).** Autism multiplex family with 16p11.2p12.2 microduplication syndrome in monozygotic twins and distal 16p11.2 deletion in their brother. *Eur J Hum Genet*. 20:540-46.
- Tatton-Brown, K., Douglas, J., Coleman, K., Baujat, G., Chandler, K., Clarke, A., Collins, A., Davies, S., Faravelli, F., Firth, H., Garrett, C., Hughes, H., Kerr, B., Liebelt, J., Reardon, W., Schaefer, G.B., Splitt, M., Temple, I.K., Waggoner, D., Weaver, D.D., Wilson, L., Cole, T., Cormier-Daire, V., Irrthum, A., Rahman, N. (2005).** Multiple mechanisms are implicated in the generation of 5q35 microdeletions in Sotos syndrome. *J Med Genet*. 42:307-13.
- Tatton-Brown, K., Rahman, N. (2004).** Clinical features of NSD1-positive Sotos syndrome. *Clin Dysmorphol*. 13:199-204.
- Todorova, M.G., Grieshaber, M.C., Cámara, R.J.A., Miny, P., Palmowski-Wolfe, A.M. (2014).** Anterior segment dysgenesis associated with Williams-Beuren syndrome: a case report and review of the literature. *BMC Ophthalmol*. 14:70.
- Tooth, H. (1886).** The Peroneal Type of Progressive Muscular Atrophy. H. K. Lewis, London.
- Turner, D.J., Miretti, M., Rajan, D., Fiegler, H., Carter, N.P., Blayney, M.L., Beck, S., Hurles, M.E. (2008).** Germline rates of de novo meiotic deletions and duplications causing several genomic disorders. *Nat Genet*. 40:90-95.
- Ullmann, R., Turner, G., Kirchhoff, M., Chen, W., Tonge, B., Rosenberg, C., Field, M., Vianna-Morgante, A.M., Christie, L., Krepischi-Santos, A.C., Banna, L., Brereton, A.V., Hill, A., Bisgaard, A., Müller, I., Hultschig, C., Erdogan, F., Wiczorek, G., Ropers, H.H. (2007).** Array CGH identifies reciprocal 16p13.1 duplications and deletions that predispose to autism and/or mental retardation. *Hum Mutat*. 28:674-82.
- Urbán, Z., Michels, V.V., Thibodeau, S.N., Davis, E.C., Bonnefont, J.P., Munnich, A., Eyskens, B., Gewillig, M., Devriendt, K., Boyd, C.D. (2000).** Isolated supravalvular aortic stenosis: functional haploinsufficiency of the elastin gene as a result of nonsense-mediated decay. *Hum Genet*. 106:577-88.
- Urbán, Z., Riazi, S., Seidl, T.L., Katahira, J., Smoot, L.B., Chitayat, D., Boyd, C.D., Hinek, A. (2002).** Connection between elastin haploinsufficiency and increased cell proliferation in patients with supravalvular aortic stenosis and Williams-Beuren syndrome. *Am J Hum Genet*. 71:30-44.
- Valente, L., Tiranti, V., Marsano, R.M., Malfatti, E., Fernandez-Vizarra, E., Donnini, C., Mereghetti, P., De Gioia, L., Burlina, A., Castellan, C., Comi, G.P., Savasta, S., Ferrero, I., Zeviani, M. (2007).** Infantile encephalopathy and defective mitochondrial DNA translation in patients with mutations of mitochondrial elongation factors EFG1 and EFTu. *Am J Hum Genet*. 80:44-58.
- Vogiatzis, A., Marshall, G.E., Konstas, A.G., Lee, W.R. (1994).** Immunogold study of non-collagenous matrix components in normal and exfoliative iris. *Br J Ophthalmol*. 78:850-58.
- Walters, R.G., Jacquemont, S., Valsesia, A., de Smith, A.J., Martinet, D., Andersson, J., Falchi, M., Chen, F., Andrieux, J., Lobben, S., Delobel, B., Stutzmann, F., El-Sayed Moustafa, J.S., Chèvre, J.C., Lecoeur, C., Vatin, V., Bouquillon, S., Buxton, J.L., Boute, O., Holder-Espinasse, M., Cuisset, J.M., Lemaitre, M.P., Ambresin, A.E., Brioschi, A., Gaillard, M., Giusti, V., Fellmann, F., Ferrarini, A., Hadjikhani, N., Campion, D., Guilmatre, A., Goldenberg, A., Calmels, N., Mandel, J.L., Le Caignec, C., David, A., Isidor, B., Cordier, M.P., Dupuis-Girod, S., Labalme, A., Sanlaville, D., Béri-Dexheimer, M., Jonveaux, P., Leheup, B., Ounap, K., Bochukova, E.G., Henning, E., Keogh, J., Ellis, R.J., Macdermot, K.D., van Haelst, M.M., Vincent-Delorme, C., Plessis, G., Touraine, R., Philippe, A., Malan, V., Mathieu-Dramard, M., Chiesa, J., Blaumeiser, B., Kooy, R.F., Caiazzo, R., Pigeyre, M., Balkau, B., Sladek, R., Bergmann, S., Mooser, V., Waterworth, D., Reymond, A., Vollenweider, P., Waeber, G., Kurg, A., Palta, P., Esko, T.,**

- Metspalu, A., Nelis, M., Elliott, P., Hartikainen, A.L., McCarthy, M.I., Peltonen, L., Carlsson, L., Jacobson, P., Sjöström, L., Huang, N., Hurler, M.E., O'Rahilly, S., Farooqi, I.S., Männik, K., Jarvelin, M.R., Pattou, F., Meyre, D., Walley, A.J., Coin, L.J., Blakemore, A.I., Froguel, P., Beckmann, J.S. (2010). A new highly penetrant form of obesity due to deletions on chromosome 16p11.2. *Nature*. 463:671-75.
- Warner, L.E., Reiter, L.T., Murakami, T., Lupski, J.R. (1996).** Molecular mechanisms for Charcot-Marie-Tooth disease and related demyelinating peripheral neuropathies. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 61:659-71.
- Weise, A., Mrasek, K., Klein, E., Mulatinho, M., Llerena, J.C. Jr., Hardekopf, D., Pekova, S., Bhatt, S., Kosyakova, N., Liehr, T. (2012).** Microdeletion and Microduplication Syndromes. *J Histochem Cytochem*. 60:346-58.
- Wessel, A., Gravenhorst, V., Buchhorn, R., Gosch, A., Partsch, C.J., Pankau, R. (2004).** Risk of sudden death in the Williams-Beuren syndrome. *Am J Med Genet A*. 127A:234-37.
- Williams, J.C., Barratt-Boyes, B.G., Lowe, J.B. (1961).** Supravalvular aortic stenosis. *Circulation*. 24:1311-18.
- Winter, M., Pankau, R., Amm, M., Gosch, A., Wessel, A. (1996).** The spectrum of ocular features in the Williams-Beuren syndrome. *Clin Genet*. 49:28-31.
- Yang, M., May, W.S., Ito, T. (1999).** JAZ requires the double-stranded RNA-binding zinc finger motifs for nuclear localization. *J Biol Chem*. 274:27399-406.
- Yobb, T., Somerville, M.J., Willatt, L., Firth, H.V., Harrison, K., Mackenzie, J., Gallo, N., Morrow, B.E., Shaffer, L.G., Babcock, M., Chernos, J., Bernier, F., Sprysak, K., Christiansen, J., Haase, S., Elyas, B., Lilley, M., Bamforth, S., McDermid, H.E. (2005).** Microduplication and Triplication of 22q11.2: A Highly Variable Syndrome. *Am J Hum Genet*. 76:865-76.
- Zackai, E.H., Emanuel, B.S. (1980).** Site-specific reciprocal translocation, t(11;22)(q23;q11) in several unrelated families with 3:1 meiotic disjunction. *Am J Med Genet*. 7:507-21.
- Zickler, A.M., Hampp, S., Messiaen, L., Bengesser, K., Mussotter, T., Roehl, A.C., Wimmer, K., Mautner, V.F., Kluwe, L., Upadhyaya, M., Pasmant, E., Chuzhanova, N., Kestler, H.A., Högel, J., Legius, E., Claes, K., Cooper, D.N., Kehrer-Sawatzki, H. (2012).** Characterization of the nonallelic homologous recombination hotspot PRS3 associated with type-3 NF1 deletions. *Hum Mutat*. 33:372-83.
- Žilina, O., Reimand, T., Tammur, P., Tillmann, V., Kurg, A., Ounap, K. (2013).** Patient with Dup(5)(q35.2-q35.3) reciprocal to the common Sotos syndrome deletion and review of the literature. *Eur J Med Genet*. 56:202-6.

## 7. Příloha

*Příloha 1:* Schematicky znázorněné všechny chromozomy s vyznačenými místy známých mikrolečních a mikroduplikačních regionů. Červené šipky značí mikrolece, modré šipky mikroduplikace a modročervené šipky určují regiony s výskytem reciproké mikrolece a mikroduplikace (převzato z review Weise, 2012).

