

**ANNALES
ACADEMIAE MEDICAE
GEDANENSIS
TOM XLII
2012
SUPPLEMENT 5**

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

Jolanta Wierzba

**Analiza kliniczna fenotypu i poradnictwo
genetyczne w zespole Cornellii de Lange**

***Clinical phenotype analysis and genetic counseling
in Cornelia de Lange Syndrome***

Rozprawa habilitacyjna

Zakład Pielęgniarstwa Ogólnego GUMed
p.o. kierownika: dr med. Andrzej Chamienia

GDAŃSK 2012

Wydano za zgodą
Senackiej Komisji Wydawnictw Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

REDAKTOR NACZELNY
EDITOR-IN-CHIEF
Marek Grzybiak

HONOROWY REDAKTOR NACZELNY
HONORARY EDITOR-IN-CHIEF
Stefan Raszeja

KOMITET REDAKCYJNY
EDITORIAL BOARD
z-ca redaktora naczelnego – Adam Szarszewski
sekretarz redakcji – Włodzimierz Kuta
redaktor techniczny – Tadeusz Skowrya
Tomasz Bączek, Zdzisław Bereznowski, Anna Grygorowicz, Andrzej Hellmann,
Zbigniew Kmiec, Dariusz Kozłowski, Jerzy Kuczkowski, Krzysztof Narkiewicz,
Michał Obuchowski, Julian Świerczyński, Aleksandra Żurowska

ADRES REDAKCJI
ADDRESS OF EDITORIAL OFFICE
Annales Academiae Medicae Gedanensis
Zakład Anatomii Klinicznej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
ul. Dębinki 1, 80-211 Gdańsk, Poland
e-mail: annales@gumed.edu.pl

Artykuły opublikowane w Annales Academiae Medicae Gedanensis
są zamieszczane w bazie EMBASE
Articles published in Annales Academiae Medicae Gedanensis are covered
by the Excerpta Medica database (EMBASE)

PL ISSN 0303–4135

Gdański Uniwersytet Medyczny

Serdecznie dziękuję Moim Nauczycielom
Profesorom Wacławie Celińskiej i Annie Balcerskiej

Składam podziękowanie Profesor Elżbiecie Adamkiewicz-Drożyńskiej oraz wszystkim Kolegom z Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, z którymi mam zaszczyt pracować na rzecz pacjentów z zespołem Cornellii de Lange. Serdecznie dziękuję Kolegom Genetykom Klinicznym ze wszystkich ośrodków w Polsce, współpracujących ze mną na wielu etapach diagnozowania i terapii. W sposób szczególny zaś dziękuję Rodzicom Pacjentów z zespołem Cornellii de Lange, bez których przenoszącej góry miłości do swoich dzieci moje życie byłoby inne.

*Praca dedykowana jest
Mojej Rodzinie
i Panu Wiesławowi Wnukowi – Prezesowi CdLS-Polska*

SPIS TREŚCI

Wykaz skrótów i symboli użytych w pracy	9
1. WSTĘP	11
1.1. Zespół Cornelia de Lange (CdLS)	11
1.1.1. Wprowadzenie	11
1.1.2. Epidemiologia	12
1.1.3. Etiopatogeneza	13
1.1.4. Dziedziczenie	18
1.1.5. Fenotyp CdLS. Kryteria rozpoznawania klasycznej i łagodnej postaci	19
1.1.6. Korelacja genotyp-fenotyp	22
2. CEL PRACY	26
3. MATERIAŁ I METODY	27
3.1. Kryteria doboru badanej grupy	27
3.2. Metody analizy klinicznej	28
3.2.1. Wywiad	28
3.2.2. Badania przedmiotowe	28
3.2.3. Badanie antropometryczne z uwzględnieniem zmienności wiekowej	29
3.2.4. Diagnostyka przewodu pokarmowego	29
3.2.5. Ocena układu kostnego	29
3.2.6. Badanie kardiologiczne	30
3.2.7. Diagnostyka nefrologiczna i urologiczna	30
3.2.8. Badanie endokrynologiczne i ginekologiczne	30
3.2.9. Badania hematologiczne	30
3.2.10. Badanie audiologiczne	30
3.2.11. Badanie okulistyczne	30
3.2.12. Badanie neurologiczne	31
3.2.13. Ocena rozwoju oraz profilu zachowań	31
3.2.14. Klasyfikacja fenotypu	31
3.2.15. Miejsce wykonywania badań klinicznych	31
3.3. Diagnostyka cytogenetyczna i molekularna	32
3.3.1. Analiza cytogenetyczna	32
3.3.2. Badania mutacji i polimorfizmów genu NIPBL i SMC1	32
3.3.3. Badania MLPA i Array CGH	33
3.3.4. Laboratoria wykonujące badania genetyczne	33
3.4. Analiza kliniczna uwzględniająca korelacje genotyp-fenotyp	34
3.5. Metody analizy statystycznej	34
4. WYNIKI BADAŃ	36
4.1. Analiza kliniczna fenotypu z uwzględnieniem wieku oraz podziału na postać klasyczną i łagodną	36
4.1.1. Okres prenatalny i perinatalny	36
4.2. Zmienność fenotypowa zależna od okresów rozwoju somatycznego	45
4.2.1. Analiza rozwoju somatycznego w oparciu o siatki percentylowe	45
4.2.2. Ocena zmienności fenotypu w poszczególnych grupach wiekowych z uwzględnieniem okresu dojrzewania i dorosłości	45
4.2.3. Ocena rozwoju psychomotorycznego i osiągnięcie poszczególnych umiejętności	46

4.3. Wady rozwojowe i układowe zaburzenia czynnościowe.....	47
4.3.1. Zaburzenia gastroenterologiczne	47
4.3.2. Wady układu kostnego.....	48
4.3.3. Wady układu sercowo-naczyniowego	49
4.3.4. Wady układu moczowo-płciowego.....	50
4.3.5. Zaburzenia endokrynologiczne	50
4.3.6. Zaburzenia hematologiczne i immunologiczne	51
4.3.7. Niedosłuch i głuchota	52
4.3.8. Wady narządu wzroku	52
4.4. Zaburzenia neurologiczne i fenotyp zachowań	53
4.4.1. Zaburzenia neurologiczne	53
4.4.2. Zaburzenia rozwoju i fenotyp zachowań	53
4.5. Czynniki prognostyczne	54
4.6. Analiza zgonów	55
4.7. Wyniki badań cytogenetycznych i molekularnych	56
4.7.1. Analiza cytogenetyczna	56
4.7.2. Analiza molekularna – mutacje punktowe genu NIPBL i SMC1	56
4.7.3. Rearanżacje genomowe	57
4.8. Analiza kliniczna uwzględniająca korelacje genotyp-fenotyp	60
4.9. Fenotyp klasyczny i łagodny	71
4.10. Szczególne warianty fenotypu CdLS.....	76
4.10.1. Współistnienie aberracji chromosomowej i mutacji genu NIPBL	76
4.10.2. Rearanżacje genomowe	78
5. DYSKUSJA	80
5.1. Okres pre- i perinatalny	81
5.2. Fenotyp	84
5.3. Rozwój psychoruchowy i osiąganie umiejętności	86
5.4. Zaburzenia budowy i funkcjonowania przewodu pokarmowego	87
5.5. Wady narządowe	89
5.6. Zaburzenia słuchu i mowy.....	92
5.7. Zaburzenia układu nerwowego	94
5.8. Fenotyp behawioralny	94
5.9. Zgony	95
5.10. Okres dojrzewania i dorosłości.....	96
5.11. Fenotyp łagodny	98
5.12. Korelacja genotyp-fenotyp	99
5.13. Mutacje ciche	107
5.14. Szczególne warianty fenotypu CdLS.....	108
5.15. Rearanżacje genomowe	108
5.16. Rekomendacje	112
6. WNIOSKI	119
7. PIŚMIENNICTWO	120
8. STRESZCZENIE	135
9. SUMMARY	137
10. ANEKS	139
10.1. Tabele kliniczne.....	139
10.2. Stowarzyszenie Cornelia de Lange – Polska i jego rola w zainicjowaniu kompleksowych ogólnopolskich badań osób z CdLS	171

Wykaz skrótów i symboli użytych w pracy

- ABR** – *Auditory Brain Responce*
- ACGH** – *Array Comparative Genom Hybrydisation* / porównawcza analiza genomowa oparta na mikromacierzach
- AI** – *Aortal Insufficiency* / niedomykalność zastawki aortalnej
- ATRX** – *Alpha Thalasemia/X Dependent Mental Retardation* / alfa talasemia z upośledzeniem umysłowym
- AS** – *Aortal Stenosis* / zwężenie aorty
- ASD** – *Atrial Septal Defect*/otwór międzyprzedsionkowy
- AVC** – *Atrio Ventricular Canal* /wspólny kanał przedsionkowo-komorowy
- dB** – decybele
- CTCF** – *Binding Transcriptional Insulator Protein* / białko uczestniczące w procesie transkrypcji
- DHPLC** – *Denaturing High Performance Liquid Chromatograph* / denaturacyjna wysokosprawnościowa chromatografia cieczowa
- EKG** – Badanie elektrokardiograficzne
- EEG** – Badanie elektroencefalografia
- EUROCAT** – *European Surveillance of Congenital Anomalies* / Europejski Rejestr Wad Rozwojowych
- FAS** – *Fetal Alcohol Syndrome* / płodowy zespół alkoholowy
- FoA** – *Forman Ovale* / otwór owalny
- FT3** – *Free Triiodothyreoin* / wolna trójiodotyronina
- FT4** – *Free Thyroxin* / wolna tyroksyna
- GER** – *Gastroesophageal Reflux* / refluks żołądkowo- przełykowy
- GUMed** – Gdański Uniwersytet Medyczny
- HbA1C** – *Glycated Hemoglobin* / hemoglobina glikowana
- HEAT** – *Huntington Elongation Factor* / domena złożona z wielokrotnych powtórzeń aminokwasów, prawdopodobne miejsce interakcji z innymi białkami
- kb** – kilobase
- LOVD** – *Leiden Open Variation Database*
- M+** – pacjenci z mutacją NIPBL
- M-** – pacjenci bez mutacji NIPBL
- MI** – *Mitral Insufficiency* / Niedomykalność zastawki mitralnej
- MLPA** – *Multiple Ligation Dependent Probe Amplification* / ligazozależna reakcja łańcuchowa polimerazy
- NLS** – *Nucleus Localisation Signal* / Domena odpowiedzialna za transport przez błonę jądrową
- NT** – *Nuchal transluminescency* / przezierność karkowa
- OUN** – ośrodkowy układ nerwowy
- p** – ramiona krótkie chromosomu
- pac** – pacjenci
- PAPP-A** – *Pregnancy Associated Plasma Protein A*
- PCR** – *Polymerase Chain Reaction* / łańcuchowa reakcja polimerazy
- PDA** – *Persistent Ductus Arteriosus* / przetrwały przewód tętniczy
- PRWWR** – Polski Rejestr Wrodzonych Wad Rozwojowych
- PS** – *Pulmonar Stenosis* / zwężenie tętnicy płucnej

q – ramiona długie chromosomu
rż – rok życia
TI – *Tricuspid Insufficiency* / niedomykalność zastawki aortalnej
tyg – tygodnie
USG – badanie ultrasonograficzne
TSH – Thyreostatin Hormone / hormon tyreotropowy
WWS – wrodzone wady serca

Nazwy genów:

CTCF – gen kodujący białko CTCF
DDX11 – gen kodujący zależną od ATP helikazę RNA DDX11
HDAC8 – gen kodujący deacetylazę histonową 8
MAU 2 – gen kodujący białko MAU2 (hSCC4)
NIPBL – gen kodujący białko delanginę
NUP – gen kodujący nukleoporynę
PDS5 – gen kodujący białko PDS5
RAD21 – gen kodujący białko RAD 21
SMC – *Structural Maintance of Chromosomes* / rodzina genów kodujących białka kompleksu odpowiedzialnego za integrację chromosomów

Nazwy mutacji

F – *frameshift*
N – *nonsense*
M – *missense*
IF – *in frame*
SS – *splice site*
S – *silent*

1. WSTĘP

1.1. Zespół Cornellii de Lange (CdLS)

1.1.1. Wprowadzenie

W ciągu ostatnich dziesięcioleci dokonał się znaczący postęp w zakresie diagnostyki cytogenetycznej i molekularnej chorób uwarunkowanych genetycznie [5]. Jego efektem było udowodnienie etiopatogenezy wielu rzadkich zespołów, których fenotypy znane były dotąd jedynie ze szczegółowych opisów klinicznych. Możliwe stało się udzielanie wiarygodnej porady genetycznej, proponowanie diagnostyki prenatalnej, a w wielu przypadkach prognozowanie przebiegu choroby dziedzicznej. Lista rzadkich chorób uwarunkowanych genetycznie jest niezwykle bogata i poszerza się co roku. Przyjmuje się, że aktualnie zidentyfikowano ponad 12 000 odrębnych jednostek chorobowych uwarunkowanych genetycznie (*OMIN*, *Orphanet*). Znaczna ich część ma złożony obraz kliniczny, z zaburzeniami strukturalnymi obejmującymi wiele narządów i metabolicznymi, co implikuje złożony profil zaburzeń czynnościowych organizmu. Pomimo postępu wiedzy o istocie poszczególnych rzadkich chorób uwarunkowanych genetycznie, stosowanie celowanej i skutecznej terapii w tej grupie chorób nadal należy do rzadkości. Oczekiwanym rezultatem jest zatem nie tyle wyleczenie chorego, ale przedłużenie długości i maksymalna poprawa komfortu jego życia (*compliance*) [41, 123, 173]. Unikatywne zestawienie cech dysmorficznych, wad rozwojowych, zaburzeń rozwoju i specyficznych zachowań u każdego chorego zmusza do indywidualizacji metod postępowania. Konieczna jest wielodyscyplinarna współpraca lekarzy medycyny, psychologów i rehabilitantów oraz dostosowanie systemu edukacji na wszystkich poziomach. Niezbędny jest odpowiedni system opieki socjalnej i pomocy rodzinie chorego.

Modelowym przykładem rzadkiej choroby uwarunkowanej genetycznie o złożonym obrazie klinicznym jest występujący z częstością 1:10000–1:30000 [7, 11, 82, 93, 118] zespół Cornellii de Lange (CdLS), który zaliczany jest do genetycznie uwarunkowanych kohezynopatii.

Zespół Cornellii de Lange (*Cornelia de Lange syndrome*, CdLS; *Brachmann-de Lange syndrome*, OMIM122470, 300590 610759) został opisany po raz pierwszy w roku 1849 przez Vrolika [202], natomiast jego szczegółowy obraz kliniczny został scharakteryzowany w roku 1916 przez Brachmanna [21] oraz w roku 1933 przez de Lange [38] (stąd wynika używanie zamiennie nazwy: Brachmann-de Lange i Cornelia de Lange). Jak zauważyli Choo i Bianchi [34] „raz widziany przypadek CdLS jest nie do zapomnienia”. Charakterystyczny fenotyp postaci klasycznej zespołu sprawia, że rozpoznanie w większości przypadków jest stawiane wkrótce po urodzeniu. Składają się na niego: pre- i postnatalna mikrosomia z proporcjonalnym małogłowie, nadmierne, ciemne owłosienie głowy oraz tułowia, zrośnięte ze sobą brwi (*synophrys*), długie gęste rzęsy, nisko osadzone uszy, cofnięta i mała żuchwa, wady kończyn, przede wszystkim górnych. Ponadto często stwierdza się wady: serca, układu moczowo-płciowego, narządu wzroku, anatomiczne i funkcjonalne zaburzenia przewodu pokarmowego i niedosłuch [1, 21, 34, 38, 40, 79, 80, 93, 115, 144, 145, 156]. Typowa jest niepełnosprawność intelektualna z brakiem rozwoju lub jej niedorozwojem i zaburzeniami zachowania z agresją, autoagresją i zachowaniami autystycznymi [8, 9, 14, 16, 20, 142]. Scharakteryzowano również postać łagodną (*mild*), w której cechy dysmorfii są mniej wyrażone, wady narządowe

występują rzadziej, czemu towarzyszy upośledzenie umysłowe lekkiego lub umiarkowanego stopnia [1, 82, 127, 186, 199]. Do roku 2004 rozpoznanie zespołu opierało się wyłącznie na obrazie klinicznym, którego oceny była w znacznej mierze oparta na kryteriach subiektywnych. Zrównoważona translokacja t(5; 13)(p13.1;q12.1) *de novo* u osoby z fenotypem CdLS stała się podstawą do szczegółowej diagnostyki molekularnej tego regionu, co w rezultacie doprowadziło w roku 2004 do znalezienia przez dwa niezależne zespoły: Tonkin i wsp. [196] oraz Krantza i wsp. [99] mutacji w genie *NIPBL*, którego produkt białkowy stanowi składową kompleksu kohezyny.

W ostatnich latach dowiedziono, że białka kompleksu kohezyny odgrywają kluczową rolę w prawidłowej segregacji chromosomów przy podziale komórkowym, wpływają na naprawę uszkodzeń DNA w odpowiedzi na czynniki uszkadzające, a także na regulację transkrypcji i ekspresji genów [108, 109, 125, 131, 136, 219]. Tym samym wpływają bezpośrednio na pre- i postnatalny rozwój organizmów oraz proces starzenia. Udowodniono, że genetycznie uwarunkowane zaburzenia funkcji kompleksu kohezyny powodują także inne choroby przebiegające z upośledzeniem umysłowym i wadami wielonarządowymi, nierzadko zagrażające życiu (w tym zespół Robertsza, ATRX, Warsaw Breaking Syndrome [183, 200, 201]. Mutacje genu *NIPBL* stwierdzono u 25–60% pacjentów z fenotypem CdLS [16, 17, 59, 154, 186, 214]. Kolejne badania ujawniły niejednorodność pod względem molekularnym podłoża tego zespołu. Udowodniono związek fenotypu CdLS z mutacjami następujących genów kompleksu kohezyny: *SMC1A* (Xp11), *SMC3* (10q25) i *HDAC8* (Xq13) [36, 37, 132]. Prowadzone są również badania nad związkiem fenotypu CdLS z obecnością mutacji w innych genach kompleksu kohezyny – m.in. *PDS5A* (4p14) [23, 107] oraz *CTCF* (16q22) [55, 141]. Opisano również osoby z fenotypem CdLS, u których występowały różne konstytucyjne aberracje chromosomowe [2, 12, 39, 119], przy czym w części przypadków aberracje obejmowały fragmenty chromosomów zawierające geny zaangażowane w budowę kompleksu kohezyny. Niezwykła jest różnorodność fenotypowa zespołu, nawet kiedy mutacje dotyczą tego samego funkcjonalnego fragmentu genu. Sugerowana jest zatem znacznie bardziej złożona heterogenność zespołu z udziałem nie tylko czynników genetycznych, ale także uwarunkowań epigenetycznych i środowiskowych [89, 109].

1.1.2. Epidemiologia

Analizując dotąd publikowane dane szacowana częstość występowania CdLS wynosiła 1:10000 do 1:50000 [7, 12, 80, 82, 118, 185]. Potwierdzenie molekularne rozpoznania klinicznego było możliwe od roku 2004 [36, 37, 99, 132, 196], nadal jednak w znacznym odsetku mimo ewidentnego obrazu klinicznego wyniki badań molekularnych i cytogenetycznych są negatywne, co uniemożliwia weryfikację zespołu. Zróżnicowanie danych epidemiologicznych wynika ze znacznej zmienności obrazu klinicznego, szczególnie dotyczy to postaci łagodnej zespołu. Zależy także od poziomu wiedzy o symptomatologii zespołu w różnych krajach, także w Polsce. Działająca od 2002 roku niezależna organizacja społeczna – Stowarzyszenie Cornelia de Lange – Polska w okresie kilku lat zintegrowała społeczność rodziców i opiekunów osób z tym zespołem i nawiązała współpracę z licznymi ośrodkami medycznymi (patrz rozdział 2.1). W rezultacie, zarejestrowana częstość występowania CdLS w Polsce zbliżyła się do danych referencyjnych. Częstość zarejestrowanych w rejestrze Stowarzyszenia przypadków zgłoszeń CdLS w

latach 2007–2011 w stosunku do liczby żywych urodzeń w tym okresie wynosiła ona 1,9/100 000, co odpowiada proporcji 1:52000 żywych urodzeń, przy czym rozpoznawano głównie postać klasyczną zespołu. Jednak szacując zarejestrowaną liczbę żyjących osób z CdLS na podstawie zgłoszeń do Stowarzyszenia (około 165 osób) i następnej weryfikacji rozpoznań w Polsce do liczby mieszkańców kraju (38 milionów) otrzymujemy przybliżoną wartość 0,39 na 100 000 co wydaje się w zasadniczy sposób wartością zaniżoną. Prawdopodobnie znaczna dysproporcja danych wynika z kilku powodów: braku wiarygodnych potwierdzeń, niskiej rozpoznawalności zespołu poza okresem noworodkowym oraz u dorosłych i wysokiej śmiertelności w latach przed 2000 rokiem. Najstarszy polski pacjent z CdLS zgłoszony do Stowarzyszenia ma obecnie 36 lat.

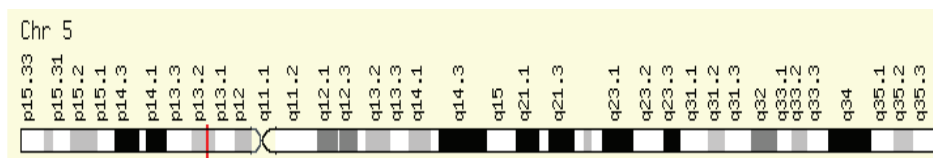
1.1.3. Etiopatogeneza

W roku 2004 wyniki badań dwóch niezależnych angielskich i amerykańskich grup naukowców kierowanych przez E. Tonkin i wsp. oraz I. Krantza i wsp. [99, 196] udowodniły związek mutacji genu *NIPBL* z fenotypem CdLS. *NIPBL* należy do genów kodujących białka systemu kohezyny. Kompleks kohezyny jest wysoce konserwatywną pierścieniową strukturą otaczającą chromatynę. Składa się z czterech podjednostek, budujących rdzeń pierścienia: SMC1, SMC3, RAD21, SA1, 2 (STAG 1,2) oraz białek regulatorowych, m.in.: NIPBL, MAU2, EFO1 i EFO2 (ESCO1 i 2), PDS5A/B, WAPAL (WAPL) [27, 72, 135]. Badania molekularne wykazały, że białka kompleksu kohezyny są odpowiedzialne między innymi za prawidłową segregację chromosomów poprzez wpływ na spójność chromatyd siostrzanych do momentu ich podziału [72]. Odgrywają także rolę w stabilizacji DNA w odpowiedzi na czynniki uszkodzające, a także stanowią składową systemu regulującego proces transkrypcji. Wywierają również wpływ na ekspresję genów w okresie interfazy [37, 42, 54, 55, 70, 99, 107, 121, 125, 136, 161, 192, 196], prawdopodobnie z zachowaniem specyficzności tkankowej [180]. Jak dotąd, poza *NIPBL* poznano około 20 genów zaangażowanych w powstawanie białek systemu kohezyny. Udowodniono zależności między fenotypem CdLS a mutacjami genów *SMC1A* [132], *SMC3* [36] i *HDAC8* [37]. Zaawansowane są prace nad wyjaśnieniem udziału kolejnych genów z tej grupy w patogenezie zespołu.

Geny kodujące białka kompleksu kohezyny są zlokalizowane w różnych chromosomach. Udowodniono, że ich mutacje odpowiadają za szereg zespołów genetycznych o ciężkim przebiegu: m.in. zespół Roberta (gen *ESCO2*) (OMIM 268300) [42, 60, 183, 200, 201], tzw. Warsaw breakage syndrome (gen *DDX11*) (OMIM 601150) [200] oraz alfa-talasemii przebiegającej z upośledzeniem umysłowym – ATRX syndrome (gen *ATRX*) (OMIM 301040) [58, 162]. W powyższych zespołach udowodniono, że komórki pacjentów wykazują defekt kohezji [56, 58, 200]. Defekt kompleksu kohezyny skutkujący zaburzeniem spójności chromatyd siostrzanych wykazano także w niektórych nowotworach [6, 58, 108, 162]. Coraz częściej w odniesieniu do tej grupy schorzeń używa się określenia: kohezynopatie.

NIPBL

Gen *NIPBL*, ludzki homolog genu *Scs2* u drożdży *Saccharomyces cerevisiae* oraz genu *Nipped B* u *Drosophila melanogaster* jest zlokalizowany w ramionach krótkich chromosomu 5p13.2.

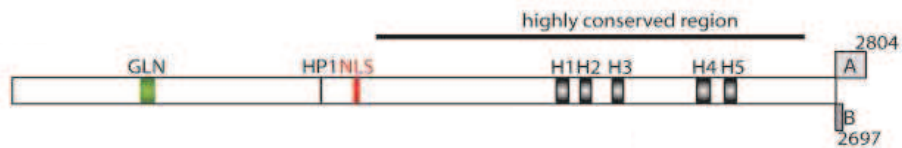


Ryc. 1. Diagram chromosomu 5 i lokalizacja genu NIPBL [222].

Fig. 1. Chromosome 10 scheme and NIPBL localization [222].

Liczne dane wskazują, że mutacje tego genu są odpowiedzialne za 25–60% przypadków CdLS (18, 37, 59, 93, 101, 154, 186, 214). *NIPBL* należy do genów o znacznych rozmiarach (>130 kb) i zawiera 47 eksonów, w tym z 46 eksonów kodujących (2–47). Produkty genu *NIPBL*, białka o nazwie delangina A i delangina B, zawierające odpowiednio 2804 i 2697 aminokwasów, są ludzkimi homologami białka Scs 2 zawartego w drożdżach *Sacharomyces cervisiae* oraz białka NIPBL muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*).

W prowadzonych badaniach komórek w stadium embriogenezy wykazano wysoką ekspresję transkryptu *NIPBL* w: zawiązkach kości łokciowych, kościach dłoni i nadgarstka, w kościach mózgo- i twarzoczaszki, w tym w kostnym regionie aparatu słuchowego, jak również w kanale kręgowym. Ponadto ekspresję transkryptu *NIPBL* udokumentowano w: rozwijającym się sercu (w elementach budujących przedsionki i komory, ale nie we wsierdzu) przełyku, tchawicy, oskrzelach, nerkach oraz wątrobie i grasicy. Nie stwierdzono natomiast jego ekspresji w rozwijającym się mózgu i płucach [89, 99, 108, 126, 133, 196]. U osób dorosłych stwierdzono ekspresję genu *NIPBL* w tkankach układu mięśniowo-szkieletowego, sercu, nerkach i wątrobie [89, 133]. W ostatnich latach, opracowano zwierzęce modele doświadczalne, w których skonfrontowano charakterystyczne wady rozwojowe płodów mysich z cechami obrazu klinicznego osób z CdLS, a. wyniki obserwacji ujawniły znaczną zbieżność obserwowanych zaburzeń. Kawauchi i wsp. [89] wykazali, że heterozygotyczne *NIPBL* płody mysie, z 25–30% obniżeniem poziomu transkryptu *NIPBL* w okresie rozwoju wykazywały: mikrosomię, zmiany budowy twarzoczaszki, anomalie kończyn, upośledzenie słuchu i wady serca (w 50% ASD). Z kolei, w doświadczeniach z heterozygotycznymi płodami przezroczystej ryby tropikalnej – danio pręgowatego (*Danio rerio*), znanej pod angielską nazwą *zebrafish* znaleziono zaburzenia rozwojowe przewodu pokarmowego i serca [133].



Ryc. 2. Schemat prawdopodobnej budowy białka *NIPBL* z zaznaczoną lokalizacją domen GLN – rejon białka bogaty w glutaminę, HP-1 – domena umożliwiający interakcję z białkiem HP-1, NLS – domena odpowiedzialna za prawidłowy transport przez błonę jądrową, powtórzenia domeny HEAT. (Jahnke i wsp. 2008) [83].

Fig. 2. The possible *NIPBL* protein scheme. GLN – Glutamine rich region, HP1 – the domain providing an interaction between *NIPBL* and HP1, NLS – the domain responsible for the nuclear membrane transport, HEAT repeat motifs.

Udowodniono, że delanginy, produkty genu *NIPBL*, regulują przyłączenie kohezyny do chromatyd siostrzanych. Potwierdzono między innymi, że defekt stabilizacji chromatyd siostrzanych w komórkach somatycznych ze stwierdzonymi mutacjami zlokalizowanymi w eksonie 8 i 9 *NIPBL* był czynnikiem onkogenetycznym, przyczyniając się do rozwoju raka jelita grubego [6, 108]. Według aktualnej, nadal fragmentarycznej wiedzy, molekularne podłoże CdLS ma charakter wieloczynnikowy i jest związane z zaburzeniem wielopoziomowej dynamicznej interakcji białek regulujących podział komórki i wczesny etap jej dojrzewania. W początkowym okresie badań nad etiopatogenezą CdLS sądzono że fenotyp pacjentów, zależny od heterozygotycznych mutacji genu *NIPBL*, jest wynikiem przedwczesnego rozchodzenia się chromatyd [88, 108], podobnie jak w innych cytowanych wyżej zespołach z zaburzonym procesem stabilizacji chromatyd siostrzanych. Dane potwierdzające kluczową rolę przedwczesnego rozchodzenia się chromatyd u chorych z CdLS [88, 108], nie zostały jednak potwierdzone przez innych autorów [29, 42, 108, 161]. Wskazuje to na nadmierne uproszczenie początkowego modelu patogenetycznego. Z kolei zwrócono uwagę, że zaburzenie procesów naprawczych DNA może być odpowiedzialne za przedwczesne starzenie się osób z CdLS [108, 203]. Vrouve i wsp. [203] analizując wpływ wybranych czynników mutagennych (mitomycyny i promieniowania jonizującego) na linie komórkowe pacjentów heterozygot *NIPBL* wykazali pośrednio uszkodzenie procesów naprawczych DNA. Powyższe zjawisko potwierdzili następnie inni badacze [89, 108, 133]. Uważa się że szczególnie podatne na czynniki uszkadzające są komórki: skóry, przewodu pokarmowego oraz układu mięśniowo-szkieletowego [108]. Najistotniejsze znaczenie w etiopatogenezie zespołu przypisuje się jednak zaburzeniom regulacji procesu transkrypcji genów, co skutkuje wadliwymi interakcjami z innymi białkami regulatorowymi. Wykazano wpływ mutacji genu *NIPBL* na zaburzenia procesów transkrypcji u muszek *Drosophila* [42, 54, 125, 150], myszy [89] i u człowieka [108]. Zmieniony proces transkrypcji prowadzi w efekcie do zaburzeń rozwoju, co najpełniej wykazali Kavaushi i wsp. [89] (2009) u heterozygotycznych dla *NIPBL* płodów mysich, a następnie Muto i wsp. [133] w modelu rybnym – danio pręgowatego (*zebrafish*). W doświadczeniach z użyciem *Drosophila melanogaster* Rollins i wsp. [165] udowodnili, że heterozygotyczna utrata genu *Nipped-B* znacząco wpływała na ekspresję poszczególnych genów homeobox (*Cut*, *Ubx*). Wykazano następnie, że heterozygotyczna mutacja *NIPBL* skutkowała obniżeniem poziomu mRNA, co

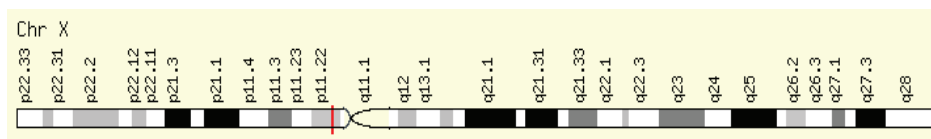
wywierało wpływ na ekspresję wielu innych genów [54, 89, 166], w tym genów kompleksu kohezyny, m.in. *MAU2* czy *PDS5* [23, 108], co w wypadku interakcji z *MAU2* potwierdzono w badaniach klinicznych [23]. Udowodniono wpływ mutacji genu *NIPBL* na zmianę ekspresji genów odpowiedzialnych za powstawanie/syntezę białka ROBO 1, wywierającego bezpośredni wpływ na dojrzewanie neuronów [109]. Powyższa zależność może uzasadniać upośledzenie rozwoju i zaburzenie funkcji poznawczych obserwowane niemal u wszystkich pacjentów z CdLS. Stwierdzono równocześnie, że zmniejszona ekspresja delanginy spowodowana mutacją genu *NIPBL* wywiera różnicowany wpływ na transkrypcję wielu genów, zarówno ją zwiększając, jak też zmniejszając, w zależności od genu i od rodzaju tkanki [20, 75, 108, 133]. W etiopatogenezie zaburzeń przewodu pokarmowego, obserwowanych u większości pacjentów z potwierdzonymi mutacjami *NIPBL*, zasadniczą rolę przypisuje się zaburzeniom białek sterujących dostępnością jonów wapniowych w sarkoplazmie miocytów gładkich [66, 116, 153, 215]. Wiąże się to z niedoborem kalponiny i kaldesmoniny w filamentach cienkich, co może zwiększać dostępność jonów wapniowych dla kalmoduliny, prowadząc do utrudnienia rozkurczu mięśni gładkich i zwiększonego ich napięcia. Uważa się, że powstałe wtórnie zaburzenia synchronizacji skurczu odcinków mięśniówki w obrębie dolnego zwieracza przełyku, a także w obrębie jelit, odpowiadają za powstawanie refluku żołądkowo-przełykowego, występującego u prawie 80% pacjentów z CdLS. Mogą być także przyczyną bolesnych skurczów jelit, zwiększonej tendencji do wglądów, a także innych zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego. Badania molekularne ujawniły znaczne zróżnicowanie mutacji genu *NIPBL* u osób z fenotypem CdLS. Zidentyfikowano następujące typy mutacji: skutkujące skróceniem produktu białkowego (*truncating*) – w tym delecje bądź duplikacje kilku nukleotydów prowadzące do zmiany ramki odczytu za miejscem mutacji (*frame shift*) i mutacje powodujące powstanie nukleotydowego tripletu nonsensownego, skutkujące powstaniem krótszego łańcucha polipeptydowego (*nonsense*). Ponadto udokumentowano mutacje zaburzające proces składania mRNA – zmieniające miejsce przecięcia pierwotnego transkryptu mRNA przy usuwaniu intronów, co może być przyczyną usunięcia fragmentu bądź całego eksonu (*splice-site*) oraz mutacje polegające na zamianie aminokwasu w kodonie, czyli mutacje zmiany sensu (*missense*) lub mutacje ciche (synonimiczne, *silent*), a także delecje i insercje tripletu zasad (*in-frame*) [16, 59, 126, 140, 181, 185].

Duże rearanżacje genomowe

Opisano nieliczne przypadki dużych rearanżacji genomowych, obejmujących fragmenty bądź cały allel *NIPBL* odpowiadające za fenotyp CdLS [15, 130, 151, 160, 169, 216]. Niektóre z nich obejmowały również geny przyległe [160, 169]. W większości zidentyfikowanych rearanżacji stwierdzano delecje, a w dwóch opracowaniach opisano duplikacje obejmujące więcej niż jeden ekson *NIPBL* [169, 216]. Dotychczasowe wyniki badań wskazują, że duże rearanżacje genomowe obejmujące *NIPBL* są rzadkim zjawiskiem w etiopatogenezie CdLS i dotyczą mniej niż 5% pacjentów [15, 130, 216].

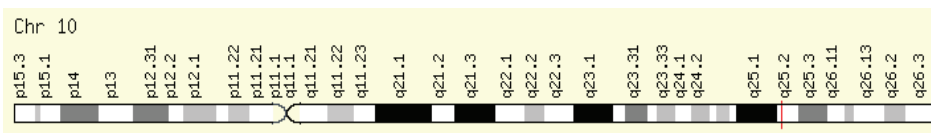
SMC1A i SMC3

Geny *SMC1A* i *SMC*, homologiczne dla *Scc1* and *Scc3* u drożdży oraz *SMC1* i *SMC3* u muszki owocowej *Drosophila melanogaster* są zlokalizowane są: w ramionach krótkich chromosomu Xp11.22 (25 eksonów – kodowane białko zawiera 1233 aminokwasy) oraz ramionach długich chromosomu 10q25.2 (24 eksony, kodowane białko zawiera 1217 aminokwasów). Jak dotąd wykryto mutacje genów *SMC1A* i *SMC* u mniej niż 5% osób z rozpoznaniem CdLS.



Ryc. 3. Diagram chromosomu X i lokalizacja genu *SMC1A* [222].

Fig. 3. Chromosome X scheme and *SMC1A* localization.



Ryc. 4. Diagram chromosomu 10 i lokalizacja genu *SMC3* [222].

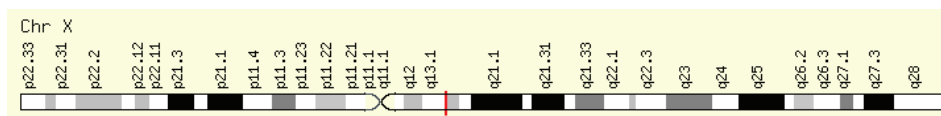
Fig. 4. Chromosome 10 scheme and *SMC3* localization.

Oba geny, podobnie jak *NIPBL* kodują składowe kompleksu kohezyny. Produkty białkowe *SMC1A* i *SMC* budują rdzeń pierścienia kohezynowego, zaś mutacje skutkują upośledzeniem zdolności naprawczej DNA w odpowiedzi na czynniki zewnętrzne [107, 141, 161]. Jak dotąd w genie *SMC1A* wykryto mutacje typu *missense* i *in-frame* [18, 74, 114, 132, 11, 154] oraz opisano jedną mutację punktową w *SMC3* (*frame shift*) [36]. Niektórzy autorzy uważają, że istotną rolą obu genów jest regulacja ekspresji innych genów [114]. Interesującym spostrzeżeniem jest wykazanie mutacji genu *SMC1A* w komórkach nowotworowych pacjentów z rakiem jelita grubego [114], co może wiązać się ze zwiększoną ekspresją proto-onkogenów i zmniejszeniem ekspresji genów hamujących rozwój komórek nowotworowych. Należy jednak zaznaczyć, że w dotychczasowych opracowaniach zbiorczych nie wykazano zwiększonej zapadalności na nowotwory u osób z CdLS, za wyjątkiem powikłań przełyku Barreta, wywołanych długotrwałych refluksiem żołądkowo-przełykowym.

HDAC8

W roku 2012 wspólne badania grupy amerykańsko-niemieckiej [37] dowiodły, że mutacje genu *HDAC8* (Deacetylazy histonowej 8) homologicznego dla *Eco1* u drożdży zlokalizowanego w ramionach długich chromosomu Xq13.1 warunkuje fenotyp CdLS. Jak dotąd zidentyfikowano obecność mutacji u sześciu pacjentów z klasycznym fenotypem zespołu (cztery mutacje *missense* i dwie *nonsense*). *HDAC8* jest więc kolejnym

genem zaangażowanym w proces kohezji chromatyd siostrzanych, którego mutacje warunkują fenotyp CdLS [37].



Ryc. 5. Diagram chromosomu X i lokalizacja genu *HDAC8* [222].

Fig. 5. Chromosome X scheme and *HDAC8* localisation [222].

Inne geny kodujące kompleks kohezyny

W ostatnich latach podjęto badania związku fenotypu CdLS z mutacją genów *PDS5A* i *PDS5B* zlokalizowanych w chromosomie 13q12.3, które kodują regulatorowe elementy kompleksu kohezyny [141]. Heterozygotyczne mutacje tych genów u myszy skutkowały: mikrosomią, rozszczepem podniebienia, wadami kończyn i serca, a więc typowym fenotypem CdLS [217, 218, 219]. Kolejnym genami których mutacje rozpatrywane są jako przyczyna fenotypu CdLS są *CTCF*, *RAD21* (zwany także *SSC1*), *STAG2*, *ESCO2* i *MAU2* (zwany również *SCC4*) [23, 37, 141].

Aberracje chromosomowe i związek z fenotypem CdLS

Opisano ponad 30 różnego typu aberracji chromosomowych u osób, u których pre- lub postnatalnie stwierdzono fenotyp CdLS. Aberracje obejmowały chromosomy: 1–4, 7–14, 17, 18, 21 [2, 11, 39, 51, 100, 119]. W roku 2008 Baynam [10] opublikował opis przypadku dziecka z fenotypem CdLS i mikrodelecją chromosomu 8p23. Wcześniej podobny opis dotyczył dziecka z translokacją t(4; 8)(p16.3;p23.1) [119]. W obu przypadkach delecja obejmowała odcinek zawierający gen *Tankyrase 1*, którego funkcja związana jest z regulacją kohezji chromatyd siostrzanych.

1.1.4. Dziedziczenie

Występowanie CdLS w przeważającej liczbie przypadków jest sporadyczne. Empiryczne prawdopodobieństwo powtórzenia się choroby u rodzeństwa, przy braku mutacji u rodziców szacowane jest na 1–1,5% [93]. W piśmiennictwie znajdują się opisy rodzin (nawet kilkupokoleniowych), w których stwierdzono transmisję pokoleniową tego zespołu [163, 168, 120]. Opisano także kilka rodzin w których powtarzały się przypadki zespołu u rodzeństwa pochodzącego od rodziców bez fenotypowych cech CdLS [13, 52, 105]. W Polsce opisano jedną rodzinę, w której u rodzeństwa potwierdzono obecność mutacji w genie *NIPBL*, zaś rodzice nie przejawiali fenotypowych cech CdLS [98]. Teorię mozaikowości germinalnej, potwierdził opis rodziny, w której zdrowy ojciec posiadał dwie córki z fenotypowymi cechami CdLS. Obie pochodziły od różnych zdrowych matek [39, 190]. Mozaikowość germinalną potwierdzono ponadto u dwóch płodów (w 23 i 14 tygodniu ciąży) z mutacjami *nonsense*, których rodzice byli zdrowi [137, 205], Niu i wsp. [137] wykazali obecność mutacji *NIPBL* w plemnikach fenotypowo

zdrowego ojca dwojga dzieci z CdLS. Opisano także postać dziedziczną związaną z mozaicyzmem germinalnym i mutacją punktową w genie *SMC1L1* [36]. Opublikowano również przypadek mozaikowości somatycznej [29]. Przy mutacji genu *SMC1*, który zlokalizowany jest w chromosomie X, choroba dziedziczy się w sposób recesywny sprzężony z płcią. Dotychczasowe opisy kliniczne rodzin z tym typem mutacji wskazują na obecność pewnych cech fenotypowych u matek nosicielek mutacji [132, 185].

1.1.5. Fenotyp CdLS. Kryteria rozpoznawania klasycznej i łagodnej postaci

Od pierwszego opisu klinicznego CdLS opublikowanego przez Brachmanna w 1916 roku [21] kolejne, coraz liczniejsze, doniesienia kliniczne pozwoliły określić wspólne cechy zespołu, wskazując na wysoce specyficzny obraz fenotypowy, niezależnie od grupy etnicznej. Pre- i postnatalna mikrosomia ma charakter proporcjonalny. Parametry antropometryczne: masa ciała, wzrost oraz obwód głowy oceniane z zastosowaniem percentylowych siatek populacyjnych są zwykle poniżej wartości trzeciego percentyla [63, 91, 164]. W związku z tym w roku 1993 zostały opracowane przez Kline i wsp. siatki percentylowe dla pacjentów z CdLS [91]. Oceniana na ich podstawie średnia masa ciała osiągana przez kobiety wynosi 30,5 kg, mężczyźni – 47,6 kg, wzrost odpowiednio 131 i 156 cm, obwód głowy – 49 cm u obu płci. Skok pokwitaniowy jest rzadkością. Na dysmorfie twarzoczaszki składają się liczne odstępstwa od standardowego wyglądu, które w całości tworzą unikatowy obraz trudny do pomylenia z innymi zespołami chorobowymi. Dysmorfia twarzoczaszki najczęściej przejawia się: nadmiernym, ciemnym owłosieniem skóry głowy, marmurkowatością skóry w okresie noworodkowo-niemowlęcym, brachycefalią, nisko schodzącą linią owłosienia, obecnością „pędzelkowatych” lub bujnych brwi, często zrosniętych ze sobą (synophrys), długimi gęstymi rzęsami, zapadniętym grzbietem nosa, szeroko rozstawionymi nozdrzami, długą, spłaszczoną rynienką nosową, przemieszczonymi ku tyłowi i nisko osadzonymi uszami, cofniętą i małą żuchwą, wąskimi wargami z kącikami skierowanymi ku dołowi, podniebieniem gotyckim lub rozszczepem podniebienia, wadami zgryzu [1, 21, 34, 37, 40, 69, 79, 80, 93, 115, 144, 145, 156], (ryc. 6A). Nadmiar owłosienia, wyraźnie zaznaczony w okresie noworodkowo-niemowlęcym nasila się z wiekiem, obejmując także kończyny. Środkowa część twarzy z czasem ulega spłaszczeniu, ze skróceniem philtrum, pogrubieniem górnej wargi i tendencją do prognatyzmu [1, 92, 164]. U części pacjentów pędzelkowate brwi z wiekiem stają się krzaczaste i bujne. Wyraźnie widoczne są cechy przedwczesnego starzenia przejawiające się: ścięgnięciem skóry, utratą tkanki tłuszczowej w obrębie policzków, zaostreniem rysów twarzy. Wady ubytkowe kończyn górnych – aplazja i/lub hipoplazja kości ramieniowej i łokciowej, brak kości nadgarstka, śródręcza lub paliczków (ektrodaktylia) obserwowane są u 20–30% osób. Ponadto typowe są drobne dłonie z odstającymi kciukami, skrócenie kości nadgarstka, śródręcza i paliczków oraz klinodaktylia V palca. U około 50% pacjentów stwierdza się kościorost łokciowo-promieniowy lub ograniczenie ruchomości stawu łokciowego. Wady kończyn dolnych pod postacią: dysplazji lub zwichnięcia stawów biodrowych, syndaktylii II i III palca stóp, koślawości palucha opisywano u około 20% osób z CdLS [67, 82, 92, 93, 185]. Ponadto stwierdza się skrócenie szyi, lejkowatą klatkę piersiową. W okresie dojrzewania i dorosłości wyraźnie zaznacza się skolioza, zwłaszcza w odcinku piersiowo-lędźwiowym. Częściej niż w populacji stwierdza się przypadki choroby Perthesa [22,

82]. Typowe są zaburzenia budowy i czynności przewodu pokarmowego, w tym refluks żołądkowo-przelykowy (nawet do 80%) i przepuklina przeponowa (ok. 10%). Zwraca się uwagę na ryzyko powstania przelyku Barretta [24, 30, 43, 92, 110, 111, 152], szczególnie u mężczyzn. Znacznie częściej niż w populacji dochodzi do incydentów niedrożności jelit. Z wiekiem wzrasta również skłonność do zaparć. Wrodzone wady serca stwierdza się u około 30% chorych [64, 82, 122, 186, 197]. U mężczyzn z wiekiem pojawiają się zaburzenia krążenia obwodowego, przejawiające się drętwieniem dłoni i stóp. [82, 186]. Wady nerek i dróg moczowych są obecne u około 30% osób. Nawet przy prawidłowych po urodzeniu wynikach badań obrazowych i nieodbiegających od normy biochemicznych wykładników czynności nerek w miarę rozwoju obserwowano z czasem nieprawidłowości ich wielkości i struktury [32, 92, 187]. Niemal u wszystkich osób płci męskiej penis i moszna są małe, regułą jest niezstąpienie jąder. Cykl dojrzewania jest opóźniony. U mężczyzn z reguły stwierdza się małe prącie i zmniejszoną objętość jąder. Owłosienie pachowe i łonowe jest rzadkie, a włosy są wyraźnie pogrubiałe [82, 92]. Poza obecnym u wszystkich pacjentów niezwykle charakterystycznym układem brwi i rzęs u około 30% występuje jedno- lub obustronne opadanie powiek. Z wiekiem u znacznej liczby osób stwierdza się wady refrakcji, najczęściej krótkowzroczność. Znacznie częściej niż w populacji dochodzi do rozwoju zaćmy, nawet już po 25 roku życia [104, 134, 211]. Często towarzyszący niedosłuch lub głuchota mają charakter przewodzeniowy, odbiorczy lub mieszany [44, 86, 117, 172]. Zaburzenia napięcia mięśniowego zwykle cechują się jego wzmożeniem. Padaczka, potwierdzona patologicznym zapisem EEG jest rozpoznawana u około 25% pacjentów [92, 185]. Upośledzenie rozwoju przebiega zwykle z zaburzeniami behawioralnymi (agresja i samoagresja, stereotypie, nadpobudliwość, zachowania autystyczne, zachowania obsesyjno-kompulsywne) [9, 14, 129, 142, 143, 210], przy czym znaczące pogorszenie zachowań obserwuje się od okresu dojrzewania [9, 129]. Ponad 50% pacjentów nie mówi lub wydaje jedynie nieartykułowane dźwięki. Pozostałe osoby wymawiają pojedyncze, proste słowa, nieliczni potrafią sformułować proste zdania [9, 61, 92, 185]. Już we wczesnych opisach CdLS wskazywano na zróżnicowane nasilenie podstawowych jego objawów i wyróżniono, początkowo na podstawie kryteriów w znacznej mierze subiektywnych, dwa podstawowe warianty obrazu klinicznego: postać klasyczną i łagodną [61, 127, 156, 178]. Ostatecznie od roku 1993 powszechnie przyjęto zaproponowaną przez van Allen i wsp. [199] klasyfikację CdLS uwzględniającą trzy typy zespołu:

- I – klasyczny – z charakterystycznymi rysami twarzy, pre- i postnatalną mikrosomią (umiarkowanym do głębokiego upośledzeniem umysłowym i występowaniem zmian narządowych (wady kończyn, serca, narządów płciowych, rozszczep podniebienia) (ryc. 10).
- II – łagodny (*mild*) – z mniej wyrażoną mikrosomią, łagodnym do umiarkowanego niedorozwojem intelektualnym łagodną lub umiarkowaną niepełnosprawnością intelektualną i brakiem lub obecnością mniej wyrażonych zmian narządowych (ryc. 11).
- III – „fenokopia” – gdzie cechy zespołu CdLS występowały w przypadku aberracji chromosomowej oraz zaburzeń rozwoju wynikających z działania czynników teratogenów.

Klasyczny fenotyp zespołu występuje najczęściej, a rozpoznanie tej postaci zwykle nie nastręcza trudności. Z kolei łagodny fenotyp stwierdza się szacunkowo u 20–30% osób z rozpoznaniem CdLS. Zwrócono jednak uwagę na skłonność do nadmiernie częstego diagnozowania tej postaci zespołu [92, 164, 185, 199] i związaną z tym ograniczo-

ną wiarygodność dostępnych danych. Przykładowo, w zestawieniu Ireland i wsp. [79, 80] dotyczącym pacjentów brytyjskich, u 35% badanych pierwotna klasyfikacja zespołu była mylna i diagnoza wymagała weryfikacji. Rogatgi i wsp. [164], po zaprezentowaniu grupie dysmorfologów dostępnych fotografii pacjentów z klasyczną oraz łagodną postacią zespołu, u których potwierdzono mutacje genu *NIPBL* stwierdzili, że postać klasyczna została rozpoznana u 90%, podczas gdy postać łagodna tylko u 54% ocenianych pacjentów. Za szczególnie istotne elementy pomocne w rozpoznawaniu CdLS uznano: krzaczaste brwi, często z ich zrośnięciem (synophrys), nos z zapadniętą nasadą i szero-
kimi nozdrzami, wydatną wargę górną, podniebienie gotyckie lub jego rozszczep. W miarę postępu coraz szerszych badań uwzględniających coraz liczniejsze grupy osób z CDLS, klasyfikacja van Allen fenotypu CdLS była poddawana weryfikacji. Wątpliwość budził zwłaszcza podtyp określany jako „fenokopia”, nieznajdujący obecnie uzasadnienia. Wieloośrodkowe badania nad fenotypem CdLS doprowadziły w roku 2007 do opracowania skali punktowej pomocnej w ustaleniu rozpoznania postaci zespołu [93]. Klasyfikacja przedstawiona w tab. 1 ma szczególne znaczenie w diagnostyce osób, u których badania genetyczne nie potwierdziły obecności mutacji.

Tabela 1. Kryteria diagnostyczne opracowane na podstawie Kline [93]

Table 1. Diagnostic criteria according to Kline [93]

Liczba punktów <i>Number of points</i>	1	3	5
Masa urodzeniowa <i>Birth weight</i>	< 2000	2000–2500	> 2500
Wzrost urodzeniowy <i>Postnatal height</i>	> 75% normy dla CdLS	50–75% normy CdLS	< 50% normy CdLS
Zdolność do samodzielnego siadania (miesiące) <i>Ability to sit (months)</i>	< 9	9–20	> 20
Zdolność do samodzielnego chodzenia (miesiące) <i>Ability to walk (months)</i>	< 18	18–42	> 42
Zdolność do wymawiania słów (miesiące) <i>First words (months)</i>	< 24	24–48	> 48
Liczba dużych wad wrodzonych <i>Number of congenital malformations</i>	0–1	2–3	> 3
Ubytek kończyn górnych <i>Upper limb defect</i>	Brak ubytków	Częściowy ubytek (pozostaje > 2 palców)	Znaczny ubytek (pozostaje < 2 palców)
Upośledzenie słuchu <i>Hearing impairment</i>	Słuch prawidłowy	Niedosłuch nie- wielki do umiar- kowanego	Niedosłuch umiarko- wany do znacznego

Zgodnie z przyjętymi kryteriami przyjęto uznawać:

Fenotyp klasyczny (*classic*) – liczba punktów > 22 punktów

Fenotyp łagodny (*mild*) – liczba punktów < 22 punktów

Aktualnie opracowywane jest zbiorcze zestawienie w oparciu o zintegrowaną bazę zawierającą dane kliniczne pacjentów z kilku krajów europejskich z postacią łagodną, uwzględniający także polskie dane. Pierwsze wnioski przedstawiono w materiałach z konferencji CdLS World w Brighton [141]. Należy podkreślić, że w przedstawionej powyżej zasadach klasyfikacji punktowej (tab. 1) uwzględniono kryterium osiągania poszczególnych umiejętności z wiekiem, dlatego posługiwanie się nią jest możliwe od ukończenia przez pacjenta czwartego rż. Jednakże, u osób, u których rozpoznano postać klasyczną, punktacja po urodzeniu zwykle przekracza 22 punkty, przez co zakwalifikowanie do fenotypu klasycznego nie budzi kontrowersji.

1.1.6. Korelacja genotyp-fenotyp

Baza danych [224], w której zamieszczono dane dotyczące mutacji punktowych *NIPBL* opublikowane od roku 2004 do końca roku 2011 zawierała 247 odmiennych mutacji patogenicznych u 326 pacjentów z fenotypem CdLS. Najwięcej zanotowano mutacji typu (ok. 15%) *missense* (ok. 20%) oraz *splice-site* (ok. 15%). Mutacje typu *in frame* występowały sporadycznie. Znakomita większość opisywanych mutacji *NIPBL* miała charakter *de novo*. Powtarzalność mutacji oceniono na ok. 10%. Tylko kilka ośrodków przeprowadziło analizę zależności między fenotypem i genotypem [16, 59, 141, 154, 181, 195, 214]. Opracowania niejednokrotnie różniły się pod względem analizowanych kryteriów, a większość miała charakter fragmentaryczny, co utrudniało dokonanie kompleksowych porównań. Z przedstawionych doniesień wynika, że mutację *NIPBL* potwierdzono u 60–85% badanych z fenotypem klasycznym, podczas gdy w postaciach umiarkowanych odsetek ten nie przekraczała 25%. Mutację *SMC1A* stwierdzono u 5% osób z łagodną postacią zespołu [132, 154, 185], a mutacja *SMC3* została potwierdzona u jednego pacjenta także z umiarkowaną postacią zespołu. U około 5% badanych wykryto duże rearanżacje [15, 130, 151, 160]. Gillis i wsp. [59] wykazali, w grupie 120 osób z CdLS różnicę między pacjentami z mutacją *NIPBL* – M+ i bez tej mutacji – M-. Zaś swoje wnioski oparli na analizie trzech parametrów: stopnia niepełnosprawności intelektualnej, postnatalnego niedoboru wzrostu i redukcji kończyn. Grupę M+ charakteryzowało istotnie większe upośledzenie intelektualne, znamienne mniejszy wzrost i tendencja do nasilonych wad ubytkowych kończyn. W latach 2005–2010 opublikowano kilka opracowań dotyczących powiązania różnych cech fenotypowych z obecnością mutacji genu *NIPBL* w grupach pacjentów M+ z rozpoznaniem CdLS reprezentujących odmienne populacje krajowe. Bhuiyan i wsp. [16] w opracowaniu zawierającym dane kliniczne 39 pacjentów holenderskich (56% M+), odnotowali statystycznie wyższą częstość znacznego upośledzenia umysłowego oraz zachowań autystycznych w grupie M+ w porównaniu do M-, istotnie częstsze występowanie refluku żołądkowo-przełykowego, a także zróżnicowaną wybranych cech dysmorficznych: osobom M+ przypisano wyraźniejsze spłaszczenie grzbietu nosa, szerokie rozstawienie zębów i wyraźniejsze skrócenie szyi. Wcześniejsze wstępne obserwacje 28 polskich pacjentów (46% M+) [214] wskazywały na niższą urodzeniową masę ciała, urodzeniowy wzrost oraz obwód głowy u pacjentów M+, jak również na znacznie większe upośledzenie umysłowe i częściej występujący brak mowy. Zwrócono przy tym uwagę, że pewne cechy dysmorficzne, odmienne od opisanych przez Bhuiyana i wsp. [16]: zwężony wymiar dwuskroniowy i szerokie rozstawienie nozdrzy występują statystycznie częściej u pacjentów M+. Kline i wsp.

[92], analizując 27 amerykańskich pacjentów powyżej 12 rż (53% M+) zauważyli występowanie dodatniej korelacji między obecnością mutacji *NIBPL* a redukcją kończyn i rozszczepem podniebienia. Niedostatkim tego opracowania była stosunkowo niewielka liczba analizowanych pacjentów, przez co wnioskowanie opierało się na widocznej, ale statystycznie nieistotnej tendencji. Selicorni i wsp. [185], badając grupę 62 włoskich pacjentów z fenotypem CdLS (44% M+) potwierdzili, że pacjenci M+ statystycznie częściej reprezentowali klasyczny fenotyp zespołu. Porównując wybrane cechy fenotypowe u osób M+ i M-, nie wykazano istotnych różnic w częstości występowania wad narządowych, jakkolwiek w grupie M+ zaznaczył się trend do częstszego występowania anomalii serca i nerek. Ponadto u włoskich pacjentów M+ wykazano niższą masę urodzeniową, większą pourodzeniową redukcję wzrostu, bardziej zaznaczoną redukcję kończyn i częściej występujące nawracające infekcje ucha środkowego. Natomiast, w grupie M- zarejestrowano większy odsetek napadów padaczkowych. Pie i wsp. [154], analizując w roku 2010 grupę 30 pacjentów hiszpańskich (36% M+), po raz kolejny potwierdzili, statystycznie niższą masę urodzeniową, przewagę wad ubytkowych kończyn i niedosłuchu wśród pacjentów M+. Inne, skądinąd interesujące doniesienia z różnych krajów: Miyake i wsp. [126] (15 pacjentów, 4 M+), Shoumans i wsp. [181], (11 pacjentów, 7 M+) i Borck i wsp. [17] (14 pacjentów, 5 M+) nie zawierały wniosków opartych na analizie statystycznej z powodu zbyt małej liczby badanych. Tym niemniej należy wspomnieć, że Miyake i wsp. [126] wykazał u wszystkich trzech pacjentów z fenotypem klasycznym i z mutacją *NIBPL* typu *nonsense* obecność zmian ubytkowych kończyn, podczas gdy Shoumans i wsp., stwierdzili obraz fenotypu klasycznego u sześciu z siedmiu pacjentów M+, redukcję kończyn u czterech z nich, a refluks żołądkowo-przelykowy – u sześciu. Z kolei, Borck i wsp., analizując grupę 14 osób z CdLS, zidentyfikowali mutacje punktowe *NIPBL* w pięciu z nich. Wszystkie skutkowały opóźnieniem rozwoju, niskorosłością, u czterech osób rozpoznano wady serca. Niestety, praca Borcka i wsp. [17] nie zawierała wzmianki odnośnie wad ubytkowych kończyn. Nalasamy i wsp. [134], skoncentrowali się na analizie narządu wzroku w grupie 54 osób z CdLS (26 M+) i stwierdzili, że mutacje *NIPBL* wywierały wpływ na występowanie i stopień nasilenia ptozy, którą stwierdzono u nieznamienne większego odsetka osób M+.

Niedawne odkrycia kolejnych lokalizacji mutacji genów odpowiedzialnych za CdLS pociągnęły za sobą rozwój badań klinicznych ukierunkowanych na poznanie związków między defektem genu i rozwojem konkretnych cech fenotypowych. Wyniki dotąd opublikowanych analiz uwzględniających typ mutacji i ich lokalizację są jeszcze wysoce fragmentaryczne i wymagają kompleksowych uzupełnień z włączeniem liczniejszych grup pacjentów. Nie mniej jednak, zestawienie ostatnio opublikowanych danych wskazuje na ujawnia interesujące prawidłowości. Wykazano, że mutacje ze skróceniem produktu białkowego – *frame-shift* i *nonsense*, zaburzające składanie mRNA (*splice-site*) skutkowały cięższą postacią choroby, zaś mutacje zmiany jednego z aminokwasów (*missense*) lub delecje trzech nukleotydów (*in-frame*) były częściej przyczyną łagodniejszej postaci choroby [59,185,154,214]. Przyjmowana jest koncepcja sugerująca, że w mutacjach skracających produkt białkowy dochodzi zarówno do zaburzeń ekspresji genów jak i zaburzeń kontroli spójności (kohezji) chromatyd siostrzanych, zaś mutacje typu *missense* skutkują zaburzeniem ekspresji genów. Wszystkie zaś skutkują zaburzeniem procesów naprawczych DNA [42,108]. Gillis i wsp. [59] stwierdzili, że pacjenci z mutacją *NIPBL* typu: *frame-shift*, *nonsense* i *splice-site* wykazywali istotnie bardziej zaburzony rozwój psychomotoryczny, niedobór wzrostu, i nieznamienne statystycznie tendencję do częstszego występowania wad ubytkowych kończyn, w porównaniu do bada-

nych z mutacjami *missense*. W zestawieniu obejmującym 39 pacjentów holenderskich [16], podkreślono fakt, że najcięższy klinicznie fenotyp reprezentowały osoby z mutacjami typu *frame-shift*. Ponadto, u tych pacjentów statystycznie częściej obserwowano: spłaszczenie nasady nosa i zez, podczas gdy syndaktylię stwierdzano częściej u osób z mutacjami typu *missense*. Selicorni i wsp. [185] wykazali częstsze występowanie fenotypu łagodnego u pacjentów z mutacjami *missense* i *splice-site* w porównaniu do mutacji ze skróceniem produktu białkowego. Kline i wsp. [92] stwierdzili również, że rozszczep podniebienia występował wyłącznie u pacjentów z mutacjami: *nonsense*, *frame shift* oraz *splice-site*, natomiast wśród pacjentów z mutacjami *missense* nie stwierdzono ani jednego przypadku z rozszczepem. Nallasamy i wsp. [134] wykazali statystyczną przewagę obecności i nasileniu opadania powiek u pacjentów z mutacjami typu *frameshift* i *nonsense*.

Rearanżacje genomowe, obejmujące więcej niż jeden ekson *NIPBL* były opisywane rzadko. Obraz kliniczny w opisanych przypadkach odpowiadał w większości klasycznej postaci CdLS z pre- i postnatalną mikrosomią, małą głową, upośledzeniem umysłowym i obecnością refluku żołądkowo-przłykowego. U około połowy pacjentów zano towano wady ubytkowe kończyn górnych [15, 130, 151, 169]. Yan i wsp. [215] opisali pacjenta z CdLS i z duplikacją obejmującą eksony 3-5. Intrygujące jest spostrzeżenie, że w fenotyp pacjenta zawierał co prawda cechy typowe dla CdLS: upośledzenie umysłowe, zaburzenia rozwojowe, wady kończyn, ale obraz zmian dysmorfologicznych twarzy-czaszki zupełnie nie odpowiadał charakterystyce CdLS.

Podsumowując dotąd nieliczne dane dotyczące fenotypu mutacji *SMC1* i *SMC3* wykazują, że u pacjentów nie stwierdzano wyraźnej hipotrofii i małą głowę oraz znaczących ubytków kostnych i wad narządowych. Niepełnosprawność intelektualną oceniano jako umiarkowaną lub lekką [18, 36, 132]. Większość opisanych pacjentów poruszała się samodzielnie i potrafiło mówić. U osób z mutacjami opisywano: obecność pędzelkowatych brwi, długie rzęsy, cienkie wargi z kącikami skierowanymi w dół, wydatny grzbiet nosa i dość duże uszy. Sugerowano ponadto wyższą częstość występowania napadów padaczkowych. Posługując się przedstawioną powyżej skalą punktową większość pacjentów spełniała kryteria umiarkowanej bądź łagodnej postaci zespołu. W Polsce nie opisano dotychczas pacjenta z mutacjami *SMC1* lub *SMC3*.

Szczegółowa ocena kliniczna fenotypu i znajomość relacji genotyp – fenotyp jest podstawą udzielania wiarygodnej porady genetycznej u pacjentów z chorobami rzadkimi [5]. Pozwala również na określenie prognostycznych czynników rozwoju, może także przesądzać o sposobie terapii. Dotychczasowe, nieliczne opracowania podjęły zagadnienie powiązań między cechami fenotypu i zmianami genotypu, z uwzględnieniem mutacji punktowych genu *NIPBL* i rearanżacji genomowych [16, 59, 141, 154, 181, 195, 214]. W większości publikacji zaznaczały się pewne trendy, nieznające statystycznego potwierdzenia z powodu małej liczebności grup. Znaczącym utrudnieniem w dokonaniu zbiorczego zestawienia danych było zastosowanie odmiennych kryteriów klinicznych, połączonych z jedynie fragmentarycznym opisem cech klinicznych. Wstępne obserwacje pacjentów z potwierdzonymi mutacjami genów układu kohezyny: *NIPBL*, *SMC1*, *SMC3*, *HDAC8* wskazują na znaczące odrębności fenotypowe, zależne od typu mutacji oraz jej lokalizacji. Zróznicowanie obrazu klinicznego dotyczyło nawet pacjentów z mutacjami w tych samych funkcjonalnych fragmentach danego genu, co sugeruje znacznie bardziej złożoną heterogenność zespołu niż dotąd przypuszczano. Wydaje się, że nie tylko czynniki genetyczne, ale epigenetyczne i środowiskowe modyfikują warianty kliniczne zespołu. Od 2002 roku udało się zorganizować w GUMedzie wielospecjalistyczne badania

diagnostyczne oraz kompleksowy system opieki medycznej dla osób z CdLS. Od początku podjęto współpracę ze Stowarzyszeniem CdLS Polska, które zintegrowało środowisko rodzin i opiekunów osób z CdLS. Analizie poddano obserwowaną od dziesięciu lat unikatową, trzecią pod względem liczebności z dotąd opublikowanych na świecie (po amerykańskiej i włoskiej) 74-osobową grupę pacjentów z potwierdzonym klinicznie rozpoznaniem CdLS.

2. CEL PRACY

Celem pracy było:

1. Przeprowadzenie analizy fenotypowej pacjentów z klinicznym obrazem zespołu Cornelia de Lange uwzględniającej dynamikę rozwoju osobniczego, obecność współistniejących wad rozwojowych oraz ocenę zachowań chorych.
2. Zidentyfikowanie prognostycznych czynników rozwoju dla osób z CdLS.
3. Przeprowadzenie korelacji genotyp-fenotyp.
4. Opracowanie zasad postępowania diagnostycznego, poradnictwa genetycznego oraz modelu opieki nad chorym z CdLS.

3. MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto 74 polskich pacjentów w wieku ośmiu miesięcy do 36 lat (średnio 12 lat) z rozpoznaniem zespołu Cornelia de Lange.

3.1. Kryteria doboru badanej grupy

W roku 2002 zostało zarejestrowane i uzyskało osobowość prawną Stowarzyszenie Cornelia de Lange Syndrome – Polska. W latach 2002–2011 do Stowarzyszenia zgłoszono 165 osób. 121 rodzin bądź opiekunów wyraziło chęć dalszej współpracy ze Stowarzyszeniem oraz korzystania z pomocy medycznej (osobiście bądź korespondencyjnie), dzięki czemu możliwa była dalsza weryfikacja kliniczna i genetyczna rozpoznań. W 23 przypadkach do lekarza Stowarzyszenia nadesłano dokumentację medyczną, w tym zdjęcia oraz materiał do badań genetycznych, nie decydując się na zaproponowane przez Stowarzyszenie inne formy kontaktu. Z takimi rodzinami utrzymywany jest stały kontakt telefoniczny oraz internetowy.

U 101 pacjentów (83,5%) potwierdzono klinicznie diagnozę oraz wykonano badania cytogenetyczne i molekularne. U 45 osób (43%) diagnozę potwierdzono badaniami molekularnymi, w 42 znaleziono mutacje punktowe genu *NIPBL* a u trzech stwierdzono obecność dużych rearanżacji genomowych.

U 16 osób skierowanych do Stowarzyszenia z podejrzeniem CdLS po dokonanej analizie danych, badaniu fizykalnym oraz po wykonaniu rozszerzonych badaniach zwerfikowano diagnozę:

1. U jednego pacjenta rozpoznano zespół Smith-Magenisa – potwierdzony obecnością mikrotelecji [del (17)p11.2] (badanie wykonano w Zakładzie Genetyki Medycznej Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie).
2. U dwóch pacjentów rozpoznano: 8,6 Mb delecję interstycjalną długich ramion chromosomu 4 [del 4q13.3q21.23] [106] (badania wykonano w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego) oraz 1,7 Mb delecję krótkich ramion chromosomu 19 [del 19p13.11] (badanie wykonane w Laboratorium Genetycznym Katedry i Zakładu Genetyki Klinicznej CM UMK w Bydgoszczy).
3. Czterech pacjentów spełniało kryteria kliniczne płodowego zespołu alkoholowego (Fetal Alcohol Syndrome – FAS), wywiad potwierdzał wysunięte podejrzenie.
4. W jednym przypadku obraz kliniczny sugerował zespół Frasera (małoccze, czaszka trójkątna, głębokie opóźnienie rozwoju psychomotorycznego z brakiem rozwoju mowy). Badania molekularne są w toku.
5. W jednym przypadku obraz kliniczny odpowiadał zespołowi Robertsa – badania molekularne są w toku.
6. W jednym przypadku wysunięto podejrzenie zespołu Smitha-Lemliego-Opitza – rozpoznanie potwierdzono molekularnie (Zakład Genetyki Medycznej Pomnika Szpitala Centrum Zdrowia Dziecka, Warszawa).
7. W trzech przypadkach brak typowych dla CdLS cech dysmorficznych, wywiad okołoporodowy (niedotlenienie) i objawy kliniczne pozwolił na wysunięcia po-

dejrzenia mózgowego porażenia dziecięcego, w tych przypadkach uzyskano ujemne wyniki badań molekularnych genu *NIPBL* i *SMC1*.

8. Dwoje obserwowanych dzieci prezentowało cechy autyzmu. Sugestia autyzmu została potwierdzona badaniami psychologicznymi i psychiatrycznymi. Dzieci nie demonstrowały typowych dla CdLS cech dysmorfii.
9. U jednego z dzieci rozpoznano somatotropinową niedoczynność przysadki.

Ostatecznie do dalszych szczegółowych badań zakwalifikowano 74 pacjentów z potwierdzonym klinicznie zespołem Cornellii de Lange których rodzice wyrazili zgodę na ich wykonanie oraz późniejsze publikowanie wyników.

Kwalifikacja pacjentów, jak również podział na typy kliniczne (klasyczny i łagodny) odbył się według powszechnie akceptowanych kryteriów [1, 92, 164, 185, 199].

Każdorazowo rozpoznanie stawiane było przez tę samą osobę (autora pracy) w oparciu o badanie fizykalne i/lub dokumentację fotograficzną, konsultacje specjalistyczne oraz analizę rozwoju psychomotorycznego i profilu zachowań uzupełnioną o biochemiczne i obrazowe badania dodatkowe.

W przypadkach wątpliwych (zwłaszcza w postaci łagodnej) oraz przy braku potwierdzenia genetycznego diagnozy weryfikacja rozpoznania była dokonywana przy współpracy z zespołem specjalistów Scientific Advisory Council (SAC) działającym przy organizacji CdLS – World. W szczególności korzystałam z pomocy prof. L. Jacksona (emer. Prof. Division of Human Genetics and Molecular Biology, The Children Hospital Philadelphia, USA), prof. A. Selicorni (Department of Pediatrics, Fondazione Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena, Mediolan, Włochy), prof. F. Ramosa (Servicio de Pediatría, Hospital Clínico Universitario, Zaragoza, Hiszpania).

3.2. Metody analizy klinicznej

3.2.1. Wywiad

W 72 analizowanych przypadkach dysponowano danymi dotyczącymi rodowodu (wyjątek – dwoje dzieci adoptowanych). Wywiad dotyczący rodowodu obejmował trzy pokolenia. Wywiad uwzględniał ponadto: wiek i stan zdrowia rodziców i rodzeństwa, pozostałe ciążę, z uwzględnieniem niepowodzeń ciążowych, przebieg ciąży ze zwróceniem uwagi na czynniki teratogenne oraz wyniki badań prenatalnych. Szczegółowy wywiad dotyczył okresu noworodkowego. Następnie uwzględniał poszczególne okresy rozwoju dziecka ze szczególnym zwróceniem uwagi na rozwój psychomotoryczny, profil umiejętności i zachowań, trudności w odżywianiu, deficyty wynikające ze współistnienia wad narządowych. W przypadku nastolatków oraz osób dorosłych analizowano dane z wywiadu w odniesieniu do wcześniejszych okresów rozwoju.

3.2.2. Badania przedmiotowe

Szczegółowe badanie przedmiotowe, uwzględniające typowe dla CdLS cechy fenotypowe przeprowadziłam u 68 pacjentów, w sześciu przypadkach oparłam się na załączonej szczegółowej dokumentacji klinicznej oraz fotograficznej. W 56 przypadkach

badania przedmiotowe powtarzano kilkakrotnie. Okresowe badania fizykalnym uzupełniano wielospecjalistycznymi badaniami, w tym obrazowymi, z uwzględnieniem wad i zaburzeń ściśle związanych z fenotypem CdLS. Wykorzystano posiadaną przez pacjentów dokumentację medyczną, jak również dokumentację sporządzaną w trakcie wielorazowych konsultacji telefonicznych oraz internetowych.

3.2.3. Badanie antropometryczne z uwzględnieniem zmienności wiekowej

Dane antropometryczne dotyczące masy ciała, długości, obwodu głowy porównano z siatkami percentylowymi dla populacji. W ocenie noworodka i wcześniaka uwzględniono siatki percentylowe opracowane przez Fenton [46, 47], w późniejszych okresach życia stosowano siatki percentylowe opracowane przez WHO [65, 138, 149]. Ponadto w analizie antropometrycznej okołoporodowej jak również w poszczególnych etapach rozwoju posługiwano się siatkami percentylowymi opracowanymi przez Kline dla CdLS [91]. Stosując stopniowanie parametrów antropometrycznych: >75 percentyla, 25–50 percentyla i poniżej 25 percentyla. Zastosowanie skali Kline umożliwiało porównywanie uzyskanych danych z zamieszczonymi w innych opracowaniach dotyczących CdLS.

3.2.4. Diagnostyka przewodu pokarmowego

Zebrano szczegółowy wywiad dotyczący przyrostu masy ciała i sposobu odżywiania w poszczególnych okresach rozwoju, problemów gastroenterologicznych, ze szczególnym zwróceniem uwagi na typowe i atypowe objawy refluksu żołądkowo – przełykowego. W diagnostyce obrazowej wykorzystano: USG jamy brzusznej z próbą oceną fal zwrotnych z żołądka do przełyku, badanie radiologiczne górnego odcinka przewodu pokarmowego, zdjęcia przeglądowe jamy brzusznej i pasaż przewodu pokarmowego. Badania endoskopowe górnego odcinka przewodu pokarmowego każdorazowo przeprowadzano w warunkach szpitalnych, w znieczuleniu ogólnym, z pobraniem wycinków do badania histopatologicznego. W wybranych przypadkach wykonywano badanie pH metryczne przewodu pokarmowego.

3.2.5. Ocena układu kostnego

Badanie fizykalne połączono z oceną radiologiczną wybranych fragmentów układu kostnego (staw łokciowy, przedramiona, nadgarstki, dłonie, miednica i stawy biodrowe). W opracowaniu przyjęto opracowane przez Gillis i Bhuiana [16, 58] kryteria redukcji kończyn I (łagodny) – brak wad ubytkowych kończyn górnych, II (umiarkowany) – fragmentaryczne wady ubytkowe/oligodaktylia (obecność > 2 palców dłoni), III (ciężki) – znaczny defekt ubytkowy kończyn górnych/oligodaktylia ($\leq$ 2 palce dłoni).

3.2.6. Badanie kardiologiczne

Uwzględniono wywiad, badanie fizykalne, badanie EKG oraz badanie echokardiograficzne składające się ze standardowej oceny m-mode, 2D oraz badania serca metodą Dopplera.

3.2.7. Diagnostyka nefrologiczna i urologiczna

Poza wywiadem wykonano badania USG jamy brzusznej z oceną układu moczowego, w przypadku podejrzenia refluksu pęcherzowo-moczowodowego badania uzupełniano o cystoureterografię mikcyjną. Badania obrazowe uzupełniono badaniami biochemicznymi oceniającymi funkcję nerek.

3.2.8. Badanie endokrynologiczne i ginekologiczne

Poza badaniem fizykalnym w badaniach ultrasonograficznych oceniano obecność, umiejscowienie i wielkość jąder. Oceny macicy i jajników dokonano u dziewcząt i kobiet powyżej 12 rż. Badanie ginekologiczne, w tym badanie we wziernikach z oceną wymazu z szyjki macicy wykonano u części dziewcząt powyżej 14 rż oraz dorosłych kobiet. Wykonano również badania biochemiczne oceniające funkcję tarczycy, u większości osób powyżej 12 rż oceniano także ultrasonograficznie wielkość tarczycy.

3.2.9. Badania hematologiczne

Oceniano morfologię krwi z rozmazem, w wybranych przypadkach poziom żelaza, transferyny. W wywiadach zwracano uwagę na skłonność do infekcji, tendencję do utrzymywania się procesów zapalnych, odczyny i powikłania poszczepienne.

3.2.10. Badanie audiologiczne

W obiektywnym badaniu słuchu oceniano słuchowe potencjały wywołane z pnia mózgu (ABR). U wszystkich u których stwierdzano podwyższone wartości progowe wykonano badanie tympanometryczne.

3.2.11. Badanie okulistyczne

Każdorazowo oceniano przedni odcinek oka z uwzględnieniem oceny rzęs oraz aparatu łzowego. U większości pacjentów wykonano ponadto rozszerzone badanie okulistyczne z oceną tarczy nerwu wzrokowego, u części pacjentów u których było to możliwe zmierzono ostrość wzroku.

3.2.12. Badanie neurologiczne

Oceniano stopień rozwoju psychomotorycznego, stan nerwów czaszkowych, napięcie i siłę mięśni, zbornosć ruchów, odruchy ścięgnowe i okostnowe. U większości pacjentów wykonano badania elektroencefalograficzne (EEG), u niektórych uzupełnione o badanie video-EEG

3.2.13. Ocena rozwoju oraz profilu zachowań

Osiąganie przez pacjenta poszczególnych umiejętności oparto o przyjęte dla CdLS kryteria dla oceny rozwoju [14, 94]. W badaniach uwzględniono pacjentów którzy ukończyli czwarty rż.

W ocenie zachowań posługiwano się zarówno wnikliwą obserwacją w trakcie licznych przeprowadzanych badań jak i szczegółowymi wywiadami uzyskiwanymi od rodziców i opiekunów (wszyscy zakwalifikowani do badań pacjenci przebywali w domach rodzinnych lub rodzinach zastępczych).

3.2.14. Klasyfikacja fenotypu

W poszukiwaniu możliwych korelacji genotyp-fenotyp w ocenie fenotypu przyjęto kryteria diagnostyczne opracowane na podstawie Kline [93] (tab. 1) uwzględniające masę urodzeniową, wzrost korelowany z danymi dla CdLS [91], etapy rozwoju, liczbę wad narządowych oraz stopień redukcji kończyn zgodny z kryteriami Gillis [59] ocenę słuchu. Zastosowanie skali punktowej zawartej w tabeli uwzględniało ocenę rozwoju dlatego wiarygodne ustalenie punktacji było możliwe po ukończeniu przez dziecko czwartego rż. Dla uproszczenia przyjęto nazewnictwo: **postać łagodna** dla postaci umiarkowanej i łagodnej zespołu (punktacja do 22 punktów).

3.2.15. Miejsce wykonywania badań klinicznych

Od roku 2002 przy Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny – GUMed) zaczął działać wielospecjalistyczny zespół zajmujący się pacjentami z CdLS z terenu całego kraju. W skład Zespołu weszli, poza autorem pracy: gastroenterolog dziecięcy, dr med. Piotr Banach (Przychodnia Gastroenterologiczna dla Dzieci przy Wojewódzkim Centrum Traumatologii) oraz zespół asystentów Katedry i Kliniki Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci, neurolog dziecięcy dr med. Maria Mazurkiewicz-Beldzińska (Klinika Neurologii Rozwojowej), otolaryngolog dr med. Jacek Kozłowski (Klinika Chorób Uszu, Nosa, Gardła i Krtani), okuliści: dr med. Urszula Stodolska-Koberda, dr med. Witold Kokot (Klinika Chorób Oczu) kardiolog dziecięcy dr med. Piotr Potaż (Klinika Kardiologii Dziecięcej i Wad Wrodzonych Serca), chirurg dziecięcy prof. dr hab. med. Piotr Czauderna (Klinika Chirurgii Dziecięcej i Urologii) endokrynolog dziecięcy dr med. Dorota Birkholz, psycholog kliniczny mgr Sylwia Barsow (Klinika Pediatrii Hematologii, Onkologii i Endokrynologii), internista dr hab. med. Tomasz Wierzbica (Katedra i Zakład Fizjologii), specjaliści rehabilita-

cji: dr med. Joanna Jabłońska-Brudło, dr med. Wiesława Nyka (Klinika Rehabilitacji), ginekolog dr med. Zofia Pankrac (Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej), dr med. Wojciech Kosiak i asystenci Pracowni Ultrasonograficznej Kliniki Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii, asystenci Katedry i Zakładu Radiologii. W przypadku pacjentów dorosłych nawiązano ponadto współpracę z dr hab. Krzysztofem Leksowskim (Klinika Chirurgii Wojskowego Szpitala Klinicznego w Bydgoszczy). Z zaproponowanego systemu badań i konsultacji skorzystały 82 rodziny (w tym 68 umieszczonych w pracy) pacjentów, część z nich kilkakrotnie.

Spośród 68 opisanych w pracy pacjentów, 60 wraz z rodzinami wzięło ponadto udział w kolejnych corocznych spotkaniach Stowarzyszenia Cornelia de Lange – Polska w Żninie w latach 2002–2011. W trakcie trzydniowych spotkań poza szczegółowym wywiadem oraz badaniem fizykalnym możliwy był wgląd w dokumentację medyczną, proponowano także wykonanie badań dodatkowych bądź włączenie leczenia.

3.3. Diagnostyka cytogenetyczna i molekularna

U 74 pacjentów z fenotypem CdLS zakwalifikowanych do dalszych badań klinicznych wykonano badania cytogenetyczne i molekularne.

Materiałem do badań były preparaty do hodowli limfocytów oraz preparaty genomowego DNA (wybranych przypadkach także RNA) izolowanego z pełnej krwi obwodowej. W kilku wybranych przypadkach analizowano biopsjaty skóry (u czterech pacjentów).

Do pobierania materiału biologicznego, wykonywania badań genetycznych oraz analizy klinicznej pacjentów uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny).

3.3.1. Analiza cytogenetyczna

Wykonano u 74 pacjentów celem wykluczenia bądź potwierdzenia aberracji liczbowych oraz dużych rearanżacji strukturalnych chromosomów. Badania cytogenetyczne wykonywano techniką GTG na limfocytach krwi obwodowej stymulowanych fitohemaglutyniną według standardowej procedury. W celu uzyskania chromosomów od pacjentów oraz osób z grupy kontrolnej pobrano krew obwodową na heparynę litową. Chromosomy barwiono techniką GTW. Około 20 metafaz analizowano pod mikroskopem Axioskop (Zeiss) połączonym poprzez kamerę o wysokiej czułości z systemem komputerowej analizy obrazu – CytoVision (Applied Imaging). Analizę i zapisy aberracji chromosomowych przeprowadzano zgodnie z zasadami ISCN 2009. Chromosomy metafazowe analizowano z rozdzielczością 400–550 prążków.

3.3.2. Badania mutacji i polimorfizmów genu *NIPBL* i *SMC1*

Sekwencje kodujących eksonów wraz z flankującymi fragmentami intronów genu *NIPBL* i *SMC1* zostały zamplifikowane za pomocą reakcji PCR z wykorzystaniem odpowiednio zaprojektowanych starterów. PO zakończeniu amplifikacji przeprowadzono

elektroforezę agarozową aby potwierdzić obecność produktu oraz specyficzność reakcji. Następnie analizę molekularną przeprowadzano za pomocą jednej z dwóch technik: denaturacyjnej wysokosprawnej chromatografii cieczowej (DHPLC - *Denaturing High Performance Liquid Chromatography* (WAVE System, Transgenomics, którą stosowano jako bardzo czułą technikę pośrednią), oraz sekwencjonowania bezpośredniego (sekwencjator ABI PRISM 310 (Applied Biosystems)). DHPLC jest bardzo czułą techniką wykrywającą przeprowadzanie powielonych ampikonów w warunkach częściowej denaturacji termicznej przez złożę kolumny chromatograficznej (w gradiencie acetonitrylu. Tworzące się hetero duplekсы (między nicią prawidłową i z mutacją) charakteryzują się słabszym związaniem do złoża kolumny niż homoduplekсы i tym samym są szybciej z niej wymywane. Rozdział jest monitorowany i mierzony za pomocą pomiaru absorbancji oraz przedstawiany graficznie. Profil elucji jest charakterystyczny i powtarzalny. W razie zidentyfikowania za pomocą DHPLC fragmentu wykazującego odmienny profil pików na chromatogramie był on ponownie amplifikowany a następnie poddany reakcji z zestawem do sekwencjonowania Big Dye Terminator Kit (Applied Biosystem). Odczyt sekwencji przeprowadzono w analizatorze automatycznym ABIPRISM310 (Applied Biosystem). Otrzymaną sekwencję porównywano z sekwencją referencyjną. W wybranych przypadkach, aby potwierdzić zaburzenia składania prawidłowego mRNA, przeprowadzono izolację RNA a następnie po przeprowadzonej reakcji RT-PCR uzyskany produkt poddano sekwencjonowaniu.

3.3.3. Badania MLPA i Array CGH

Do poszukiwań dużych rearanżacji genów wykorzystano technikę MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) opracowaną przez MRC Holland (Holandia), która pozwala na jednoczesną analizę zaburzeń liczby kopii wielu badanych eksonów. Badania wykonano specjalnie dobranym zestawem kitów dla genu *NIPBL*: SALSA MLPA KIT 141 i 142. Pierwszy kit zawiera wyznakowane fluorochromem sondy dla nieparzystych eksonów genu *NIPBL*, a drugi dla eksonów parzystych oraz dodatkowo dla eksonu pierwszego. Produkty amplifikacji MLPA rozdzielano za pomocą elektroforezy kapilarnej, (sekwencjator ABI PRISM 310 (Applied Biosystems)). W celu weryfikacji wyników uzyskanych za pomocą MLPA przeprowadzono porównawczą hybrydizację genomową na mikromacierzy – (Human Genome CGH Microarray 105A (Agilent Technologies)) zawierającej około 100 tysięcy oligonukleotydowych sond reprezentujących sekwencje z całego genomu. Jako DNA referencyjnego używano mieszaniny DNA z limfocytów krwi obwodowej dziewięciu zdrowych kobiet. Do skanowania macierzy używano skanera Axon GenePix 4000B, a uzyskane dane analizowano korzystając z programu Agilent DNA Analytics (Agilent Technologies). Wszystkie zmiany analizowano zgodnie z NCBI36/hg18.

3.3.4. Laboratoria wykonujące badania genetyczne

Badania cytogenetyczne wykonano w większości w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Korzystano także z wyników badań wykonanych w ośrodkach genetycznych w Polsce. Badania molekularne genu *NIPBL*

przeprowadzono w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, w Department of Molecular and Human Genetics Baylor College of Medicine, Texas Children's Hospital, Houston, Texas, USA i w Grupo de Genetica Clinica, Facultad de Medicine, Universidad de Zaragoza, Hiszpania (pozycja). Praca została częściowo sfinansowana z grantów: Komitetu Badań Naukowych N40702032/0536 oraz National Institute of Child Health and Human Development P01HD 3942 (USA) i The Spanish Ministry of Health – Fondo de Investigación Sanitaria (FIS) (PI09-1422); the Diputación General de Aragón (DGA) (Grupo Consolidado B20) and University of Zaragoza (PIF-UZ_2009-BIO-02) (Hiszpania).

Badania molekularne genu SMC1 przeprowadzono w Instituto di Technologie Biomediche, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Milan, Włochy (prof. A. Musio), oraz przez Grupo de Genetica Clinica, Facultad de Medicine, Universidad de Zaragoza, Hiszpania (prof. J. Pie).

3.4. Analiza kliniczna uwzględniająca korelacje genotyp-fenotyp

W oparciu o wyniki badań molekularnych dokonano porównawczej analizy częstości występowania poszczególnych cech klinicznych pacjentów *NIPBL*+ (M+) i *NIPBL*- (M-). Analizowano następnie wpływ rodzaju mutacji lub rearanżacji genomowych na fenotyp pacjentów M+. Korelacja genotyp-fenotyp uwzględniała: perinatalne i postnatalne pomiary antropometryczne, fenotyp dysmorfologiczny, obecność wad wrodzonych i zaburzeń czynnościowych, rozwój psychomotoryczny i fenotyp behawioralny.

Klasyfikując poszczególne parametry ustosunkowano się do skali oceny fenotypu zastosowanej wcześniej przez Gillis [59] modyfikowanej przez Bhuiyana [16] uwzględniającej kryteria: masy urodzeniowej, wzrostu (wg skali Kline), stopnia redukcji kończyn, obecności refluku żołądkowo-przełykowego, stopnia upośledzenia rozwoju, rozwoju mowy i obecności zachowań autystycznych (tab. 1). Pozwoliło to na porównanie danych zawartych w największych liczbowo zestawieniach [16, 59, 154, 185].

3.5. Metody analizy statystycznej

Wnioskowanie oparto o analizę statystyczną.

Przed porównaniem zmiennych ilościowych, weryfikowano hipotezę normalności rozkładu zmiennych weryfikowano testem Shapiro-Wilka, zaś dla wykluczenia niejednorodności wariancji w porównywanych grupach stosowano test Levene'a. W przypadku potwierdzenia rozkładu normalnego i jednorodności wariancji w dalszych obliczeniach wykorzystano testy parametryczne. Dla porównania pary zmiennych stosowano test t-Studenta, zaś w wypadku rozkładu zmiennych niespełniających kryteriów rozkładu normalnego lub jednorodności wariancji użyto testu U-Manna-Whitneya-Wilcoxon. Do porównania cechy ilościowej w trzech lub więcej grupach wykorzystano analizę wariancji (ANOVA). Przy normalnym rozkładzie zmiennych i porównywalnej wariancji w dalszych obliczeniach zastosowano test najmniejszych różnic Fishera (LSD), zaś test Kruskala-Wallisa wykorzystano przy rozkładzie zmiennych niespełniających kryteriów rozkładu normalnego lub jednorodności wariancji.

Częstość występowania danej cechy w różnych grupach (różnych typach mutacji) porównywano przy użyciu dokładnego testu Fishera ($n < 15$) lub test χ^2 (przy $n > 15$). Współzależność cech ilościowych porównywano przy pomocy analizy regresji. Obliczano współczynnik korelacji liniowej Pearsona przy $n-2$ stopniach swobody i wyznaczano poziom jego istotności statystycznej. Siłę związku między zmiennymi jakościowymi – dychotomicznymi (0 lub 1) analizowano przez wyznaczenie współczynnika ϕ Yule’a w oparciu o statystykę χ^2 .

Jako poziom istotny statystycznie przyjęto $p < 0,05$.

4. WYNIKI BADAŃ

4.1. Analiza kliniczna fenotypu z uwzględnieniem wieku oraz podziału na postać klasyczną i łagodną

Analizie poddano 74 pacjentów niespokrewnionych ze sobą: 35 płci żeńskiej (47,29%) i 39 płci męskiej (52,71%) w wieku od 8 miesięcy do 36 lat (średnia 12,72 ($\pm 8,1$) lat), zdiagnozowanych zgodnie z powszechnie przyjętym kryteriom diagnostycznym CdLS [1, 16, 59, 79, 80, 185]. W tabelach 2A–F zestawiono szczegółowe dane kliniczne pacjentów uwzględniające obecność oraz typ mutacji lub rearanżacji i ich lokalizacje w genie *NIPBL*. W klasyfikacji zastosowano podział na typ klasyczny i łagodny (mild) zespołu zgodnie z przyjętymi kryteriami [93]. Uwzględniono punktową ocenę stopnia zaawansowania zespołu [93, 185] dla pacjentów powyżej czwartego rż. Średnią punktację badanej grupy u osób powyżej czwartego rż oszacowano na 23,02 pkt ($n=64$).

4.1.1. Okres prenatalny i perinatalny

4.1.1.1. Dane rodzinne

Nie stwierdzono przypadków pokrewieństwa. W okresie prekonceptyjnym matki były zdrowe poza jedną z rozpoznaniem padaczki (matka w okresie ciąży nie zażywała leków, ani nie miała napadów). Wszystkie matki ukończyły w chwili porodu 19 rok życia, cztery (5,41%) przekroczyły 35 lat. Średni wiek matek w chwili porodu wynosił 27,35 ($\pm 5,12$) lat, ojców 29,70 ($\pm 4,73$) lat. U 29 matek (39,18%) wywiad dotyczący poprzednich ciąży i porodów był obciążony (26 samoistnych poronień i trzy porody martwe; odpowiednio: dwa w 23 i jeden w 25 tygodniu ciąży). Przy porodach martwych jako przyczynę podano wcześniactwo. W dwóch przypadkach zanotowano choroby wśród rodzeństwa (siostra – wrodzone zarośnięcie odbytu, brat – mózgowie porażenie dziecięce). Fenotypy rodzeństwa nie odpowiadały kryterium rozpoznania CdLS.

4.1.1.2. Przebieg ciąży

Dane dotyczące przebiegu ciąży uzyskano od 72 matek (97,29%) i dwóch opiekunów (dzieci adopcyjne). Jedna ciąża pochodziła z zapłodnienia *in vitro*. W pięciu przypadkach w okresie ciąży stwierdzono: cechy niewielkiego krwawienia w pierwszym tryestrze (6,75%), w pięciu małowodzie (6,75%), w dwóch cukrzycę ciążowych (2,70%) oraz w dwóch – rzucawkę (2,70%). U dwóch kobiet wykonano prenatalne badania biochemiczne. Wskazaniami do ich wykonania były: poronienie w wywiadzie (1) oraz wiek matki (1). U obu wartość testu PAPPa była obniżona, przy czym odnotowano także nieprawidłową przezierność karku, obie matki nie wyraziły zgody na amniopunkcję. Po urodzeniu u noworodka wykazano mutację *NIPBL* oraz karyotyp mos45X/46XX, u drugiego rozpoznano CdLS ale nie stwierdzono obecności mutacji. W pięciu przypadkach (6,75%) nie można wykluczyć ekspozycji na czynniki teratogenne (badanie rentge-

nowskie klatki piersiowej u matki w drugim miesiącu ciąży, pozostałe cztery matki – wywiad wskazywał na picie alkoholu w okresie ciąży). Badania ultrasonograficzne płodów wykonano w 54 przypadkach (72,97%). Hipotrofię ujawniono u 30 płodów (w 55,62% wykonanych badań), w trzech odnotowano dodatkowo wady kończyn górnych (5,61% wykonanych badań). U żadnego z płodów nie wysunięto prenatalnie sugestii CdLS, pomimo ultrasonograficznie potwierdzonych wykładników zespołu (hipotrofia i towarzyszące wady kończyn). Dwie matki, mimo zarejestrowania wad ubytkowych kończyn w badaniu ultrasonograficznym, nie otrzymały na ten temat informacji, aby „nie denerwować pacjentki”.

4.1.1.3. Dane okołoporodowe

W tabeli 2.2 uwzględnia podstawowe dane kliniczne dotyczące okresu okołoporodowego.

Średni czas trwania ciąży wynosił 37,09 ($\pm 2,83$) tygodni i był istotnie krótszy u dziewczynek niż chłopców (odpowiednio 36,48 tygodni – płę żeńska 37,62 tygodni – płę męska; $p=0,0480$). Spośród 22 noworodków urodzonych przedwcześnie (29,73%), także odsetek przedwcześnie urodzonych noworodków płci żeńskiej był istotnie większy niż płci męskiej (40,00% płę żeńska; 20,52% płę męska; $p=0,0335$). Jako przyczyny porodów przedwczesnych podawano: przedwczesne rozpoczęcie akcji porodowej, wahania tętna płodu, stan przedrzucawkowy. Trzydzieści jeden ciąż (41,89%) zakończono cięciem cesarskim, w tym 16 wcześniaczych. Jako przyczynę wykonania cięcia cesarskiego podawano: wcześniejsze porody zakończone cięciem cesarskim, wahania tętna płodu, nieprawidłowe ułożenie płodu.

Urodzeniowe dane antropometryczne zawarto w rozdziale dotyczącym fenotypu.

Średnia punktacja w skali Apgar wyniosła 7,22 ($\pm 2,60$), przy czym u 38 (51,35%) punktacja w pierwszych minutach wynosiła 8 do 10 punktów. Dziesięć noworodków (12,16%) wymagało resuscytacji po porodzie, spośród nich dwoje także przedłużonej wentylacji mechanicznej (wrodzona wada serca i przewodu pokarmowego, wcześniactwo i niska masa urodzeniowa). Przejściowe zaburzenia adaptacyjne stwierdzono u 47 noworodków (63,51%), a 26 (35,13%) demonstrowało incydenty krótkotrwałego bezdechu w okresie kilku dni po urodzeniu, bez konieczności zastosowania wspomaganej wentylacji. Zaburzenia napięcia mięśniowego stwierdzono u 65 noworodków (87,83%), w tym u 60 (81,08%) pod postacią jego zwiększenia, a u pięciu (6,75%) obniżenia. Epizody drżeń lub drgawek obserwowano odpowiednio u dziesięciu (12,16%) i siedmiu (9,45%) noworodków. Badanie ultrasonograficzne mózgowia wykonane u 47 noworodków (63,51%) ujawniło u sześciu (8,10%) cechy krwawienia okołokomorowego lub podwysięciółkowego I i II stopnia. Zaburzenia ssania w okresie noworodkowym występowały u 61 noworodków (82,43%), przy czym u 23 (31,08%) odruch ssania w pierwszych dniach życia był nieobecny. Sondę dożołądkową zastosowano u 36 noworodków (48,64%), a średni czas jej utrzymywania wynosił 16 tygodni.

Sześcioro noworodków (8,11%) wymagało interwencji chirurgicznej z powodu: wady serca współistniejącej z zarośnięciem przełyku (1), uwięźnięcia przepukliny pachwinowej (1), wrodzonego zwężenia odźwiernika (1), częściowej resekcji jelita w przebiegu colitis necroticans (1) oraz masywnego refluksu żołądkowo-przełykowego (2). Wszystkie noworodki bez komplikacji przeżyły zabiegi oraz okres okołoperacyjny.



Ryc. 6A. Twarz dziecka z klasycznym fenotypem CdLS: mutacja *frame shift*. Mikro i brachycefalia, nisko schodząca linia owłosienia, brwi „pędzelkowate” synophrys, długie rzęsy, opadanie powiek, zapadnięty grzbiet nosa, szeroko rozstawione nozdrza, długa, spłaszczona rynienka nosowa, nisko osadzone uszy, cofnięta i mała żuchwa, cienkie wargi z kącikami skierowanymi ku dołowi.

Fig. 6A. Face of the child with the classic CdLS phenotype- *frame shift* mutation. Micro-brachycephaly, low hairline, „pencilled” brows, synophrys, long bushy eyelashes, ptosis, depressed nasal bridge, anteverted nostrils, plane philtrum, low set ears. micro-rethrogathia, thin lips with downset corner.



Ryc. 6B. Ten sam pacjent z klasyczną postacią CdLS - skrócenie kości ramieniowej oraz łokciowej.

Fig. 6B. The same patient with classic phenotype. Radial and ulnar hypoplasia.



Ryc. 7A. Pacjentka z mutacją *NIPBL* typu *frame shift* w okresie noworodkowym.
Fig. 7A. Patient with *frame shift NIPBL* mutation as a neonate.



Ryc. 7B. Ta sama pacjentka jako osoba dorosła.
Fig. 7B. The same patient as an adult.



Ryc. 8A. Dorosła osoba z mutacją *NIPBL* typu *frame shift* w wieku 26 lat z klasycznym fenotypem – zaostrenie rysów, ścieńczenie skóry, zmniejszona tkanka podskórna policzków, twarz pozornie starsza niż wiek biologiczny pacjentki.

Fig. 8A. Adult females with the *frame shift NIPBL* mutation, 26 years old, classic phenotype. Face older than the biological age.



Ryc. 8B. Dorosła osoba w wieku 26 lat z mutacją *NIPBL frame shift*. Spłaszczenie środkowej części twarzy, wydętne łuki brwiowe, synophrys, skrócona rynienka nosowa, pogrubiała dolna warga, wydętą szczęką z tendencją do prognatii.

Fig. 8B. 26 years old adult female with the *frame shift NIPBL* mutation. Plane midface, prominent eyebrows, synophrys, short philtrum, prominent lip, prominent jaws with the tendency to prognathia.



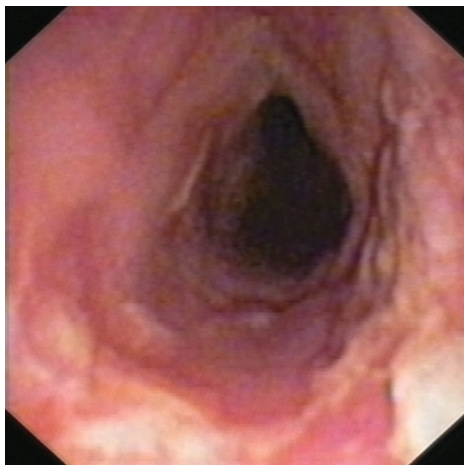
Ryc. 9. Współistnienie fenotypu CdLS z mutacją genu *NIPBL* typu *missense* i FAS. Spłaszczona środkowa część twarzy, hipoteloryzm, wąskie szpary powiekowe, wyddatne philtrum z brakiem wyraźnej rynienki nosowej, drobne usta, mikrogнатia.

Fig. 9. Coincidence of CdLS – *NIPBL* *missense* mutation and FAS. Coarse midface, hypotelorism, short palpebral fissures, plane philtrum, thin lips, micrognathia.

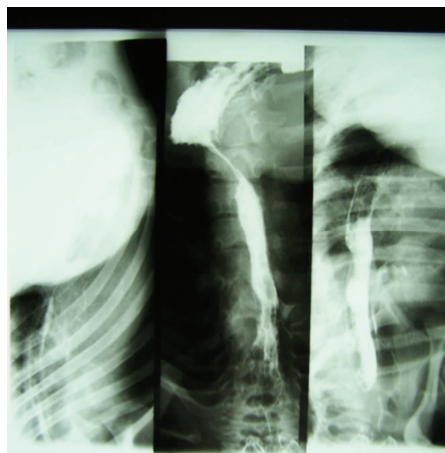


Ryc. 10. Noworodek z CDLS z mutacją *NIPBL* typu *missense* – wyloniona przetoką jelitowo-skórną po usunięciu fragmentu jelita cienkiego w przebiegu perforacji.

Fig. 10. The CdLS neonate with *missense* *NIPBL* mutation – intestino-cutaneous fistula after intestinal perforation



Ryc. 11A. Przelyk Barretta u 12-letniej pacjentki z delecją eksonów 35-37 genu *NIPBL*.
Fig. 11A. Barrett esophagus in 12 years old girl with 35-47 *NIPBL* deletion.



Ryc. 11B. Zwężenie przełyku u 17-letniego pacjenta z CdLS M-.
Fig. 11B. Esophageal stenosis in 17 CdLS in M- patient.



Ryc. 12A. Układ dłoni u pacjentki mutacją *NIPBL* typu *frame shift* – skrócenie kości paliczków, klinodaktylia palca V.

Fig. 12A. Hand in patient with *NIPBL* frame shift mutation. Palmar shortening. V finger clinodactyly.



Ryc. 12B. Zniekształcenie stóp u pacjentki z mutacją *NIPBL* typu *missense*

Fig. 12B. Foot deformation in the patient with the *NIPBL* missense mutation.



Ryc. 13. Przykład posługiwanie się kończynami w przypadku stwierdzenia wad ubytkowych. Pacjentka M- – jednostronna ektrodaktylia.

Fig. 13. Example of the ability to eat independly – M- CdLS patient with the ectrodactyly.



Ryc. 14. Podwójny układ rzęs i jednostronne opadanie powieki u pacjentki z mutacją NIPBL frame shift.

Fig. 14. Double eyelashes and ptosis in the patient with the NIPBL frame shift mutation.

4.2. Zmienność fenotypowa zależna od okresów rozwoju somatycznego

4.2.1. Analiza rozwoju somatycznego w oparciu o siatki percentylowe

Masa urodzeniowa badanych wynosiła od 800 do 3700 g, średnio 2040,27 (± 625) g i była nieznamiennie niższa u dziewczynek niż u chłopców (1948 ($\pm 619,98$) u dziewczynek, 2123,08 ($\pm 634,72$) g u chłopców; $p=0,235$; NS). Długość ciała po urodzeniu wynosiła od 37 do 57 cm, średnio 46,65 ($\pm 5,83$) cm; (45,57 ($\pm 5,67$) u dziewczynek; 47,62 ($\pm 5,94$) cm u chłopców; NS). Obwód głowy przy urodzeniu wynosił od 26 do 34 cm, średnio 29,30 ($\pm 3,43$) cm (29,18 ($\pm 3,76$) cm u dziewczynek, 29,43 ($\pm 3,13$) cm u chłopców; NS). Masa urodzeniowa poniżej trzeciego percentyla, wg siatek percentylowych dla wcześniaków i noworodków [46, 47], została stwierdzona u 47 (63,51%) noworodków (u 66,23% dziewczynek; 62,11% chłopców; NS) w tym u 12 wcześniaków. Według tych samych kryteriów, długość po urodzeniu poniżej 3 percentyla została stwierdzona u 28 noworodków (37,84%: 38,46% dziewczynek, 37,14% chłopców; NS), w tym 10 wcześniaków, a urodzeniowy obwód głowy poniżej trzeciego percentyla stwierdzono u 56 (75,68%) noworodków (82,05%: 82,05% dziewczynek, 68,57% chłopców NS) w tym u 15 wcześniaków. Postnatalny proporcjonalny niedobór wzrostu poniżej trzeciego percentyla zgodnie z populacyjnymi siatkami percentylowymi [65, 138] stwierdzono u 68 pacjentów (91,89%). Analizowano także wzrost pacjentów uwzględniając siatki percentylowe opracowane przez Kline dla pacjentów z CdLS [91]. U ośmiu pacjentów (10,81%: 14,29% chłopców, 7,69% dziewczynek; NS) stwierdzono wzrost poniżej 25 percentyla, u 50 osób (67,57%: 66,67% dziewczynek, 68,57% chłopców; NS), wzrost między 25 a 75 percentylem, zaś u 16 osób (21,62%: 28,21% dziewczynek, 14,29% chłopców; $p=0,0545$, NS) wzrost powyżej 75 percentyla. Trzydziestu jeden pacjentów (41,89%) urodziło się z długością ciała poniżej 3 percentyla. Dalsza obserwacja tych osób ujawniła: u pięciu z nich (16,13%) wzrost poniżej 25 percentyla wg siatek CdLS, u 23 stwierdzono wzrost pomiędzy 25 a 75 percentylem (74,19%), zaś u trzech (9,68%) wzrost przekraczał 75 percentyl (9,68%).

Dwudziestu ośmiu pacjentów (37,83%), w tym 17 płci żeńskiej ukończyło 14 lat. Średnia wieku w tej grupie wynosiła 20,86 ($\pm 6,18$) lat, a najstarszy pacjent ukończył 36 lat. Średni wzrost wynosił 144,11 ($\pm 10,13$) cm, przy czym był istotnie niższy u kobiet (139,18 ($\pm 7,63$) cm niż u mężczyzn (151,73 ($\pm 8,88$) cm; $p=0,005$). Trzech mężczyzn osiągnęło wzrost powyżej 165 cm.

4.2.2. Ocena zmienności fenotypu w poszczególnych grupach wiekowych z uwzględnieniem okresu dojrzewania i dorosłości

Fenotyp typowy dla postaci klasycznej obserwowano po urodzeniu u 60 noworodków (81,08% badanych) (ryc. 6A). Hirsutyzm stwierdzono u 66 pacjentów (89,19%), przy czym nadmiar owłosienia obserwowano zwłaszcza w okolicy pleców. Małogłowie obserwowano u 58 osób (78,38%), u 60 (81,08%) rozpoznano brachycefalię, u 48 (64,86%) nisko schodzącą linią owłosienia, a u 61 (82,43%) uniesione ku górze trójkątne łuki brwiowe. Pędzelkowate brwi (ryc. 6) zauważono u 48 osób (64,86%), a bujne, krza-

czaste brwi, u 26 (35,13%), zaś u 65 (87,84%) synophrys. U wszystkich badanych występowały długie gęste rzęsy. Szeroko rozstawione nozdrza miało 56 pacjentów (75,68%), długą rynienkę nosową rozpoznano u 56 osób (75,68%), nisko osadzone uszy, zrotowane ku tyłowi – u 61 (82,43%), cofniętą i małą żuchwę – u 67 (90,54%), a wąskie wargi z kącikami skierowanymi ku dołowi – u 71 (95,95%). Podniebienie gotyckie stwierdzono u 46 badanych (62,16%), natomiast rozszczep podniebienia u 24 (32,43%). Dane fenotypowe zestawiono w tabeli 2.1.

Fenotyp niemowlęco-dziecięcy ulegał zmianie w okresie dojrzewania i dorosłości (ryc. 7A i B). Hirsutyzm, obserwowany od okresu noworodkowego nasilał się obejmując podudzia i przedramiona. U jednego z dorosłych (67) ujawniała się asymetria twarzy, której nie zaobserwowano w okresie dzieciństwa. Ryciny 8A i 8B odzwierciedlają dwa typowe fenotypy występujące u dorosłych z klasyczną postacią zespołu. U pacjentki z ryc. 8A zaznaczone są zaostrome rysy twarzy, z łukowatym ustawieniem brwi. Dolna część twarzy jest drobna, obecna jest mała żuchwa, typowa dla fenotypu dziecięcego. Z kolei u pacjentki z ryc. 8B zwraca uwagę spłaszczenie środkowej części twarzy, wydatne łuki brwiowe, krzaczaste, łukowato ustawione brwi z bardzo wyraźnym synophrys, krótka, pogrubiała rynienka nosowa, wydatne wargi i wysunięta do przodu duża żuchwa (prognatia). U kilkunastoletnich pacjentów obserwowano cechy przedwczesnego starzenia (siwienie włosów, zmarszczki, ścieńczenie skóry, zaostrenie rysów twarzy).

W czterech przypadkach (5,41%) (pac. 24, 25, 57, 72) na podstawie zebranego wywiadu nie można wykluczyć współistnienia płodowego zespołu alkoholowego (Fetal Alcohol Syndrome – FAS). Poza fenotypem CdLS zaznaczone były cechy typowe dla FAS: spłaszczona środkowa część twarzy, zmniejszona odległość między oczodołami, (hipoteloryzm), brakiem wyraźnego zagłębienie w rynience nosowej, drobne usta (ryc. 9). U pac. 3 (kariotyp mos45,X0/46,XX, poza fenotypem CdLS stwierdzono cechy typowe dla zespołu Turnera – obrzęki stóp oraz krótką, płetwiastą szyję i koślawość stawów łokciowych [207].

4.2.3. Ocena rozwoju psychomotorycznego i osiągnięcie poszczególnych umiejętności

Zgodnie z przyjętymi kryteriami [93], analizę rozwoju psychomotorycznego przeprowadzono w grupie 64 pacjentów, którzy ukończyli czwarty rż (86,49%). Zdolność do samodzielnego siadania, którą wykazywały 61 osoby (93,75%), osiągnięta została średnio w wieku 20,62 ($\pm 10,88$) miesięcy, istotnie szybciej przez chłopców (22,16 ($\pm 9,42$) miesięcy dziewczynki; 17,94 ($\pm 11,96$) miesięcy chłopcy; $p=0,0373$). Zdolność do samodzielnego chodzenia, którą uzyskało 51 badanych (79,68%), została osiągnięta średnio w 29,23 ($\pm 12,53$) miesiącu życia (27,87 ($\pm 14,94$) dziewczynki, 30,06 $\pm$ 20,52 miesięcy chłopcy; NS). Zdolność do wymawiania słów posiadało 31 osób (48,43%), a pierwsze słowa odnotowano średnio w wieku 24,56 ($\pm 22,74$) miesięcy. Trzydzieści osób (20,31%) potrafiło posługiwać się prostymi zdaniami (tab. 2.6).

4.3. Wady rozwojowe i układowe zaburzenia czynnościowe

4.3.1. Zaburzenia gastroenterologiczne

Pięciu pacjentów (6,75%) wymagało zabiegów chirurgicznych z powodów gastroenterologicznych w pierwszych 6 tyg. życia (ryc. 10). Zaburzenia ssania stwierdzono u 61 (82,43%) noworodków. W 23 przypadkach (31,08%) odruch ssania był nieobecny po urodzeniu. U 14 noworodków (60,87%) odruch ujawnił się po kilku dniach a u pozostałych dziewięciu (39,13%) – dopiero po kilku tygodniach (tab. 2.3).

Trzydziestu sześciu pacjentów (48,65%) wymagało zastosowania sondy dożołądkowej; średni czas jej utrzymywania wynosił 16 tygodni. W sześciu przypadkach (8,11%) podjęto decyzję o wykonaniu gastrostomii w okresie niemowlęcym. Wieloletnie obserwacje badanej grupy pacjentów wskazują na specyficzne trudności z karmieniem. Zaburzenia ssania i brak właściwej koordynacji między odruchem ssania i połykania skutkowały incydentami zachłystywania się pokarmem. Wielokrotnie obserwowano ulewanie i wymioty w trakcie karmienia lub bezpośrednio po jego zakończeniu. Trudności z prawidłowym karmieniem występowały często u dzieci, u których długotrwale stosowano sondę dożołądkową. Obserwowano lepszą tolerancję pokarmów o konsystencji płynnej i półpłynnej. Pacjenci często kategorycznie odmawiali spożywania niektórych pokarmów, a każda próba ich podawania skutkowała napadami agresji lub autoagresji. W dzieciństwie często lepiej były przyswajane pokarmy ostro przyprawione, zwłaszcza pieprzem, papryką. Osoby z CdLS zwykle dobrze tolerowały małe porcje posiłków, podawane często, przy czym utrzymywała się tendencja do przetrzymywania pokarmu w jamie ustnej i jego przeżuwanie.

Refluks żołądkowo-przelykowy (GER), potwierdzony obiektywnymi badaniami stwierdzono u 52 pacjentów (70,27%: 66,67% płci żeńskiej, 74,29% płci męskiej; NS), w tym u 21 (75%) powyżej 14 rż. U 15 pacjentów (20,27%) refluks żołądkowo-przelykowy rozpoznano już w okresie noworodkowym. U 46 badanych (88,46% z rozpoznaniem GER) odnotowano typowe objawy: odbijanie, ulewanie, wymioty, niechęć do jedzenia, nadmierne ślinienie. Ponadto u 29 osób (55,77% z rozpoznaniem GER) obserwowano także nietypowe objawy: niepokój, nadaktywność, tendencję do samookałeczeń, nawracające infekcje dróg oddechowych. U sześciu osób z potwierdzonym rozpoznaniem GER (11,54%) odnotowano jedynie objawy nietypowe. Należy zaznaczyć, że aż u 34,6% pacjentów lekarze rodzinni nie wiązali występujących objawów z obecnością refluksu żołądkowo-przelykowego. Algorytm diagnostyczny rutynowo stosowany przy podejrzeniu choroby refluksowej był często niemożliwy do zastosowania. Trudności z wykonaniem badań obrazowych oraz endoskopii wynikały z: braku współpracy pacjenta, konieczności stosowania znieczulenia ogólnego, braku zgody rodziców. Rozpoznanie stawiano wówczas w oparciu o wybrane badania obrazowe. U wszystkich pacjentów wykonano USG jamy brzusznej, przy czym u 24 (32,43%) uwidoczniono fale zwrotne żołądkowo-przelykowe. Badanie radiologiczne górnego odcinka przewodu pokarmowego wykonano w 24 przypadkach (32,43%). Fale zwrotne kontrastu z żołądka do przełyku ujawniono w 11 badaniach (45,83%), retencję kontrastu w przełyku – w trzech (12,5%), zwężenie przełyku – w dwóch (8,33%). W pojedynczych badaniach stwierdzono: znacznego stopnia zaleganie powietrza w żołądku, przepuklinę rozworu przełykowego i zwężenie odzwiernika. W trzech badanych (12,5%) nie stwierdzono zmian w przechodzeniu kontrastu. U dziewięciu pacjentów, spośród dziesięciu, u których zostało wykonane

badanie pH-metryczne (90%), wykazano niskie pH treści żołądkowej. Badania endoskopowe górnego odcinka przewodu pokarmowego wykonano u 30 osób (40,54%). U pozostałych pacjentów badania nie wykonano z powodu: braku ewidentnych typowych i nietypowych objawów klinicznych (23 pacjentów; 31,08%) oraz braku zgody rodziców (21 osób; 28,38%). Brak zgody wynikał z obawy przed powikłaniami znieczulenia (10 osób) oraz z uzyskania potwierdzenia rozpoznania refluksu żołądkowo-przełykowego innymi metodami diagnostycznymi (11 osób). W badaniach endoskopowych wykazano różne stadia zapalenia przełyku u 17 pacjentów (60,71% wykonanych badań), zmiany typowe dla przełyku Barretta w dwóch badaniach (6,67%) (ryc. 11A), ponadto u dwóch pacjentów (6,67%) rozpoznano zwężenie przełyku (ryc. 11 B), poszerzane w trakcie endoskopii.

U wszystkich osób z rozpoznaniem GER wdrożono leczenie zachowawcze, ale ocena jego skutków była problematyczna, ponieważ znaczna część rodziców nie wyraziła zgody na wykonanie powtórnych badań, zwłaszcza w przypadkach, w których uzyskano poprawę kliniczną. Zabiegi antyrefluksowe przeprowadzono u 13 pacjentów (17,57% wszystkich przypadków, 25% pacjentów z rozpoznaniem GER), przy czym u sześciu zabieg wykonano w okresie niemowlęcym. U siedmiu osób zastosowano technikę laparoskopową. U wszystkich pacjentów uzyskano poprawę i ustąpienie objawów po zabiegu, tym niemniej u dwojga dalsza obserwacja wskazywała na progresję objawów około dwa lata po zabiegu. Rozważane jest powtórne przeprowadzenie zabiegu antyrefluksowego.

Zaburzenia dolnego odcinka przewodu pokarmowego obserwowano rzadziej. U 21 pacjentów (28,38%) stwierdzano uporczywe zaparcia. U 18 osób (24,32%) wykonano pasaż przewodu pokarmowego, ale jedynie w sześciu badaniach stwierdzono niewielkie zwolnienie eliminacji kontrastu. U czterech pacjentów (5,41%), pomimo wykluczenia wad anatomicznych, niedoczynności tarczycy, stosowania diety i leków prokinetycznych, zaparcia utrzymywały się latami. Przewlekłe biegunki opisywano u pięciu pacjentów (6,76%). U czterech osób (5,41%) zastosowano diety eliminacyjne (bezglutenowej, nieskolaktozowej). Ponadto u dwojga dzieci stwierdzono obecność niewielkich kamieni w pęcherzyku żółciowym.

W trakcie wieloletniej obserwacji badanej grupy u trzech pacjentów (4,06%) wystąpiła niedrożność jelit, u dwóch powikłana zapaleniem otrzewnej. U jednego z niemowląt, powikłanie to doprowadziło do zgonu w ósmym miesiącu życia, wśród objawów wstrząsu septycznego. Jedna z osób dorosłych była operowana z powodu niedrożności jelita cienkiego. Mimo sugestii matki odnośnie podejrzenia niedrożności, na laparotomię zwiadowczą zdecydowano się późno, co skutkowało usunięciem znacznego fragmentu jelita cienkiego i powikłaniem w postaci zapalenia otrzewnej.

4.3.2. Wady układu kostnego

Zmiany w układzie mięśniowo-szkieletowym wystąpiły w różnym stopniu u wszystkich pacjentów (tab. 2.4). U wszystkich (z wyjątkiem pacjentów z wadami ubytkowymi kończyn górnych) dłonie i stopy były nieproporcjonalnie małe. Wady ubytkowe kończyn górnych stwierdzono u 15 osób (20,27%), statystycznie częściej u płci męskiej (8,75% dziewczynki, 30,77% chłopcy; $p=0,0219$) (ryc. 6B). Jedno- lub obustronny brak przedramion stwierdzono u dziewięciu osób (12,16%) istotnie częściej u chłopców

(2,86% u dziewczynek, 20,51% u chłopców; $p=0,0304$), jedno- lub obustronną ektrodaktylię u 14 pacjentów (18,92%) statystycznie częściej u chłopców (8,57% u dziewcząt, 28,21% u chłopców; $p=0,0313$).

Niedorozwój kości promieniowej stwierdzono u dwojga (2,70%), natomiast hipoplazję kości nadgarstka u siedmiorga badanych (9,46%). Częstą dysfunkcją, występującą u 47 pacjentów (63,51%) z istotną przewagą dziewczynek (82,86% dziewczynek; 46,15% chłopców; $p=0,0015$) było ograniczenie ruchów w stawach łokciowych, które nasilało się w miarę dojrzwania. U 13 osób (17,57%; 20,59% płci żeńskiej, 15,38% płci męskiej; NS) stwierdzono hipoplazję kości śródręcza, a u dziewięciu osób (22,16%; 14,29% dziewczynek, 10,26% chłopców; NS) skrócenie kości paliczek. W ocenie radiologicznej zwracało uwagę skrócenie pierwszej kości śródręcza, ponadto obserwowano skrócenie dystalnego paliczka palca V. U 39 badanych (52,70%) istotnie częściej dziewczynek (74,29% dziewczynek; 33,33% chłopców; $p=0,0005$) rozpoznano klino-daktylię palca V (ryc. 12A).

Zmiany w obrębie kończyn dolnych występowały rzadziej, przy czym nie odnotowano zmian ubytkowych. U 13 pacjentów (17,57%, 20,00% dziewczynek; 15,38% chłopców; NS) stwierdzono zwłknięcie bądź dysplazję stawu biodrowego. Ponadto u ośmiu (10,8%) rozpoznano koślawość lub szpotawość stóp. Syndaktylia, zwykle II–III palca była obecna u 15 osób (20,27%; 22,86% dziewczynek, 17,95% chłopców; NS). Z wiekiem narastała tendencja do nadmiernego wysklepienia śródstopia, utrudniająca prawidłowe poruszanie się (ryc. 12B), płaskostopie obserwowano u dziewięciu pacjentów (12,16%). W jednym przypadku stwierdzono nierówność kończyn (2 cm). Chorobę Perthesa wymagającą korekcy ortopedycznej rozpoznano u jednej pacjentki w wieku 15 lat. Dwie dorosłe kobiety operowano z powodu obustronnych halluksów uniemożliwiających chodzenie. Skoliozę rozpoznano u 25 badanych (33,78%; 34,29% kobiet i 33,33% mężczyzn; NS), przy czym jej zaawansowanie nie wymagało korekcy ortopedycznej.

Żadna z osób nie używała protez (ryc. 13).

4.3.3. Wady układu sercowo-naczyniowego

Wrodzone wady serca (WWS) stwierdzono u 21 pacjentów (28,38%; 28,21% dziewczynek, 28,57% chłopców; NS) (tab. 2.5). Większość wad była nieistotna hemodynamicznie i nie wymagała korekcy chirurgicznej. Najczęściej występowały: otwór międzyprzedsionkowy (ASD) – u siedmiu pacjentów (9,46%), przetrwały przewód tętniczy (PDA) – u sześciu badanych (8,11%). Nadzastawkowe zwężenie tętnicy płucnej (PS) rozpoznano u pięciu osób (6,76%). Ponadto u trzech pacjentów (4,05%) rozpoznano: zwężenie aorty (AS) oraz niedomykalność zastawek: mitralnej oraz aortalnej (MI, TI). U jednej pacjentki ze współistnieniem zespołu CdLS i mozaikowym zespołem Turnera ujawniono złożoną wadę serca (PS+VSD).

U pięciu pacjentów (6,76%) wykonano zabiegi kardiochirurgiczne, w przebiegu: tetralogii Fallota (2 pacjentów), wspólnego kanału przedsionkowo-komorowy (AVC, 1 osoba), hemodynamicznie istotnego ASD (2 osoby).

Otwór owalny (FoA) zdiagnozowano w okresie noworodkowym u siedmiu pacjentów (9,46%), z minimalnym przepływem widocznym jedynie w technice Color Doppler. U kolejnych ośmiu badanych (10,81%) w okresie noworodkowym rozpoznano: ASD,

MI i/lub TI, których nie uwidoczniło w następnych badaniach wykonanych po kilku miesiącach. Zgodnie z powszechnie przyjętymi zasadami, zarówno FoA jak i widoczne tylko w pierwszych miesiącach życia nieistotne hemodynamiczne wady nie zostały uwzględnione w analizie statystycznej.

U żadnego z pacjentów nie stwierdzono pierwotnego nadciśnienia tętniczego. U sześciu osób (21,4%) (pięciu mężczyzn i u jednej kobiety) powyżej 18 rż opiekunowie opisywali incydenty oziębienia się kończyn, u dwojga z towarzyszącym drętwieniem dłoni. Badanie dopplerowskie kończyn wykonano jedynie u dwóch osób, a uzyskane wyniki nie odbiegały od normy.

4.3.4. Wady układu moczowo-płciowego

Wady nerek i dróg moczowych rozpoznano u 23 osób (31,08%; 28,57% płci żeńskiej; 33,33% płci męskiej, NS). U 13 osób (17,57%) w obrazie USG uwidoczniło zatartą strukturę korowo-rdzeniową. Małe nerki (proporcjonalnie do wzrostu, nie do wieku) widoczne były u sześciu pacjentów (8,11%), przy czym u trzech stwierdzono równocześnie zatartą strukturę korowo-rdzeniową. U ośmiu innych pacjentów (10,81%), istotnie częściej u płci męskiej (2,86% żeńska, 17,95% płci męska; $p=0,0368$) stwierdzono obecność pojedynczych torbieli w strukturze nerek. Ponadto u jednego pacjenta rozpoznano jednostronną ektopię nerki. Dwoje dzieci demonstrowało biochemiczne i ultrasonograficzne cechy kamicy. Jeden noworodek wymagał interwencji chirurgicznej bezpośrednio po urodzeniu z powodu zastawki cewki tylnej z poszerzonymi moczowodami i obustronnym wodonerczem. Refluks pęcherzowo-moczowodowy nie wymagający korekcy chirurgicznej został potwierdzony radiologicznie (cystoureterografia mikiyjna) u czterech pacjentów (5,41%). U większości dzieci przynajmniej raz wykonano oznaczenie stężenia mocznika i kreatyniny w osoczu oraz badanie ogólne moczu. U dwojga dzieci, w wieku 10 i 11 lat, z zatruciem struktury korowo-rdzeniowej nerek stwierdzono cechy przewlekłej niewydolności nerek. Jak dotąd stosowano leczenie zachowawcze. Towarzyszące nadciśnienie tętnicze jest kontrolowane lekami. U jednego pacjenta stwierdzono nieznaczny stopień proteinurii, przy zachowanej prawidłowej czynności nerek.

4.3.5. Zaburzenia endokrynologiczne

U większości pacjentów, w kilkakrotnie wykonywanych oznaczeniach uzyskano prawidłowe wartości TSH, FT3 i FT4. USG tarczycy wykonano u dziewięciu osób (12,16%). Wielkość tarczycy nie odbiegała od normy, uwzględniając proporcje wagowo-wzrostowe.

Stwierdzono dwa przypadki cukrzycy typu I (2,70%). U jednego z pacjentów chorobę, która ujawniła się w trakcie infekcji wirusowej, rozpoznano w wieku czterech lat. Po wdrożeniu insulinoterapii przy użyciu osobistej pompy insulinowej, jak dotąd nie obserwowano istotnych powikłań. W drugiej dziewczynki choroba ujawniła się w wieku siedmiu lat i nie była poprzedzona jawną infekcją. Wdrożono leczenie insuliną krótko działającą z dobrym skutkiem. Rodzice nie zdecydowali się na terapię z użyciem pompy insulinowej. U obojga dzieci stężenia hemoglobiny glikowanej HbA1c, świadczące o

stopniu wyrównania cukrzycy były prawidłowe. Dane dotyczące wzrostu przedstawiono w rozdziale: fenotyp. Nie obserwowano znaczącego wzrostowego skoku pokwitaniowego. U czterech pacjentów zostały wykonane testy dynamiczne wyrzutu hormonu wzrostu, ich wyniki były prawidłowe.

U większości badanych masa ciała była proporcjonalna do wzrostu. U 13 osób (17,57%) stwierdzono niedobór masy ciała. U trzech badanych (4,05%) zanotowano nieznaczną nadwagę. Wykonane krzywe obciążenia glukozą były prawidłowe.

Zestawiając dane 17 pacjentek powyżej 14 rż stwierdzono, że u 14 dziewcząt (82,35%) menarche pojawiło się między 13 a 15 rż, a u pozostałe trzy zaczęły miesiączkować powyżej 16 rż. U wszystkich dziewcząt rozwinęły się pierwszo- i drugorzędowe cechy płciowe, przy czym zwracały uwagę drobne piersi i skąpe owłosienie pachowe i łonowe. U ośmiu pacjentek (47,06% powyżej 14 rż) menstruacje występowały nieregularnie. Krwawienia miesięczne nie były obfite ale obserwowano natomiast wyraźnie zaznaczony zespół napięcia przedmiesiączkowego. W tych przypadkach u pięciu kobiet zastosowano doustną pochodną progesteronu – Orgametril, z dobrym skutkiem. Ponadto u dwóch pacjentek powyżej 30 rż uzyskano znaczącą poprawę po zastosowaniu Orgametrilu skojarzonego z niewielkimi dawkami leków moczopędnych. Badanie ginekologiczne z oceną ultrasonograficzną macicy i jajowodów przeprowadzono u ośmiu pacjentek (22,86%), nie stwierdzając nieprawidłowości budowy. U trzech pacjentek stwierdzono niedorozwój warg sromowych. U trzech kobiet rodzice zgodzili się na włączenie preparatów antykoncepcyjnych (Provera-Depot). Nie odnotowano przypadków zajścia w ciążę.

U niemal wszystkich (97,43%) chłopców stwierdzono po urodzeniu jedno lub obustronne wnetrostwo, wymagające u większości korekcy chirurgicznej. U dwóch chłopców (5,13%) stwierdzono w badaniu fizykalnym brak jednego jądra, co potwierdzono badaniem ultrasonograficznym jamy brzusznej. Niedorozwój narządów płciowych, w tym małe prącie i mosznę, stwierdzono u 29 chłopców i mężczyzn (74,36%). U wszystkich mężczyzn rozwinęło się owłosienie łonowe, a u dwóch, mimo ukończenia 18 roku życia nie stwierdzono mutacji. Nie odnotowano przypadków ojcostwa.

4.3.6. Zaburzenia hematologiczne i immunologiczne

W wielokrotnie wykonywanych badaniach morfologii krwi nie stwierdzono znaczących odchyśleń od normy poza przejściową trombocytopenią, którą ujawniono u pięciu kobiet (14,29%, $p=0,0455$), w trakcie lub bezpośrednio przebytej infekcji. Realizacja programu szczepień przebiegała w większości w sposób niezgodny z obligatoryjnym kalendarzem szczepień. Podstawowe szczepienia były odraczane, bądź realizowane nieregularnie i w sposób niepełny. U większości dzieci (68,92%) nie zastosowano szczepionki przeciw krztuścowi. Dorosłym pacjentom zalecano stosowanie szczepień przeciw grypie. Do zaleceń zastosowało się 10 osób (37,03%). Nie obserwowano znaczących odczynów poszczepiennych. Co prawda nie stwierdzono zwiększonego odsetka zachorowań na infekcje górnych dróg oddechowych, ale w przypadkach zachorowania, obserwowano tendencję do przedłużania się infekcji.

4.3.7. Niedosłuch i głuchota

Dane z wywiadu wskazują, że 37 osób (50%) przebyło zapalenia ucha środkowego, przy czym u 23 pacjentów (31,08%) incydenty miały charakter nawrotowy, zaś u 14 osób (18,92%) wystąpiły jednorazowo. Dane mogą być zaniżone ze względu na częsty brak jednoznacznych objawów klinicznych, przytłumionych przez wyższy próg bólu. Znaczny niepokój i brak współpracy wielokrotnie sprawiały, że obiektywne badanie słuchu wymagające krótkiego okresu uspokojenia dziecka było trudne do przeprowadzenia. Tym niemniej, udało się je wykonać przynajmniej jednorazowo u wszystkich pacjentów. U 43 badanych (63,24%) rozpoznano niedosłuch. Niedosłuch głęboki – powyżej 70 decybeli (dB), stwierdzono u 11 osób (14,86%), średniego stopnia – 30–70 dB u 21 (28,37%), lekki, poniżej 30 dB – u 11 osób (14,86%). Nie stwierdzono istotnej różnicy częstości występowania niedosłuchu między pacjentami płci żeńskiej i męskiej. W przypadku stwierdzenia niedosłuchu badanie uzupełniano tympanometrią. U sześciu osób (8,82%) niedosłuch wynikał z obecności wysięku w uchu środkowym. Wdrożono leczenie farmakologiczne, a u czterech pacjentów dodatkowo wykonano z dobrym efektem drenaż przewodów słuchowych zewnętrznych. U czterech osób z głębokim niedosłuchem (25%) podjęto próby zainstalowania protez słuchowych, które zakończyły się niepowodzeniem z powodu odrzucania sprzętu przez pacjenta.

Spśród 64 pacjentów powyżej czwartego rż umiarkowany bądź głęboki niedosłuch stwierdzono u 16 (48,48%) ze współistniejącym głębokim upośledzeniem rozwoju (n=33). U 33 osób (51,56%) stwierdzono całkowity brak rozwoju mowy, u 16 z nich (48,48%) rozpoznano umiarkowany bądź głęboki niedosłuch.

4.3.8. Wady narządu wzroku

U wszystkich pacjentów układ brwi był wyrazisty, u 64 z towarzyszącym synophrys (86,48%). Pędzelkowate brwi (ryc. 1A) były obecne u 48 pacjentów (64,9%). Jedno- i obustronne opadanie powiek obserwowano u 24 osób (32,43%; ryc. 14). U większości badanych rzęsy były długie, zawiązujące się ku górze. U 32 osób (43,24%) zaobserwowano nie opisywane wcześniej dwuwarstwowe ustawienie rzęs (distichiasis). W przeciwieństwie do klasycznej postaci distichiasis, drugi szereg rzęs nie był cieńszy, krótszy ani mniej pigmentowany. Drugi, węższy rząd rzęs wyrastał w okolicy gruczołów łez. Nieprawidłowy, podwójny układ rzęs prowadził do nawracających zapaleń spojówek, zapaleń rogówki, a nawet jej owrzodzeń. Obiektywizacja wad refrakcji była najczęściej możliwa po ukończeniu przez dziecko trzeciego rż, chociaż w badanej grupie krótkowzroczność stwierdzono już u czworga niemowląt. Obiektywne badanie wzroku z oceną tarczy nerwu wzrokowego i badaniem refrakcji wykonano u 56 pacjentów (75,68%). Wady refrakcji zidentyfikowano u 37 (66,07%): u 19 (33,92%) rozpoznano krótkowzroczność, u dziewięciu (16,07%) – dalekowzroczność, u kolejnych dziewięciu (16,07%) – astygmatyzm. U pięciu osób (8,92%) stwierdzono zez zbieżny obustronny. Oczopląs występował rzadko, u trzech pacjentów (5,35%) i miał tendencję przemijającą. Badanie dna oka uwidoczniało blade tarcze nerwu wzrokowego u dziewięciu osób (16,07%), przy czym w jednym przypadku wykonane badania potencjałów wzrokowych wskazywały na obustronny postępujący zanik nerwu wzrokowego. Zaćma wystąpiła u dwóch pacjentów (3,57%).

4.4. Zaburzenia neurologiczne i fenotyp zachowań

4.4.1. Zaburzenia neurologiczne

Dane dotyczące stanu neurologicznego noworodków z CdLS przedstawiono w rozdziale 4.1.1.3. U 39 osób (52,70%) stwierdzano zaburzenia napięcia mięśniowego, których najczęstszym wyrazem było jego wzmożenie, odnotowane u 32 badanych (82,05%). Objawy tetraparezy spastycznej stwierdzono u pięciu pacjentów (6,75%), u których test Apgar w pierwszych minutach wynosił 2–4 punkty, a wywiad wskazywał na niedotlenienie okołoporodowe.

Subiektywne obserwacje dokonywane przez rodziców i opiekunów wskazywały na wyższy niż w populacji próg bólowy. Z przeprowadzonych z rodzicami i personelem medycznym wywiadów oraz po uzyskaniu dokumentacji medycznej wynioskowano, że przynajmniej dwa przypadki zgonów wśród polskiej grupy pacjentów z CdLS mogły być spowodowane zbyt późną sygnalizacją przez dziecko bólu, wynikającego z objawów ze strony przewodu pokarmowego. Pacjenci ci nie zostali włączeni do bieżącej grupy badanej, tym nie mniej obserwacja wydaje się na tyle istotna że umieszczono ją w pracy. U 12 osób (16,21%) odnotowano incydenty drgawek w okresie niemowlęcym lub wczesnego dzieciństwa. Patologiczny zapis EEG zanotowano u 17 pacjentów (22,97%), przy czym nie znaleziono w nim charakterystycznych cech, dających podstawę do wyodrębnienia typu napadów występujących najczęściej. Tylko u dwóch pacjentów napady padaczkowe miały miejsce po raz pierwszy w okresie dojrzewania. Wszyscy pacjenci zareagowali dobrze na konwencjonalną monoterapię. Badania NMR, które wykonano u 37 pacjentów (50%) zwykle nie wykazywały nieprawidłowości w obrębie mózgowia, z wyjątkiem trzech przypadków zaburzeń mielinizacji okołokomorowej z lokalizacją typową dla niedotlenienia okołoporodowego.

4.4.2. Zaburzenia rozwoju i fenotyp zachowań

Wszyscy pacjenci demonstrowali upośledzenie rozwoju psychomotorycznego. Zgodnie z przyjętymi kryteriami (14,94) w analizowanej grupie zidentyfikowano osoby z głębokim, umiarkowanym i łagodnym stopieniem upośledzenia rozwoju u pacjentów powyżej czwartego rż (64 pacjentów). Głęboki stopień upośledzenia stwierdzono u 33 (51,56%), umiarkowany u 20 (31,25%), a łagodny u 11 (17,18%) pacjentów. Nie wykazano statystycznych różnic w zakresie stopnia upośledzenia rozwoju między pacjentami płci żeńskiej i męskiej.

Zaburzenia zachowania także oceniano powyżej czwartego rż. Stereotypie demonstrowało 49 osób (76,56%; 78,79% płci żeńskiej; 69,70% płci męskiej; NS), objawy agresji 30 (46,87%) badanych (43,40% płci żeńskiej; 47,48% płci męskiej; NS), zaś autoagresji 32 pacjentów (50,00%), statystycznie częściej u płci żeńskiej (54,38% płci żeńska, 30,30% płci męska $p=0,00046$). Autoagresja przejawiała się najczęściej: wyrzucaniem włosów, uderzaniem głową o podłogę, rozdrapywaniem podrażnionych wcześniejszej miejsc. Ponadto u 38 osób (59,38%; 65,63% płci żeńskiej 51,52% płci męskiej; NS) stwierdzano nadpobudliwość i zaburzenia koncentracji. Agresja i/lub autoagresja wielokrotnie miały podłoże organiczne. W badanej grupie występowała tendencja do redukcji nieprawidłowych zachowań po włączeniu terapii antyrefluksowej. Natomiast

nie zaobserwowano wyraźnego związku nieprawidłowych zachowań z np.: nawracającymi zapaleniami spojówek czy nawracającymi zapaleniami ucha środkowego lub zatok.

Typ zachowań określanych jako autystyczne stwierdzono u 38 z 64 pacjentów (59,48%; 59,38% płci żeńskiej; 53,13% płci męskiej; NS). Zaburzenia zachowania prezentowali wszyscy pacjenci którzy ukończyli 14 rż, niezależnie od płci. Dwudziestu dwóch z nich (78,57%) demonstrowało stereotypie, 15 (53,57%) agresję, 18 (64,28%) autoagresję. U 19 podopiecznych (67,85%) opiekunowie opisywali nadpobudliwość. U 16 osób (57,14%) typ zachowań określono jako autystyczny. Obserwacje opiekunów wskazywały, że zaburzenia zachowania nasilały się w okresie dojrzewania. U dorosłych pacjentek obserwowano ponadto nieuzasadnione napady złości i niepokoju, nie zawsze dające się wytłumaczyć okresem około menstruacyjnym czy refluksem żołądkowo-przełykowym. Obserwowano także, jak dorosłe kobiety poruszały się w sposób nieskoordynowany po pomieszczeniu nawet przez kilkadziesiąt minut, kilkakrotnie w trakcie dnia bez uchwytnej przyczyny. Rodzice i opiekunowie opisywali ponadto trudne do wytłumaczenia pogorszenia nastroju, niechęć do wykonywania podstawowych czynności, odmawianie jedzenia u kobiet między 21 a 24 rokiem życia. U 16 osób (57,14%) występowały zaburzenia snu przejawiające się trudnościami w zasypianiu i/lub wielokrotnym budzeniem się w trakcie nocy. Zdaniem opiekunów zaburzenia snu nasilały się z wiekiem, szczególnie u kobiet. Podejmowane próby włączenia preparatów melatoniny pozostawały bez wpływu na te zaburzenia, podobnie jak włączanie preparatów z grupy benzodiazepin.

4.5. Czynniki prognostyczne

Stwierdzono znamienne częstsze występowanie niskiej masy ciała u osób z klasyczną postacią CdLS niż u pacjentów z fenotypem łagodnymi ($p=0.002$). Im niższa masa urodzeniowa, tym wyższe było prawdopodobieństwo występowania zaburzeń ssania ($p=0.00889$). Nie stwierdzono znamiennego związku niskiej masy urodzeniowej i obecności wrodzonych wad narządowych: serca, nerek i wzroku. Niską masę urodzeniową istotnie częściej stwierdzano u osób ze znacznym niedosłuchem ($p=0.027$), głębokim upośledzeniem rozwoju ($p=0.009$) i brakiem rozwoju mowy ($p=0.003$).

Mikrosomię (wzrost poniżej 25 percentyla w siatkach percentylowych dla CdLS) stwierdzano istotnie częściej u osób z postacią klasyczną zespołu ($p=0.023$) i głębokim upośledzeniem rozwoju ($p=0.002$). Wzrost powyżej 75 percentyla odnotowano znamienne częściej u pacjentów z postacią łagodną zespołu (0,002) oraz u badanych z łagodnym upośledzeniem rozwoju ($p=0.0001$).

Wady ubytkowe kończyn górnych występowały istotnie częściej u osób z klasycznym typem zespołu ($p=0.007$). U pacjentów z redukcją kończyn górnych częściej stwierdzano mikrosomię ($p=0.027$). Stwierdzono także wprost proporcjonalny związek wad ubytkowych kończyn górnych z rozszczepem podniebienia ($p=0.0001$) i obecnością niedosłuchu ($p=0.002$). Wady ubytkowe kończyn górnych istotnie częściej demonstrowali pacjenci ze znacznym upośledzeniem rozwoju ($p=0.0024$) oraz brakiem mowy ($p=0.023$).

Refluks żołądkowo-przełykowy stwierdzano istotnie częściej u osób z klasycznym typem choroby ($p=0.00001$). Stwierdzono także znamienne skojarzenie refluksu żołądkowo-przełykowego i rozszczepu podniebienia ($p=0.0007$). Refluks żołądkowo-

przełykowy występował istotnie częściej u osób ze znacznym upośledzeniem rozwoju ($p=0,003$), obecnością stereotypii ($p=0,0008$), samookaleczeń ($p=0,001$) i zachowań autystycznych ($p=0,027$).

Tabela 3. Powiązanie wybranych cech fenotypowych CdLS p-poziom istotności
Table 3. Links between selected CdLS phenotype features p- significance

Lp. <i>No</i>	Niska masa urodzeniowa <i>Low birth weight</i>	Wady ubytkowe kończyn górnych <i>Upper limb defects</i>	Wzrost <25 prc dla CdLS. <i>Height <25 prc for CdLS</i>	Refluks żołądkowo-przełykowy <i>Gastro intestinal reflux</i>
Typ klasyczny choroby <i>Classic CdLS</i>	p=0,002*	0,007	0,023	0,00001
Wady ubytkowe kończyn górnych <i>Upper limb defects</i>	0,141		0,027	
Rozszczep podniebienia <i>Cleft palate</i>	0,054	0,0009	0,267	0,0006
Znaczny niedosłuch <i>Profound hypoacusis</i>	0,027	0,002		
Upośledzenie rozwoju znacznego stopnia <i>Severe retardation</i>	0,093	0,002	0,002	0,002
Brak mowy <i>Lack of speech</i>	0,059	0,023	0,923	0,805
Refluks żołądkowo-przełykowy <i>GER</i>	0,988	0,123		

*wartości $p<0,05$ zaznaczono grubszą czcionką

4.6. Analiza zgonów

W trakcie dziesięcioletniej obserwacji zmarło czworo chorych z analizowanej grupy (5,40%), w wieku: 1 roku, 8, 16 i 32 lat. Za przyczyny zgonu uznano: niedrożność jelitową z następową resekcją znacznego odcinka jelita i zapaleniem otrzewnej o piorunującym przebiegu (jeden pacjent), nagłe zatrzymanie krążenia w trakcie snu (nagła śmierć łóżeczkowa) – u dwóch pacjentów z obciążonym dodatkowo wywiadem okołoporodowym, zapalenie płuc powikłane ropniakami opłucnej w wyniku aspiracji treści żołądkowej (jedna pacjentka)

4.7. Wyniki badań cytogenetycznych i molekularnych

4.7.1. Analiza cytogenetyczna

U wszystkich 74 pacjentów przed wdrożeniem diagnostyki molekularnej wykonano badanie cytogenetyczne, które u 72 osób (97,29%) ujawniło prawidłowe kariotypy męskie i żeńskie. U dwojga pacjentów z późniejszym potwierdzeniem mutacji punktowej genu *NIPBL* stwierdzono dodatkowo aberracje chromosomowe: 46,XY,t(3; 5)(p13;q11) (pac. 39) oraz mozaikę 45,XO/46XX (pac. 3). W pierwszym przypadku w badaniu cytogenetycznym ojca dziecka stwierdzono zrównoważoną translokację obejmującą te same punkty pęknięć. Nie stwierdzono translokacji u obojga rodzeństwa. W drugim przypadku kariotypy rodziców były prawidłowe.

4.7.2. Analiza molekularna – mutacje punktowe genu *NIPBL* i *SMC1*

W grupie 74 pacjentów zidentyfikowano 40 (54%) mutacji punktowych w genie *NIPBL* (tab. 4). Najczęstszym typem mutacji były zmiany w sekwencji genu prowadzące do powstania skróconego produktu białkowego (*truncating mutation*), które stwierdzono u 20 pacjentów. Do grupy tej zaliczono 16 pacjentów z mutacjami prowadzącymi do przesunięcia ramki odczytu (*frameshift*) oraz czterech z mutacjami prowadzącymi do powstania przedwczesnego kodonu stop (*nonsense mutation*). Kolejnymi najczęściej występującymi mutacjami były zmiany reszty aminokwasowej (*missense mutation*) stwierdzone u 16 pacjentów. Najrzadszym typem były mutacje prowadzące do nieprawidłowego składania RNA (*splice-site mutation*), które wykryto u trzech pacjentów oraz delecję bez zmiany ramki odczytu (*inframe deletion*), którą stwierdzono w jednym przypadku.

W badanym materiale nie stwierdzono częstszego występowania żadnej z mutacji; również pod względem lokalizacji nie obserwowano tendencji do częstszego występowania w obrębie konkretnego fragmentu białka (*hot spot*) – stwierdzane zmiany znajdowały się na całej długości sekwencji kodującej genu *NIPBL*. Znaczna większość zmian miała charakter prywatny tzn. została po raz pierwszy opisana w badanym przypadku; jedynie kilka zmian było już wcześniej wykryte u pojedynczych pacjentów pochodzących z innych populacji (por. tab. 4). Szczegółowa analiza nowo odkrytych wariantów sekwencyjnych została przeprowadzona uprzednio w pracach (Kuźniacka i wsp. – 102, Yan i wsp. 214). W pracach tych wykazano ich efekt patogenny, na podstawie wyników analizy lokalizacji mutacji w obrębie poszczególnych domen białka delanginy jak również stopnia ewolucyjnej konserwacji danego fragmentu białka oraz analiz *in-silico* w oparciu o internetowe predyktory SIFT i PolyPhen2.

U pacjentów z mutacjami punktowymi, dla których istniała możliwość zbadania DNA rodziców wykazano, że mutacje miały charakter *de novo*.

Analiza molekularna pozostałych pacjentów (n=31), u których nie stwierdzono mutacji *NIPBL* nie wykryła mutacji *SMC1A*

4.7.3. Rearanżacje genomowe

U 34 pacjentów, u których nie wykazano mutacji *NIPBL* analizę molekularną uzupełniono badaniem MLPA. U trzech osób (8,82%) stwierdzono delecje obejmujące fragment lub cały allel *NIPBL* (rearanżacje genomowe) oraz fragmenty genów przyległych. U jednej pacjentki (nr 41) znaleziono 62,7 kb delecję obejmującą eksony 35-42 z punktami pęknięć: 37.076.861–37.139.520. Opis przypadku opublikowano [160]. U dwóch pacjentów zidentyfikowano utratę całego allelu (pacjenci 42 i 43), przy czym u jednego z nich 1,7 Mb delecja obejmowała gen *NIPBL* oraz przyległe geny: *SLC1A3*, *FLJ1323*, *NUP155*, *WDR70* i *GDNF* z punktami pęknięć: 36.487.985 – 38.154.159. U drugiego pacjenta 0,65Mb delecja, poza *NIPBL* obejmowała region *FLJ1323*, *NUP155* i częściowo *WDR70* z punktami pęknięć: 36.771.925–37.427.989.

Tabela 4. 43 różne mutacje *NIPBL* i rearanżacje zidentyfikowane u 43 niespokrewnionych polskich pacjentów

Table 4. 43 different *NIPBL* mutations and rearrangements identified in 43 unrelated Polish patients

Nr*	Inicjały	Lokalizacja mutacji w genie <i>NIPBL</i>	Wpływ na RNA lub produkt białkowy <i>Effect on mRNA/protein</i>	Typ mutacji	Ekson
No	Patients ID	<i>NIPBL mutation localisation</i>		<i>Type of mutation</i>	<i>Exon</i>
21	WK	c.209A>T	p.Asn70Ile	<i>Missense</i>	3
1	RC	c.269 delG	p.Gly90Valfs*31	<i>Frame shift</i>	4
2	KK 1.1	C415_416insTTAT	p.Ser139Phefs*13	<i>Frame shift</i>	5
22	SW	535 G>T	p.Ala179Ser	<i>Missense</i>	6
23	AI 1.2	c.737A>G	p.Asp246Gly	<i>Missense</i>	7
17	PS	c.1012_1016 del-CAGAG	p.Gln338X	<i>Nonsense</i>	7
24	TG	c.1051 C>A	p.Pro351Ser	<i>Missense</i>	9
25	MG	c.1071A>C	p.Lys357Asn	<i>Missense</i>	9
3	WR**4.1	c.1445_1448delGAG A ₂	p.Arg482Glu fs* 20	<i>Frame shift</i>	9
4	AB	c.2296delA	p.Arg766Gly fs*27	<i>Frame shift</i>	10
5	ML1.3	c2322_2323delAG,	p.Lys773Thr fs*2	<i>Frame shift</i>	10
6	PL	c.2485_2486dupTG	p.Glu829Val fs*19	<i>Frame shift</i>	10
26	NV	c.2603 G>A	p.Arg868Gln	<i>Missense</i>	10
7	MW1.4	c.2920_2921delAA	p.Lys974Glu fs*19	<i>Frame shift</i>	10
8	KL**	c.3060_3063 delA-GAG	p.Glu1021Thr fs*22	<i>Frame shift</i>	10
9	JCI.5	c.3525dupA	p.Glu1176Arg fs*10	<i>Frame shift</i>	13
27	NM	c.3619 G>A	p.Glu1207Lys	<i>Missense</i>	14
38	AO	3855+1 del G	p.Leu1257_His1285 del	<i>Splice-site</i>	16

Nr*	Inicjały	Lokalizacja mutacji w genie <i>NIPBL</i>	Wpływ na RNA lub produkt białko- wy <i>Effect on mRNA/protein</i>	Typ mutacji	Ekson
<i>No</i>	<i>Patients ID</i>	<i>NIPBL mutation localisation</i>		<i>Type of muta- tion</i>	<i>Exon</i>
28	AL	c.4015 T>C	p.Tyr1339His	<i>Missense</i>	17
29	WS	c.4306A>C,	p.Lys1436Gln	<i>Missense</i>	19
30	PG**	c.4321G>T;	p.(Phe1441Lysfs*3. Val1441Leu)	<i>Missense</i>	20
10	MD	c.4450 delC	p.Pro1484Serfs*137	<i>Frame shift</i>	21
31	PW	c.4873G>T	p.Val1625Phe	<i>Missense</i>	24
32	AK	c.4909A>C	p.Ile1637Leu	<i>Missense</i>	24
33	AD	c.5164 A>C	p.Asn1722His	<i>Missense</i>	26
18	<i>JK **1.6</i>	c.5167C>T	p.Arg1723*	<i>Nonsense</i>	26
11	HP	c.5207_5222del 16	p.Ser1736*	<i>Frame shift</i>	26
39	<i>JR **3.1</i>	c.5575-2delA	p.Asp1859_Lys1903 del	<i>Splice – site</i>	30
40	MG	c.5863-1G>C	p.Leu1955_Ala1990 del	<i>Splice -site</i>	32
12	MW	c.6409_6412delAAA C	p.Lys2137Glnfs*33	<i>Frame shift</i>	37
19	WC 1.7	c.6475G>T	p.Glu2159*	<i>Nonsense</i>	37
37	<i>AG** 1.8</i>	c.6653_6655delATA ,	p.Asn2218del	<i>In-frame</i>	39
13	AZ 1.9	c.6874dupT	p.His2292Serfs*48	<i>Frame shift</i>	40
34	PG**	c.6892 C>T	p.Arg2298Cys	<i>Missense</i>	40
35	WW	c.6935 G>T	p.Gly2312Val	<i>Missense</i>	40
20	AF 1.10	c.7096C>T	p.Gln2366*	<i>Nonsense</i>	42
36	TS	c.7297 G>A	p.Asp2433Asn	<i>Missense</i>	43
14	<i>KB**1.11</i>	c.7439_7440delAG	p.Arg2480Lysfs*5	<i>Frame shift</i>	44
15	JM 1.12	c.7559delA	p.Asn2520Ilefs*3	<i>Frame shift</i>	44
16	AW 1.13	c.7950 dupT	p.Th2651Tyrfs*10	<i>Frame shift</i>	46
41	AT 2.1	Del 35-47	63 kb delecja punkty pęknięć: 37,076,861– 37,139,520		35-47
42	MP	Jeden allel	1.7Mb delecja punkty pęknięć: 36,487,985 – 38,154,159		allel
43	KK	Cały allel	0.65Mb delecja, punkty pęknięć: 36,771,925 – 37,427,989		allel

* Numeracja zgodna z danymi z tab. 2 / *initials according to table 2*

** mutacje opisane uprzednio u pacjentów z innych grup etnicznych /*mutation previously described in another ethnic groups*

Kursywą oznaczono mutacje polskich pacjentów opublikowane we wcześniejszych pracach (1.1–1.13 Yan i wsp. [214], 2.1 – Ratajska i wsp. [160], 3.1; 4.1 – Wierzba i wsp. [209, 210], Braunholz[23] / *Italics – mutation previously described in Polish patients (1.1–1.13 Yan et.al. [214] , 2.1 – Ratajska et.al. [160], 3.1; 4.1– Wierzba et.al. [209, 210], Braunholz[23].*

Tabela 5. Zestawienie polimorfizmów genu *NIPBL*

Table 5. *NIPBL gene polymorphisms comparison*

Numerzy pacjentów <i>Patients ID</i>	Lokalizacja i rodzaj polimorfizmu <i>NIPBL</i> <i>Localisation and type of the NIPBL polymorphism</i>	Ekson/Intron <i>Exon/Intron</i>	Liczba stwierdzonych polimorfizmów <i>NIPBL</i> <i>Number of NIPBL polymorphisms</i>
56*	c.535 G>A+G	Ekson 6	1
44	c.610 +101A>G	Intron 6	1
32, 36, 48, 51, 55	c. 2021 A>G	Ekson10	5
9, 33, 39, 48	c.3575-17A>G	Intron13	4
49	c.4560 +77A>G	Intron 21	1
39	c.6764-35C>G	Intron 39	1
9	c.6955 -9 delT	Intron 40	1
13	c.7410+81delCTT	Intron 43	1

* numeracja zgodna z zastosowaną w tabelach przedstawiających dane kliniczne

Kursywą zaznaczono numerację pacjentów, których dane dotyczące polimorfizmów *NIPBL* wcześniej opublikowano [214] (*Italics – mutation previously described in Polish patients [214]*).

Tabela 6. Mutacje „ciche” zidentyfikowane u pacjentów z CdLS

Table 6. *“Silent” mutations identified in CdLS patients*

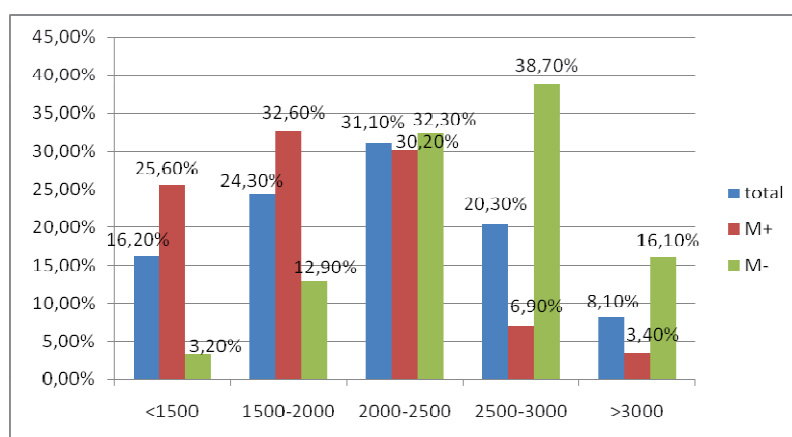
Lp.* <i>Nr</i>	Inicjały <i>Pa-tients</i>	Lokalizacja mutacji w genie <i>NIPBL</i> <i>NIPBL mutation localisation</i>	Wpływ na RNA lub produkt białkowy <i>Effect on mR-NA/protein</i>	Typ mutacji <i>Type of mutation</i>	Ekson <i>Exon</i>
69	RS	c.300G>A	p.100 =	<i>Silent</i>	4
70	MS	c.2955A>G	p.985 =	<i>Silent</i>	10
71	LI	c.3845T>C	p.1281=	<i>Silent</i>	16
72	ŻG	c.3924G>A	p.1308 =	<i>Silent</i>	17
73	PS	c.5052A>C	p.1684=	<i>Silent</i>	26
74	SG	c.7831G>A	p.2610 =	<i>Silent</i>	45

* numeracja zgodna z danymi z tab. 2 / *Initials according to table 2.*

4.8. Analiza kliniczna uwzględniająca korelacje genotyp-fenotyp

Bazując na wynikach badań molekularnych dokonano porównawczej analizy częstości występowania poszczególnych cech klinicznych pacjentów M+ i M-.

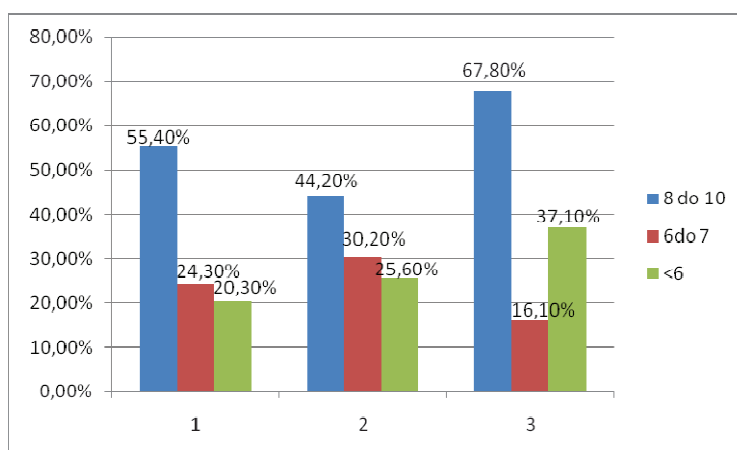
Dane procentowe w nawiasach odnoszą się do 43 pacjentów z potwierdzoną mutacją genu *NIPBL* (M+; 24 osoby płci żeńskiej; 19 – płęć męska; NS) i 31 pacjentów bez mutacji (M-; 11 osób płci żeńskiej, 20 – płęć męska; NS; $p=0,0674$). Na ryc. 7 porównano masę urodzeniową u noworodków M+ i M-. Największa liczba noworodków urodziła się z masą 2000–2500 g.



Ryc. 15. Masa urodzeniowa noworodków M+ i M-.

Fig. 15. Birth weight in M+ and M- neonates.

Ryc. 16 przedstawia porównanie punktacji Apgar u noworodków M+ i M-. Większość noworodków sklasyfikowano między 8–10 punktów, odsetek noworodków z punktacją Apgar, poniżej 6 pkt. był nieznacznie większy w grupie M+.



Ryc. 16. Test Apgar noworodków M+ i M-.

Fig. 16. Apgar score in M+ and M-.

Zestawienie porównawcze wybranych cech klinicznych u pacjentów M+ i M- zawarto w tab. 7.

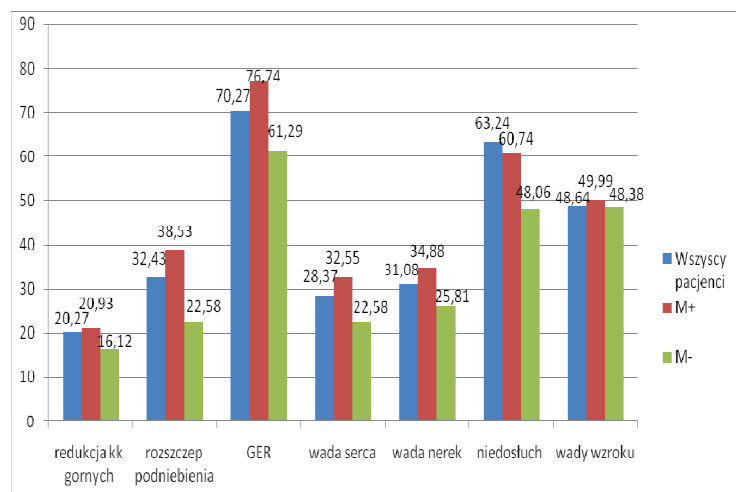
Tabela 7. Zestawienie cech klinicznych pacjentów M+ i M-
Table 7. The comparison of clinical features of M+ and M- patients

Cechy kliniczne <i>Clinical feature</i>	Wszyscy pacjenci <i>All patients n=74</i>	Pacjenci M+ <i>M+ patients n=43</i>	Pacjenci M- <i>M- patients n=31</i>	Porównanie mutacji M+ do M- <i>M+ versus M- p – poziom istotności p – significance</i>
Fenotyp klasyczny <i>Classic phenotype</i>	63,51%	83,72%	35,48%	0,0259
Fenotyp łagodny <i>Mild phenotype</i>	36,48%	16,28%	74,07%	0,0242
Niepowodzenia rozrodu <i>Unsuccessful procreation</i>	39,18%	37,21%	41,94%	NS
Wiek matek w chwili porodu (lata) <i>Maternal age (years)</i>	27,35 (±5,12)	26,14 (±4,66)	29,03 (±5,24)	0,0161
Tydzień ciąży <i>Gestation (weeks)</i>	37,09 (±2,83)	36,16 (±2,96)	38,39 (±2,03)	0,0007
Poród <37 hbd <i>Labour <37 hbd</i>	29,73%	41,86%	12,90%	0,0155
Test Apgar w 1 min (punkty) <i>Apgar test in 1 min (points)</i>	7,22 (±2,60)	6,47(±2,58)	8,26(±2,23)	0,0030
Masa urodzeniowa (g) <i>Birth weight (g)</i>	2123,08 (±634,72)	1780 (±553)	2401,29 (±534)	0,0001
Długość urodzeniowa (cm) <i>Birth length (cm)</i>	46,65 (±6,83)	44,42 (±5,6)	49,74 (±4,6)	0,0001
Obwód głowy urodzeniowy <i>Head circumference (cm)</i>	29,30(±3,43)	28,53 (±2,05)	30,35 (±4,51)	0,0243
Hipertonia noworodkowa <i>Hypertony in neonate period</i>	87,88%	95,35%	61,29%	0,0298
Bezdech u noworodka <i>Apneic attacks in neonate period</i>	35,11%	46,51%	19,35%	0,0255
Zaburzenia ssania <i>Swallowing problems in the neonate period</i>	82,51%	88,37%	74,19%	NS

Cechy kliniczne <i>Clinical feature</i>	Wszyscy pacjenci <i>All patients n=74</i>	Pacjenci M+ <i>M+ patients n=43</i>	Pacjenci M- <i>M- patients n=31</i>	Porównanie mutacji M+ do M- <i>M+ versus M- p – poziom istotności p – significance</i>
Długość <25 prc dla CdLS <i>Postnatal length <25th^h centile for CdLS</i>	10,81%	18,60%	0	0,0176
Długość 25–75 prc dla CdLS <i>Postnatal length 25–75th centile for CdLS</i>	67,57%,	66,12%	70,97%	NS
Długość >75 prc dla CdLS <i>Postnatal length >75th centile for CdLS</i>	20,27%	16,28%	29,03	NS
Znaczna redukcja kończyn górnych <i>Severe limb reduction</i>	20,27%	20,93%	16,12%	NS
Umiarkowana redukcja kończyn <i>Moderate limb reduction</i>	5,41%	6,98%	3,23%	NS
Brak redukcji kończyn <i>No limb reduction</i>	74,32%	72,09%	77,42%	NS
Małogłowie <i>Microcephaly</i>	78,38%	95,35%	54,84%	0,0004
Niska linia owłosienia <i>Low hairline</i>	64,85%	76,74%	48,42%	0,0148
Pędzelkowate brwi <i>Pencilled eyebrows</i>	82,43%	76,74%	48,39%	0,0148
Szeroko rozstawione nozdrza <i>Wide nostrils</i>	75,68%	86,05%	61,29%	0,0263
Nisko osadzone uszy <i>Low set ears</i>	82,43%	74,42%	100%	0,0018
Rozszczep podniebienia <i>Cleft palate</i>	32,43%	39,53%	22,58%	NS
Klinodaktylia V palca dłoni <i>V-th finger clinodactyly</i>	52,70	62,88%	38,70%	0,0411
Refluks żołądkowo-przełykowy <i>Gastro-esophageal reflux</i>	70,27%	76,74%	61,29%	NS

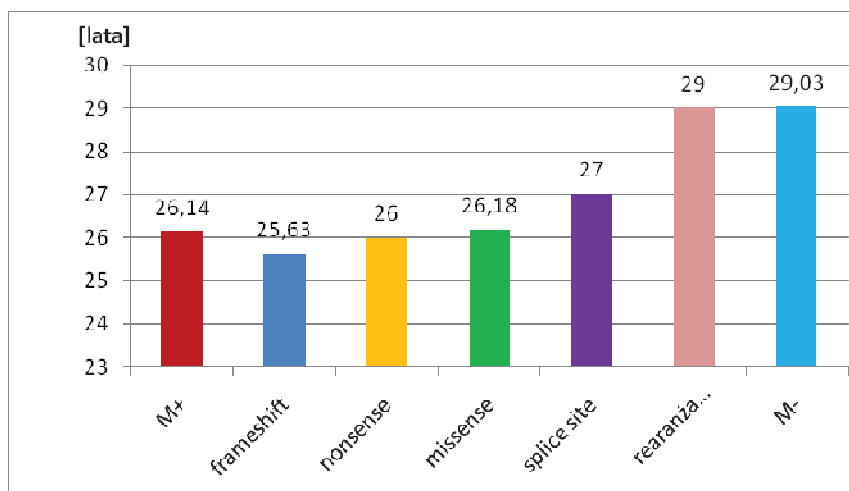
Cechy kliniczne <i>Clinical feature</i>	Wszyscy pacjenci <i>All patients n=74</i>	Pacjenci M+ <i>M+ patients n=43</i>	Pacjenci M- <i>M- patients n=31</i>	Porównanie mutacji M+ do M- <i>M+ versus M- p – poziom istotności p – significance</i>
Wada serca <i>Heart defect</i>	28,37%	32,55%	22,58%	NS
Zaburzenia nefrourologiczne <i>Nephro-urological abnormalities</i>	31,08%	34,88%	25,81%	NS
Wnętrostwo (chłopcy) <i>Cryptorchidism (boys)</i>	97,43%	94,73%	100%	NS
Niedosłuch <i>Hypoacusis</i>	63,24%	60,74%	48,06%	NS
Wady wzroku <i>Ocular defects</i>	48,64%	49,99%	48,38%	NS
Głębokie opóźnienie rozwoju (>4 lat) <i>Profound developmental delay (>4 years)</i>	50%	64,71%	33,33%;	0,0242
Umiarkowane i upośledzenie rozwoju (>4 lat) <i>Moderate developmental delay (>4 lat)</i>	31,25%	26,47%	40,00%	NS
Brak mowy (>4 lat) <i>Lack of speech</i>	51,56%	58,82%	43,33%	NS

Rycina 17 przedstawia procentowy rozkład występowania wad rozwojowych u pacjentów M+ i M-.



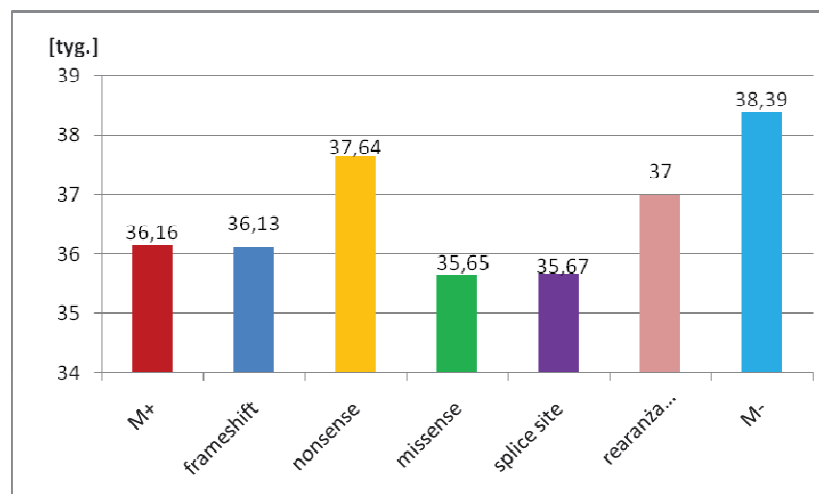
Ryc. 17. Porównanie częstości występowania wad rozwojowych u pacjentów M+ i M-.
Fig. 17. Comparison of the proportion of congenital malformations in M+ and M- patients.

Analizowano następnie wpływ rodzaju mutacji *NIPBL* na fenotyp pacjentów. Ryc. 18 przedstawia średni wiek matek noworodków z CdLS. Noworodki z mutacjami *frame-shift* i *nonsense* były urodzone przez najmłodsze matki.



Ryc. 18. Średni wiek matek noworodków z CdLS.
Fig. 18. Mean mother age in CdLS neonates.

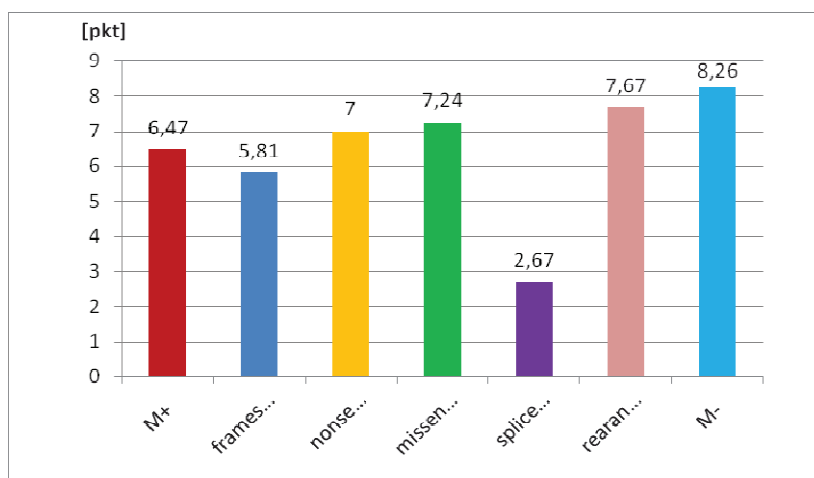
Rycina 19. przedstawia średni czas trwania ciąży. Był on najkrótszy u pacjentów z mutacjami *missense* i *splice-site*



Ryc. 19. Średni czas trwania ciąży (tyg.).

Fig. 19. Mean Hbd (weeks).

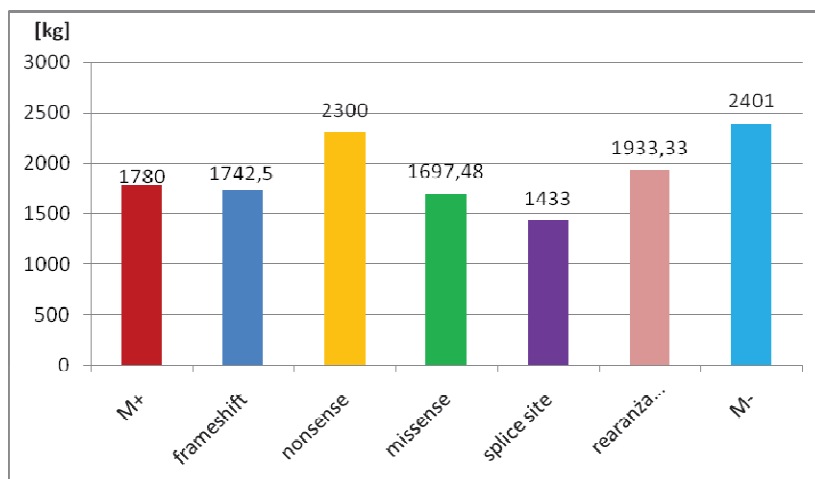
Rycina 20 przedstawia średni test Apgar. Najniższe wartości zanotowano w grupie pacjentów z mutacją *splice-site*. W tej grupie znajdowali się pacjenci z porodów przedwczesnych, z niską masą urodzeniową.



Ryc. 20. Punktacja testu Apgar u pacjentów z CdLS.

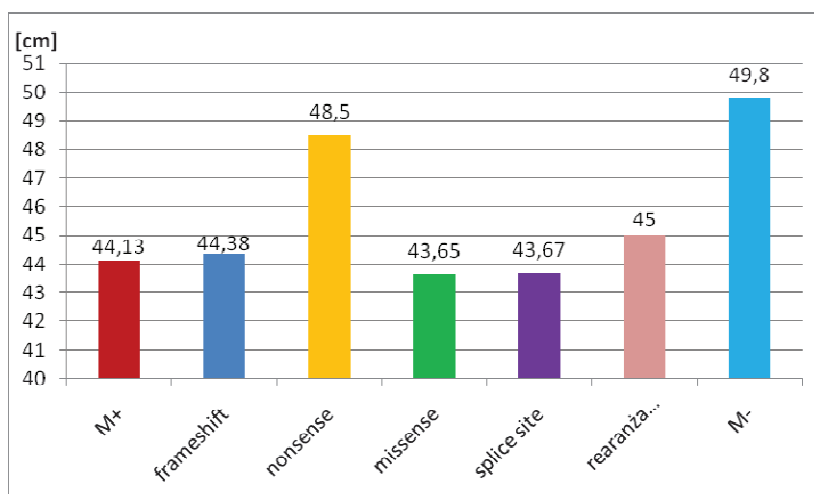
Fig. 20. Mean Apgar score in CdLS patients.

Trzy kolejne ryciny – 21, 22 i 23 przedstawiają: masę ciała, długość ciała i obwód głowy po urodzeniu u noworodków z CdLS. Niskie wartości masy, długości i obwodu głowy u pacjentów z mutacją *splice-site* wynikały prawdopodobnie z wcześniactwa. Zwracają uwagę niskie wartości urodzeniowej masy, długości i obwodu głowy pacjentów z mutacjami *frameshift* i *missense*.



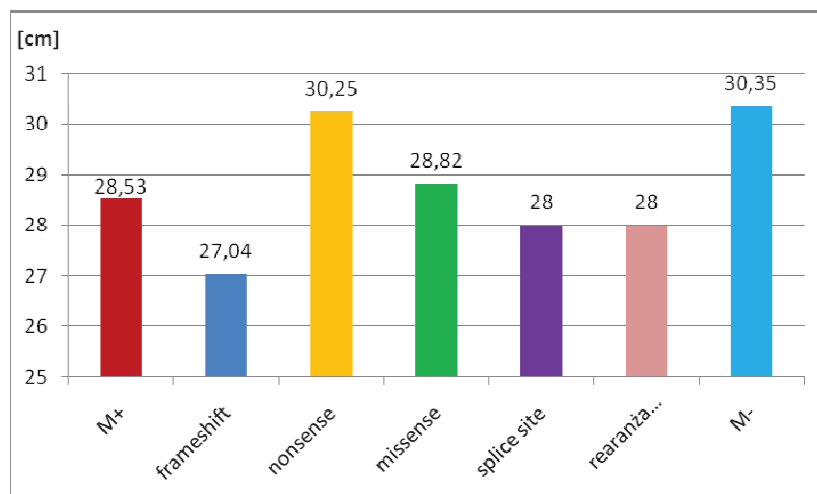
Ryc. 21. Średnia masa urodzeniowa-norodków z CdLS.

Fig. 21. Mean birth weight in CdLS.



Ryc. 22. Średnia długość urodzeniowa u noworodków z CdLS.

Fig. 22. Mean birth length in CdLS.



Ryc. 23. Średni obwód głowy urodzeniowy noworodków z CdLS.

Fig. 23. Mean birth head circumference in CdLS.

W tabeli 8 zestawiono cechy kliniczne dla których uzyskano statystycznie istotne różnice między pacjentami z mutacjami skracającymi produkt białkowy *frame shift* i *nonsense* oraz mutacjami *missense* i *splice-site*.

Tabela 8. Zestawienie cech klinicznych różnicujących pacjentów z mutacjami *frame shift* i *nonsense* (FS) oraz *missense* i *splice-site* (SS)

Table 8. The comparison of different clinical features of frame shift and nonsense mutations with missense and splice-site mutations

Cechy kliniczne <i>Clinical features</i>	Pacjenci z mutacjami FS <i>FS mutations patients</i> <i>n=20</i>	Pacjenci z mutacjami SS <i>SS mutations patients</i> <i>n=19</i>	Porównanie mutacji Fs i SS FS vs SS p-poziom istotność <i>p-significance</i>
Długość >75 prc dla CdLS <i>Postnatal length >75th centile for CdLS</i>	5,00%	30,00%	0,0436
Dysplazja stawów biodrowych <i>Hip dysplasia</i>	30,00%	0%	0,0241
Skolioza <i>Scoliosis</i>	60,00%	30,00%	0,0339*
Nisko osadzone uszy <i>Low set ears</i>	90,00%	55,00%	0,0133
Refluks żołądkowo-przłykowy <i>Gastro-esophageal reflux</i>	95,00%	55,00%	0,0033
Niedosłuch <i>Hypoacusis</i> >70 db	35%	5%	0,0436
Brak mowy (>4 lat) <i>Speech absent</i>	73,33%	36,36%	0,0470*

*test χ^2

Następnie w tab. 9 zestawiono różnicujące dane kliniczne pacjentów z mutacjami *missense* i M-.

Tabela 9. Porównawcze zestawienie cech klinicznych pacjentów z mutacjami *missense* i M-

Table 9. The comparison of clinical features of CdLS with *missense* mutations and M- patients

Cechy kliniczne <i>Clinical features</i>	Pacjenci z mutacją <i>missense</i> <i>Missense mutation patients</i> <i>n=16</i>	Pacjenci M- <i>M- patients</i> <i>n=31</i>	Porównanie mutacji <i>missense</i> do M- <i>Missense versus M-</i> <i>p – poziom istotności</i> <i>p– significance</i>
Wiek matek w chwili porodu(lata) <i>Maternal age (years)</i>	26,18 (±4,38)	29,03 (±5,24)	0,0489
Tydzień ciąży <i>Gestation (weeks)</i>	35,65(±3,39)	38,39 (±2,03).	0.0236
Masa urodzeniowa (g) <i>Birth weight (g)</i>	1697,56(±550,16)	2401,29(±534)	0,0001
Długość urodzeniowa (cm) <i>Birth lenght (cm)</i>	43,65(±6,39)	49,74 (±4,6)	0,0003
Obwód głowy urodzeniowy <i>Head circumference (cm)</i>	28,82(±2.09)	30,35(±4,51)	0,0120

Zestawiono również różnicujące dane kliniczne pacjentów z mutacjami *frame shift* i *nonsense* i pacjentów M- (tab. 10).

Tabela 10. Porównanie cech klinicznych pacjentów z mutacjami *frame shift* i *nonsense*(FS) względem pacjentów M-

Table 10. Comparison of clinical features of CdLS patients with frame shift and nonsense(FS) mutations vs. M- patients

Cechy kliniczne <i>Clinical features</i>	Pacjenci z mutacjami FS <i>FS mutation patients</i> <i>n=20</i>	Pacjenci M- <i>M- patients</i> <i>n=31</i>	Porównanie mutacji FS do M-, <i>FS versus M-</i> <i>p – poziom istotności</i> <i>p– significance</i>
Wiek matek w chwili porodu(lata) <i>Maternal age (years)</i>	25,70 (±4,96)	29,03 (±5,24)	0,0234
Tydzień ciąży <i>Gestation (weeks)</i>	36,45 (±2,69)	38,39 (±2,03)	0,0236
Wcześnieństwo <i>Praematurity</i>	29,73%	12,90%	0,0155
Test Apgar w 1 min (punkty) <i>Apgar test 1 min (points)</i>	6,05 (±2,40)	8,26 (±2,23)	0,0042
Masa urodzeniowa (g) <i>Birth weight (g)</i>	1854 (±509,12)	2401,29 (±534)	0,0103
Długość urodzeniowa (cm) <i>Birth lenght (cm)</i>	45,20±4,66	49,74±4, 6	0,0031
Obwód głowy urodzeniowy <i>Head circumference (cm)</i>	28,40 (±2,08)	30.35(±4,51)	0,0057
Hipertonia noworodkowa <i>Hypertony in neonate period</i>	87,88%	61,29%	0,0298
Bezdech u noworodka <i>Apneic attacks in neonate period</i>	35,11%	19,35%;	0,0255
Długość <25 prc dlaCdLS <i>Postnatal length <25th centile for CdLS</i>	10,81%	0,00%	0,0176
Niska linia owłosienia <i>Low hair line</i>	64,85%	48,42%	0,0148
Szeroko rozstawione nozdrza <i>Wide nostrils</i>	75,68%	61,29%	0,0263
Głębokie opóźnienie rozwoju (>4 lat) <i>Profound developmental delay (>4 years)</i>	50%	33,33%;	0,0242

Zgodnie z przyjętymi kryteriami [92], analizę rozwoju psychomotorycznego przeprowadzono w grupie 64 pacjentów, którzy ukończyli 4 rż – 34 M+ (79,06%) i 30 M- (96,77%). Zdolność do samodzielnego siadania osiągnęło 61 badanych (91,18% pacjentów M+ i 100% pacjentów M-; NS), przy czym istotnie później tę zdolność osiągnęli pacjenci M+ (22,50 ($\pm 10,21$) miesięcy) niż M- (17,00 ($\pm 11,19$) miesiące; $p=0,0423$). Umiejętność chodzenia opanowało natomiast istotnie więcej pacjentów M- (67,64% pacjentów M+; 93,33% pacjentów M-; $p=0,0298$). Pacjenci M- również istotnie szybciej osiągnęli umiejętność chodzenia (22,97 ($\pm 13,10$) miesięcy; 34,81 ($\pm 20,97$) miesięcy, $p=0,0370$). Zdolność do wymawiania słów posiadało 11 osób M+ (32,35%) i 20 osób M- (66,66%); $p=0,0242$), a pierwsze słowa odnotowano w wieku 23,57 ($\pm 12,43$) miesięcy u osób M+ i 25,31 ($\pm 17,90$) miesięcy u M- (NS). Istotnie więcej pacjentów M- (33,33%), niż osób M+ (8,82%; $p=0,0313$) potrafiło posługiwać się prostymi zdaniami. Nie ustalono średniego czasu wymawiania pierwszych zdań.

Mutacje *silent*

Pacjenci z punktowymi mutacjami *NIPBL* typu *silent* ($n=6$) zostali zakwalifikowani do grupy M-. Poniżej wyodrębniono tę grupę i porównano z pacjentami M+ ($n=43$).

Matki pacjentów z mutacjami *silent* w chwili porodu były istotnie starsze niż matki pacjentów M+ (odpowiednio 32,83 ($\pm 4,83$); 28,14 ($\pm 3,11$) lat; $p=0,0021$). Średni czas trwania ciąży matek noworodków z mutacjami *silent* był istotnie dłuższy niż M+ (39,67 ($\pm 2,05$), 36,16 ($\pm 2,96$) tygodni; $p=0,0085$). U osób z mutacjami *silent* stwierdzono również statystycznie większą urodzeniową masę ciała (2583,33 ($\pm 581,43$) g-*silent* vs. 1780,00 ($\pm 552,98$) g – M+; $p=0,0022$), większą długość (49,50 ($\pm 2,57$) vs. 44,42 ($\pm 5,60$) cm; $p=0,037$), i obwód głowy (31,50 ($\pm 1,80$), 28,53 ($\pm 2,05$); $p=0,0019$). Analiza fenotypu dysmorfologicznego wykazała istotnie rzadsze występowanie tzw. pędzelkowatych brwi u osób z mutacją *silent* niż M+ (16,67% vs. 76,74%; $p=0,0077$). U wszystkich pacjentów z mutacją *silent* występowało spłaszczenie rynienki nosowej i niskie osadzenie uszu. Uwzględniając osoby od 4 rż wykazano istotnie niższy odsetek pacjentów z głębokim upośledzeniem w grupie z mutacją *silent* niż wśród pacjentów M+ (odp.: 16,67% *silent* i 64,71% M+; $p=0,0282$).

4.9. Fenotyp klasyczny i łagodny

Fenotyp klasyczny CdLS (*classic*) stwierdzono u 47 pacjentów (63,50%) w tym 27 płci żeńskiej (57,45%) oraz u wszystkich osób z mutacjami *frameshift* i *nonsense*, jednego pacjenta z mutacją *splice-site*, u 12 z mutacjami typu *missense* i u wszystkich pacjentów z utratą kilku eksonów lub allelu. Ponadto fenotyp klasyczny rozpoznano u 11 osób (35,48%) M-, w tym u dwóch z mutacją typu *silent*.

Dwudziestu siedmiu pacjentów (36,50%) w tym ośmiu płci żeńskiej (29,66%) spełniało kryteria łagodnej postaci zespołu (mild). Fenotyp łagodny stwierdzono u czterech osób z mutacjami typu *missense*, dwóch z mutacjami *splice-site*, jednego pacjenta z mutacją *in-frame* i u 20 pacjentów M- (64,51%), w tym czterech z mutacjami typu *silent*. U osób z klasyczną postacią zespołu odnotowano statystyczną przewagę płci męskiej ($p=0,0296$).

Średni wiek postawienia diagnozy wynosił u osób z postacią klasyczną 3,2 miesiące dla osób z postacią łagodną 32,2 miesiące. Rozpoznanie postawiono w okresie noworodkowym u 33 pacjentów z postacią klasyczną (70,21%) i ośmiu z postacią łagodną (29,63%). W tab. 11 zestawiono porównawczo najistotniejsze dane kliniczne pacjentów z fenotypem klasycznym i łagodnym. Przebieg ciąży oceniono jako niepowikłany u 76,61% pacjentów z postacią klasyczną i u 92,50% z postacią łagodną (NS). Czas ukończenia ciąży był znamienne krótszy w grupie z postacią klasyczną. Średnia masa, wzrost oraz obwód głowy urodzeniowy noworodków z postacią klasyczną były znacząco niższe niż w grupie z fenotypem łagodnym. Test Apgar w pierwszej minucie był znamienne niższy wśród noworodków z postacią klasyczną niż łagodną. Wzmożenie napięcia mięśniowego obserwowano znamienne częściej u pacjentów z postacią klasyczną. Wzrost poniżej 25 percentyla dla CdLS odnotowano wyłącznie u 8 pacjentów z klasyczną postacią CdLS. Znacząco mniejszy odsetek pacjentów z postacią klasyczną choroby osiągnęło wzrost przekraczający 75 percentyl dla CdLS. Wyłącznie czworo pacjentów z postacią łagodną (14,81%) osiągnęło wzrost powyżej 3 percentyla dla norm populacyjnych. U wszystkich osób z postacią klasyczną oraz u 44,44% z postacią łagodną stwierdzono małowłowie. U osób z postacią klasyczną istotnie częściej stwierdzano: pędzelkowate brwi oraz rozszczep podniebienia.

Tabela 11. Zestawienie cech klinicznych pacjentów CdLS z fenotypem klasycznym (K) i łagodnym (Ł)

Table 11. The comparison of clinical features of classic(C) and mild(M)CdLS patients

Cechy kliniczne <i>Clinical features</i>	Wszyscy pacjenci <i>All patients</i> <i>n=74</i>	Pacjenci K <i>C patients</i> <i>n=47</i>	Pacjenci Ł <i>M patients</i> <i>n=37</i>	Porównanie pacjentów K i Ł <i>C versus M</i> <i>p – poziom istotności</i> <i>p – significance</i>
Niepowodzenia rozrodu <i>Unsuccessful procreation</i>	39,18%	38,30%	40,74%	NS
Tydzień ciąży <i>Gestation (weeks)</i>	37,09 (±2,83)	36,57 (±3,07)	38,00 (±2,07)	0,0377
Poród <37 hbd <i>Labour <37 hbd</i>	29,73%	29,78%	29,82%	NS0,05
Test Apgar w 1 min (punkty) <i>Apgar test in 1 min (points)</i>	7,22 (±2,60)	6,73 (±2,61)	8,07(±2,34)	0,0313
Masa urodzeniowa (g) <i>Birth weight (g)</i>	2123,08 (±634,72)	1857g (±569)	2360g (±588)	0,0001
Długość urodzeniowa (cm) <i>Birth length (cm)</i>	46,65 (±6,83)	45,19 (±6,18)	49,19 (±4,06)	<0,0002
Obwód głowy urodzeniowy <i>Head circumference (cm)</i>	29,30(±3,43)	28,72 (±2,32)	30,30 (±4,62)	0,005

Cechy kliniczne <i>Clinical features</i>	Wszyscy pacjenci <i>All patients</i> <i>n=74</i>	Pacjenci K <i>C patients</i> <i>n=47</i>	Pacjenci Ł <i>M patients</i> <i>n=37</i>	Porównanie pacjentów K i Ł <i>C versus M</i> <i>p – poziom istotności</i> <i>p – significance</i>
Hipertonia noworodkowa <i>Hypertony in neonate period</i>	87,88%	91,34%	62,86%	0,0046
Zaburzenia ssania <i>Swallowing problems in the neonate period</i>	82,51%	89,36%	70,37%	NS
Długość <25 prc dla CdLS <i>Postnatal length <25ththcentile for CdLS</i>	10,81%	17,02%	0	0,0238
Długość >75 prc dla CdLS <i>Postnatal length >75th centile for CdLS</i>	20,27%	8,51%	44,44%	0,0007
Małogłowie <i>Microcephaly</i>	78,38%	100%	44,00%	<0,0001
Pędzelkowate brwi <i>Pencilled eyebrows</i>	82,43%	74,47%	48,15%	0,0418
Rozszczep podniebienia <i>Cleft palate</i>	32,43%	44,68%	11,11%	0,0040
Klinodaktylia V palca dłoni <i>V-th finger clinodactyly</i>	52,70	62,88%	38,70%	0,0411
Refluks żołądkowo-przełykowy <i>Gastro-esophageal reflux</i>	70,27%	87,23%	40,74%	<0,0001
Znaczna redukcja kończyn górnych <i>Severe limb reduction</i>	20,27%	29,79%	3,70%	0,0069
Niedosłuch głęboki <i>Profound hypoacusis</i>	63,24%	68,09%	44,74%	0,0286
Brak mowy (>4 lat) <i>Lack of speech</i>	51,56%	77,79%	20,09%	0,0002

W trakcie wieloletniej obserwacji pacjentów z łagodną postacią zespołu wyodrębniono kilka jego wariantów fenotypowych. Obserwowano pacjentów, u których ewidentnym cechom dysmorficznym obecnym od urodzenia, a ustępującym w miarę rozwoju odpowiadał względnie dobry rozwój psychomotoryczny (przykłady – pacjenci: 22, 38, 40) (ryc. 24 AiB). Inną grupę stanowili pacjenci, u których dysmorfia była bardziej widoczna po ukończeniu trzeciego rż (przykłady – pacjenci 60, 74). Odrębną grupę stanowili dorośli demonstrujący słabo wyrażone cechy CdLS, u których w okresie dziecięcym rozpoznano fenotyp klasyczny zespołu.



Ryc. 24A. Ewolucja fenotypu u pacjenta z mutacją *NIPBL* typu *missense*: zaznaczone dyskretnie cechy dysmorfii twarzy – synophrys, długie rzęsy, drobne usta, nisko osadzone uszy.
Fig. 24A Phenotype evolution in the patient with the *NIPBL* missense mutation: slight dysmorphic features – synophrys, thin lips, low set ears.



Ryc. 24B. Ten sam pacjent w wieku 3 lat – z czasem mniej wyrażone cechy zespołu.
Fig. 24B The same patient as a 3 years old boy. See the milder phenotype.

Trzydziestu siedmiu pacjentów z postacią klasyczną i 27 z postacią łagodną osiągnęło czwarty rż. Umiejętność siadania osiągnęły 34 osoby (91,89%) z postacią klasyczną i 100% pacjentów z postacią łagodną; NS) Umiejętność chodzenia opanowało 24 (64,86%) pacjentów z postacią klasyczną i wszyscy pacjenci z postacią łagodną ($p=0,0298$). Ośmiu pacjentów z postacią klasyczną (21,62%) oraz 23 pacjentów z postacią łagodną (85,18%) wymawiało pojedyncze słowa ($p<0,0001$). Proste zdania wymawiało wyłącznie 13 (48,14) pacjentów z postacią łagodną. Tabela 11 przedstawia porównanie osiągnięcia przez pacjentów poszczególnych umiejętności: siadania, chodzenia, wymawiania prostych słów.

Tabela 12. Rozwój psychomotoryczny i rozwój mowy u pacjentów z postacią klasyczną (K) i łagodną (Ł) CdLS, którzy ukończyli 4 rok życia

Table 12. Psychomotor and speech development in classic and mild CdLS patients older than 4 years

Rozwój psychomotoryczny i rozwój mowy Psychomotor and speech development	Pacjenci K <i>Classic patients</i> $n=37$	Pacjenci Ł <i>Mild patients</i> $n=27$	Porównanie pacjentów K i Ł <i>Classic versus milds.</i> p – poziom istotności p – significance
Zdolność do siadania (miesiące) <i>Ability to sit (months)</i>	24,73 ($\pm 11,51$)	12,89 ($\pm 4,85$)	$p<0,0001$
Zdolność do chodzenia (miesiące) <i>Ability to walk (months)</i>	31,31 ($\pm 28,85$)	25,85 ($\pm 9,23$)	NS
Zdolność do używania pojedynczych słów (miesiące) <i>Ability to speak simple words (months)</i>	62,50 ($\pm 44,96$)	30,80 ($\pm 21,21$)	$p<0,0001$

Refluks żołądkowo przełykowy (GER) rozpoznano znacząco częściej u pacjentów z postacią klasyczną. Ponadto, osoby z postacią klasyczną CdLS demonstrowali istotnie częściej nietypowe objawy GER (48,94% vs. 18,52% – postać łagodna; $p=0,0126$). Wady ubytkowe kończyn górnych oraz głęboki niedosłuch stwierdzano znamienne częściej u pacjentów z postacią klasyczną. Spośród anomalii kostnych zaobserwowano znacząco częstsze występowanie u pacjentów z postacią klasyczną: hipoplazji kości nadgarstka i śródreżca ($p=0,0430$), stóp końsko-szpotaowych ($p=0,02378$) i syndaktylii palców stóp ($p=0,0411$). Nie stwierdzono natomiast znamiennej różnicy w występowaniu wad serca, nerek i dróg moczowych oraz wzroku. Istotnie większy odsetek pacjentów z postacią klasyczną nie potrafił mówić. U pacjentów z postacią klasyczną znamienne częściej obserwowano stereotypie (92,31% vs 48,15%; $p=0,0001$), autoagresję (68,42% vs 45,66%; $p=0,0267$) i zachowania autystyczne (71,05% vs 29,63%; $p=0,0012$).

4.10. Szczególne warianty fenotypu CdLS

4.10.1. Współistnienie aberracji chromosomowej i mutacji genu NIPBL

Fenotyp pacjentki mos 45,X/46XX przedstawiono na ryc. 9B oraz w tab. 13.

Tabela 13. Zestawienie cech klinicznych zespołu Turnera, CdLS i pacjenta nr 3

Table 13. Comparison of clinical features of Turner syndrome, Cornelia de Lange syndrome and present case

Cechy kliniczne <i>Clinical features</i>	Zespół Turnera <i>Turner Syndrome [158,171]</i>	CdLS	Pacjent nr 3 <i>Patient Nr 3</i>
Częstość występowania <i>Frequency</i>	1: 2000 dziewczynek <i>1 in 2000 live-born female</i>	1: 30000–1: 100000 <i>1: 30000–1: 100000 live born</i>	–
Opóźnienie rozwoju <i>Developmental delay</i>	Zwykle normalna inteligencja <i>Usually normal intelligence</i>	Opóźnienie rozwoju <i>Developmental delay</i>	Opóźnienie rozwoju <i>Developmental delay</i>
Parametry urodzeniowe <i>Birth parameters</i>	Zwykle w normie <i>Usually normal</i>	Obniżone <i>Small for gestational age</i>	Obniżone <i>Small for gestational age</i>
Obwód głowy <i>Birth head circumference</i>	Prawidłowy <i>Normal</i>	Małogłowie <i>Microcephaly</i>	Małogłowie <i>Microcephaly</i>
Wzrost <i>Growth</i>	Niskorosłość <i>Short stature</i>	Niskorosłość <i>Short stature</i>	Niskorosłość <i>Short stature</i>
Czaszka <i>Skull</i>	Sredniomiarowa <i>Normal</i>	Brachycefalia <i>Brachycephaly</i>	Brachycefalia <i>Brachycephaly</i>
Uszy <i>Ear</i>	Nawracające zapalenia uszu, rotacja uszu do tyłu <i>Otitis media recurrent. posteriorly rotated</i>	Nawracające zapalenia ucha, rotacja uszu do tyłu <i>Otitis media recurrent posteriorly angulated</i>	Nawracające zapalenia uszu, rotacja uszu do tyłu <i>Posteriorly angulated</i>
Oczy <i>Eyes</i>	Opadanie powiek, zez, zaćma <i>Ptosis, strabismus, cataracta</i>	Pędzelkowate brwi, synophrys, długie rzęsy, ptoza „Pencilled” eyebrows. brow hypertrichosis synophrys, long eyelashes, ptosis	Pędzelkowate brwi, synophrys, długie rzęsy, jaskra, opadanie powiek <i>Pencilled brows synophrys, long eye-lashes glaucoma, ptosis</i>
Podniebienie <i>Palate</i>	Podniebienie gotyckie <i>High arched palate.</i>	Podniebienie gotyckie, Rozszczep podniebienia <i>High arched palate cleft palate</i>	Podniebienie gotyckie <i>High arched palate</i>

Cechy kliniczne <i>Clinical features</i>	Zespół Turnera <i>Turner Syndrome [158,171]</i>	CdLS	Pacjent nr 3 <i>Patient Nr 3</i>
Szyja <i>Neck</i>	Niska linia owłosienia, szyja pletwiasta <i>Low posterior hairline short, webbed neck</i>	Niska linia owłosienia <i>Low posterior hairline, short, webbed neck</i>	Niska linia owłosienia, Szyja pletwiasta <i>Low posterior hairline short, webbed neck</i>
Serce <i>Heart</i>	CoA, VSD	ASD, VSD	VSD, SVPS
Skóra i paznokcie <i>Skin and nails</i>	Przejściowe obrzęki stóp, hipoplastyczne paznokcie <i>Transient teet lymphoedema with residual puffiness of the hands and feet, hypoplastic nails</i>	Nadmierne owłosienie <i>Hypertrichosis</i>	Przejściowe Obrzęki stóp, hipoplastyczne paznokcie. Nadmierne owłosienie <i>Transient feet oedema, hypoplastic nails, hypertrichosis</i>
Przewód pokarmowy <i>Gastrointestinal tract</i>	Zaburzenia ssania, krwawienia z powodu nieprawidłowości naczyń <i>Swallowing disorders in neonatal period GI bleeding due to intestinal vascular malformations</i>	Zaburzenia ssania, refluks żołądkowo-przłykowy <i>Swallowing disorders in neonatal period, GOR</i>	Zaburzenia ssania, refluks żołądkowo-przłykowy <i>Swallowing disorders, GOR</i>
Układ kostny <i>Skeletal system</i>	Koślawość łokci, skrócenie IV i V kości śródreżca, dysplazja stawów biodrowych, wady kolan <i>Cubitus vulgus, short fourth and fifth metacarpals and metatarsals. hip dyslocation, knee anomalies</i>	Drobne dłonie i stopy, redukcja kończyn górnych, ograniczenie ruchomości stawu łokciowego, skrócenie IV i V kości śródreżca, klinodaktylia V palca, dysplazja stawów biodrowych <i>Small hands and feet upprt limb reduction limited elbow extenxion metacarpal and metatarsal shortening Vth finger clinodactyly syndactyly proximally set thumbs hip dyslocation</i>	Drobne dłonie i stopy, ograniczenie ruchomości stawu łokciowego, klinodaktylia palca V, dysplazja stawu biodrowego <i>Small hands and feet, limited elbow extension, Vth finger clinodactyly, hip dyslocation</i>
Sluch <i>Hearing</i>	Niedosłuch <i>Hypoacusis</i>	Niedosłuch <i>Hypoacusis</i>	Niedosłuch <i>Hypoacusis</i>

Cechy kliniczne <i>Clinical features</i>	Zespół Turnera <i>Turner Syndrome [158,171]</i>	CdLS	Pacjent nr 3 <i>Patient Nr 3</i>
Zachowanie i mowa <i>Behaviour and speech</i>	Nieznaczne zaburzenia mowy. <i>Minimal speech delay</i>	Nadaktywność, zachowania autystyczne, opóźnienie rozwoju mowy, <i>Hyperactivity autistic behaviour speech delay</i>	Brak mowy <i>Speech absent.</i>

4.10.2. Rearanżacje genomowe

Obraz kliniczny trzech pacjentek z rearanżacjami genomowymi przedstawiono w tab. 14. Wszystkie demonstrowały fenotyp klasyczny. Stwierdzono typową dla okresu noworodkowego: mikrosomię, zaburzenia ssania oraz hipertonię. U wszystkich stwierdzano: niedobór wzrostu, charakterystyczne, typowe dla CdLS cechy dysmorfii twarzy, u dwóch rozszczep podniebienia. U żadnej z pacjentek nie stwierdzono wad ubytkowych kończyn, natomiast u wszystkich skrócenie kości śródreżca i klinodaktylię V palca. Wady serca obserwowane u dwóch nie miały istotnego znaczenia hemodynamicznego. Hipoplazję nerek z brakiem prawidłowego zróżnicowania korowo-rdzeniowego stwierdzono we wszystkich przypadkach, jednak nie zanotowano dotąd biochemicznych cech niewydolności nerek. Rozwój dzieci był znacząco opóźniony, żadna nie mówi, porozumiewają się wyłącznie za pomocą gestów.

Tabela 14. Zestawienie cech klinicznych badanych pacjentów z dużymi aranżacjami genu *NIPBL*
Table 14. The comparison of clinical features of presented CdLS patients with large rearrangements in *NIPBL* gene.

Cechy kliniczne <i>Clinical data</i>	Pacjent nr 41 <i>Patient 41</i>	Pacjent nr 42 <i>Patient 42</i>	Pacjent nr 43 <i>Patient 43</i>
Płeć <i>Gender</i>	Żeńska	Żeńska	Żeńska
Wiek badania <i>Age of clinical evaluation (months)</i>	14 lat	2,5 roku	2 lata
Ciąża <i>Pregnancy</i>	Prawidłowa <i>Normal</i>	Prawidłowa <i>Normal</i>	Prawidłowa <i>Normal</i>
Tydzień ciąży <i>Gestation (weeks)</i>	38	38	35
Masa urodzeniowa (g) <i>Birth weight (g)</i>	1900	2100	1800
Obwód głowy urodzeniowy <i>Birth head circumference (cm)</i>	27	30	27
Hipertonia noworodkowa <i>Hypertony in neonate period</i>	+	+	+

Cechy kliniczne <i>Clinical data</i>	Pacjent nr 41 <i>Patient 41</i>	Pacjent nr 42 <i>Patient 42</i>	Pacjent nr 43 <i>Patient 43</i>
Zaburzenia ssania w okresie noworodkowym <i>Swallowing problems in neonate period</i>	+	+	+
Wzrost <3 prc <i>Postnatal length <3th centile</i>	+	+	+
Małogłowie <i>Microcephaly</i>	+	+	+
Rozszczep podniebienia <i>Cleft palate</i>	-	+	+
Skrócenie kości śródreżca i klinodaktylia V palca <i>Metacarpal shortening and 5th finger clinodactyly</i>	+	+	+
Wada serca <i>Heart malformation</i>	TI		ASD nieistotny <i>ASD disapeared</i>
Refluks żołądkowo-przłykowy <i>Gastro-esophageal reflux</i>	+	+	+
Zaburzenia nefro urologiczne <i>Nephro-urological abnormalities</i>	+	+	+
Niedosłuch <i>Hypoacusis</i>	-	+	+
Wada serca <i>Heart malformation</i>	TI	-	ASD nieistotne <i>ASD insignificant</i>

5. DYSKUSJA

W ostatnich latach znacząco wzrosło zainteresowanie grupą genów kodujących białka kompleksu kohezyny. Udowodniono, że układ białek kohezyny wywiera istotny wpływ na prawidłową segregację chromosomów, stabilizację DNA w odpowiedzi na czynniki uszkodzające, regulację procesu transkrypcji oraz ekspresję genów w okresie interfazy [6, 20, 27, 42, 83, 108, 131, 135, 162, 218]. Kluczowa rola genów kodujących białka kompleksu kohezyny w rozwoju człowieka jest zatem bezsporna. Wiadomo, że mutacje genów kodujących poszczególne składowe kompleksu kohezyny powodują określone zespoły genetyczne (m.in.: CdLS, zespół Roberts, zespół ATRX) oraz są odpowiedzialne za powstawanie niektórych nowotworów [58, 108, 131, 183, 200, 201]. Udowodniono że mutacje trzech genów kodujących białka kompleksu kohezyny – *NIPBL*, *SMC1* i *SMC3* odpowiadają za fenotyp CdLS, przy czym mutacje pierwszego z nich, *NIPBL* stwierdzono w 25-60% przypadków tego zespołu [16, 17, 59, 92, 154, 185, 214]. U wszystkich opisanych dotąd pacjentów z mutacjami *NIPBL* fenotyp CdLS uwarunkowany był heterozygotycznymi mutacjami tego genu. Brak opisu przypadków homozygotycznych pozwala przypuszczać, że są one letalne dla zarodków bądź embryonów we wczesnym etapie organogenezy, co potwierdzono w badaniach na zwierzętach [89, 133, 166].

Niezwykła różnorodność i zmienność objawów klinicznych, obecność wielonarządowych wad, upośledzenie rozwoju i specyficzny fenotyp zachowań wCdLS wynikami nie znalazł jak dotąd pełnego wytłumaczenia etiopatogenetycznego. Sugerowana jest znacznie bardziej złożona heterogenność zespołu niż dotąd przypuszczano. Podjęto zatem próbę nie tylko przedstawienia obrazu klinicznego zespołu, ale znalezienia korelacji genotyp-fenotyp.

Rozpoznawalność zespołu w różnych krajach, nawet zbliżonych do siebie standardem życia i tradycją cywilizacyjną jest często diametralnie odmienna, na co niebagatelny wpływ ma nadal zbyt słabo rozpowszechniona wiedza pozwalająca na rozpoznanie CdLS i zróżnicowane uwarunkowania organizacyjne systemu ochrony zdrowia w różnych krajach, w tym odmiennie modele systemowej opieki nad osobami z wrodzonymi chorobami rzadkimi. Jedynie stosunkowo u niewielkiego odsetka osób z CdLS wykonane są kompleksowe badania diagnostyczne, w tym diagnostykę molekularną. Szczegółowe dane większości pacjentów zawarte w rejestrach nie były jak dotąd uwzględnione w opracowaniach naukowych. Jedną z przyczyn jedynie częściowego wykorzystania teoretycznie dostępnych danych są trudności w zorganizowaniu wielospecjalistycznych badań.

Przeprowadzenie kompleksowych badań nie było możliwe bez zorganizowania wielopoziomowych badań w skali danego kraju. Jak dotąd taki zwarty system diagnostyki, ale także opieki nad pacjentem z CdLS udało się zorganizować w nielicznych krajach Europy (m.in. Włochy, Hiszpania, Portugalia, Szwajcaria) oraz w USA i Kanadzie. Trudności wynikały z między innymi z decentralizacji ośrodków badawczo-leczniczych, braku zwartych rejestrów, braku współpracy z grupami wsparcia.

W latach 2001–2003 zbudowano, w oparciu o współpracę ze Stowarzyszeniem Cornelia de Lange-Polska polski model współdziałania. Sukces przedsięwzięcia nie byłby możliwy bez zaangażowania się ośrodka akademickiego. Otworzyło to możliwości współpracy międzynarodowej jak również pozwoliło na wielospecjalistyczną opiekę nad pacjentem. Wyspecjalizowane szpitale oraz poradnie, jak również lekarze POZ na tere-

nie całego kraju są w stałym kontakcie z ośrodkiem akademickim, uzyskując wszelkie informacje na temat choroby oraz indywidualnego postępowania wobec pacjenta. Sprawdzony przez lata system być może mógłby być modelem działania dla innych chorób rzadkich,

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań cytogenetycznych i molekularnych w zestawieniu z obrazem klinicznym 74 osób z terenu Polski z rozpoznaniem klasycznej i łagodnej postaci zespołu Cornelia de Lange. Dane kliniczne dotyczą 40 pacjentów u których znaleziono mutacje punktowe genu *NIPBL* (w tym 80% nie opisywanych wcześniej), trzech pacjentów z dużymi rearanżacjami genu *NIPBL* i 31 pacjentów u których nie potwierdzono obecności mutacji w tym genie. Zestawienie zostało oparte na szczegółowej analizie klinicznej, popartej badaniami obrazowymi i wynikami badań laboratoryjnych. U większości starszych pacjentów obserwacje obejmowały okres 11 lat, co pozwoliło na prześledzenie zmian fenotypu zachodzących wraz z wiekiem. Poniższe opracowanie jest trzecie na świecie po amerykańskim [82, 92] i włoskim [185] pod względem liczby prezentowanych pacjentów. Pierwsze dane odnoszące się do polskich pacjentów, u których rozpoznano zespół CdLS przedstawiono wcześniej we fragmentarycznych opracowaniach [97, 141, 207, 208, 209, 214], a w 2006 roku [214] (Yan i wsp) opublikowano zestawienie zbiorcze obejmujące 28 osób. Ponadto, profil mutacji w genie *NIPBL* w populacji polskiej był przedmiotem opracowania Kuzniackiej i wsp.[101, 102]. Uzupełnione dane kliniczne tych pacjentów zawarto także w niniejszym opracowaniu.

5.1. Okres pre- i perinatalny

Dotychczasowe dane wskazują na autosomalny dominujący (*NIPBL*, *SMC3*) lub sprzężony w płcią (*SMC1*, *HDAC8*) typ dziedziczenia się tego zespołu [36, 37, 132, 196]. W nielicznych przypadkach udowodniono mozaikowość germinálną [36, 59, 99, 137, 205]. U niemal wszystkich opisanych w pracy pacjentów mutacje miały charakter *de novo*. Brak jest „efektu założyciela” jaki obserwowany jest w wielu chorobach genetycznych. U niektórych pacjentów z potwierdzoną mutacją *NIPBL*, a także u części pacjentów z rozpoznaniem CdLS, u których nie wykazano obecności mutacji *NIPBL* lub *SMC1A*, fenotyp jednego z rodziców zawierał cechy typowe dla łagodnej postaci CdLS, przy czym w badaniach molekularnych nie wykazano cech mutacji u tych rodziców. Obserwacje własne są zgodne z kazuistycznymi opisami pacjentów z fenotypem CdLS, gdzie u rodziców stwierdzano łagodny fenotyp CdLS, a dotychczasowa diagnostyka molekularna nie ujawniła mutacji. [7, 12, 17, 40, 168]. Sugerowałoby to transmisję pokoleniową zależną od niezidentyfikowanego dotąd czynnika.

Możliwość transmisji pokoleniowej sprzężonej z płcią wykazano na przykładzie genów *SMC1* i *HDAC8*, których mutacje odpowiedzialne za nieliczne przypadki CdLS zlokalizowane są w chromosomie X. U heterozygotycznych osób płci żeńskiej stwierdzono łagodny fenotyp zespołu [37, 132].

W niektórych zespołach genetycznych, w tym aberracjach chromosomowych, udowodniono związek częstości ich występowania z wiekiem rodziców, zwłaszcza matek. Zależność została potwierdzona w zespole Downa czy Edwardsa [86, 193]. Średni wiek matek noworodków z CdLS wynosił $27,35 \pm 5,12$ lat i był niższy od populacyjnego wieku matek w Polsce (według danych GUS z 2010 roku 29,13 lat). Średni wiek matek badanych noworodków z CdLS był również niższy od opublikowanego przez

EUROCAT (European Surveillance of Congenital Anomalies; $28,7 \pm 4,7$ lat) i Jacksona i wsp. (28 lat) [7, 82]. Martinez-Frias i wsp. [118] zaobserwowali zjawisko relatywnie niskiego wieku ojców noworodków z CdLS ($27,2 \pm 3,7$), czego nie potwierdzono w przeprowadzonych badaniach własnych ($29,7 \pm 4,73$ lat). Dane EUROCAT oraz Jacksona i wsp. (odpowiednio $31,0 \pm 5,0$ lat i 31 lat) [7, 82] dotyczące średniego wieku ojców noworodków z CdLS są z kolei nieco wyższe niż przedstawione dane własne. W zestawieniu Jacksona i wsp. [82] czterech z 310 ojców w chwili porodu przekroczyło 45 rż. W publikowanym materiale wiek najstarszej matki wynosił 40 lat, dwóch ojców przekroczyło 45 lat w chwili porodu noworodka z CdLS. Podsumowując – wydaje się, że wiek rodziców nie odgrywa istotnego znaczenia w patogenezie CdLS. Zwrócono uwagę na znaczący, wynoszący prawie 40% odsetek samoistnych poronień (czasem kilkukrotnych), jak i porodów martwych wśród matek osób z CdLS. Jak dotąd nie opublikowano innych zestawień odnoszących się do wcześniejszych powikłań ciążowo – porodowych u osób z CdLS, co nie pozwoliło na porównanie powyższego spostrzeżenia. Należy podkreślić, że częstość samoistnych poronień w grupie badanej była znacząco wyższa od występujących w populacji ogólnej (8-20%) U większości badanych matek wywiad dotyczący chorób przewlekłych mogących predysponować do poronień był negatywny, co jest zgodne z raportami innych autorów [7, 82]. W wywiadzie u matek nie odnotowano istotnych schorzeń u matek które mogłyby mieć wpływ na przebieg ciąży, z wyjątkiem padaczki stwierdzonej u jednej z matek. Jedna ciąża pochodziła z zapłodnienia *in vitro*, poprzedzonego stymulacją hormonalną – u dziecka pacjentki z typowym obrazem CdLS stwierdzono mutację typu *silent*.

W ostatnich latach wzrosła liczba publikacji dotyczących sugerowanych kryteriów prenatalnego rozpoznania CdLS [3, 33, 35, 76, 147, 148, 188], ale nie udało się zidentyfikować jednoznacznego markera zespołu we wczesnym okresie ciąży. Szczególnie zwracano uwagę na zwiększoną przezierność karkową (NT) obserwowaną tylko u 46–70% badanych w pierwszym tryestrze [35, 76, 148, 198]. W praktyce więc tego parametru nie można traktować jako pewnego kryterium prenatalnej diagnozy. Sygnalizowano również znaczące obniżenie osoczowego stężenia białka PAPP-A u ciężarnych matek płodów z CdLS (ang. *Pregnancy-Associated Plasma Protein A*) [3, 33, 35, 206], jednak nie dotyczyło to wszystkich ciężarnych [93, 148, 155]. Tylko u dwóch pacjentów z badanej grupy wykonano badania prenatalne, w obu stwierdzając zarówno obniżone wartości PAPP-A jak i nieprawidłową przezierność karkową. W jednym z nich ciąża zakończyła się urodzeniem dziecka ze współistnieniem CdLS i mozaikowego zespołu Turnera, gdzie nieprawidłowa przezierność karkowa jest regułą. Znacznie bardziej uzasadnione jest wysunięcie podejrzenia CdLS w oparciu o prenatalne badania ultrasonograficzne. Hipotrofię wewnątrzmaciczną rozpoznawano u 58–68% płodów [7, 33, 35, 90]. Na podstawie dotychczasowych wyników ultrasonograficznych badań prenatalnych można przypuszczać, że opóźnienie wzrastania rozpoczyna się od około 20 tygodnia ciąży [22, 90]. Do typowych cech widocznych w badaniach prenatalnych USG zaliczono: małą głowę, przepuklinę przeponową, wady narządowe, w tym w szczególności wady ubytkowe kończyn górnych (m.in. jedno lub obustronne niedorozwoje bądź ubytki kości promieniowej i łokciowej, oligodaktylię) [82, 87, 198]. Poza wadami ubytkowymi kończyn górnych typowymi malformacjami były: skrócenie kciuka i kości śródreżca, klino-daktylia V palca i kościostrost promieniowo-łokciowy [22, 87, 102, 148]. Wady kończyn dolnych, głównie stopy końsko – szpotawe były obecne u 40% badanych płodów [35, 148, 198]. Znajomość cech morfologicznych dostępnych w diagnostyce ultrasonograficznej kontrastuje z niewielkim odsetkiem rozpoznania CdLS w badaniach prenatal-

nych, np. u Barisic i wsp. [7] – u 32% płodów. W metaanalizie Clark i wsp. [35] obejmującej 53 pacjentów CdLS, u których wykonano badanie prenatalne, jedynie u 13 (24,50 %) wysunięto sugestię CdLS. W prezentowanej polskiej grupie pacjentów badania ultrasonograficzne płodu wykonano u 54 kobiet (73%), przy czym u 30 (55,56%) uwidoczniiono hipotrofię płodu, a u trzech płodów (5,56%), poza hipotrofią ujawniono dodatkowo wady kończyn górnych. Zwraca uwagę fakt, że pomimo zidentyfikowania wykładników zespołu w części wykonanych badań prenatalnych, w żadnym z badań nie wysunięto sugestii rozpoznania CdLS.

Incydenty krwawienia w pierwszym trymestrze, wielowodzie lub małowodzie, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca ciężarnych występowały w badanej grupie w 19% ciąży, przy czym, w pięciu przypadkach wysunięto sugestię działania konkretnego czynnika teratogennego w ciąży (promieniowanie rtg, alkohol), który mógł w istotnym stopniu zakłócić rozwój płodu i spowodować zaburzenie fenotypu. U czterech pacjentów ze współistnieniem płodowego zespołu alkoholowego (FAS) zaznaczone były typowe cechy FAS, dominował jednak wyraźnie fenotyp CdLS. Ujawniony odsetek powikłań ciążowych jest niższy niż w jedynych opublikowanych danych Jacksona i wsp. [82], gdzie powikłania w okresie ciąży stwierdzono aż u 35% ciężarnych.

Średni czas trwania ciąży wynosił 37,09 ($\pm 2,83$) tygodni. Znaczący odsetek noworodków (29,73%) pochodził z porodów przedwczesnych. Czas trwania ciąży był statystycznie krótszy u dziewczynek, także odsetek porodów przedwczesnych był wśród nich istotnie wyższy. W świetle dostępnych danych interpretacja tej obserwacji nie jest oczywista. Nie można wykluczyć, że chłopcy z CdLS z porodów wcześniaczych giną częściej w okresie okołoporodowym, bez postawienia rozpoznania CdLS. Przy braku wiarygodnych liczbowo danych z badań prenatalnych, nie można w chwili obecnej określić, czy płeć płodu ma wpływ na tempo rozwoju płodu CdLS i na ujawnienie wad letalnych we wczesnym okresie ciąży. W danych opublikowanych przez badaczy włoskich [141], uwzględniających 101-noworodków z CdLS średni czas trwania ciąży wynosił około 38 tygodni, przy czym w raporcie nie podano liczby porodów przedwczesnych. Wyniki własne są podobne do zestawień opublikowanych przez Jacksona i wsp. [82], obejmujących 310 pacjentów amerykańskich z CdLS, w którym odsetek porodów przedwczesnych był wysoki i wynosił 31%. Analogicznie do grupy polskiej, bezpośrednią przyczynę większości porodów przedwczesnych stanowiło samoistne przedwczesne rozpoczęcie akcji porodowej, a nie wcześniejsze rozwiązanie porodu podyktowane wahaniami tętna płodu, sugerującymi niedotlenienie wewnątrzmaciczne. U połowy matek wcześniaków w wywiadzie zanotowano wcześniejsze niepowodzenia ciążowe, co sugerowałoby że przedwczesna akcja porodowa mogła być wynikiem niewydolności szyjki macicy lub zaburzeń hormonalnych, bez związku z CdLS. Stan większości wcześniaków po urodzeniu oceniono jako średni (średnia w skali Apgar wyniosła 6,3 punktu), tylko dwoje z nich wymagało po urodzeniu statystycznie częstsze niż wśród całej opisanej grupy, występowanie niedosłuchu (w urodzeniu przedłużonej wentylacji). Analiza grupy wcześniaków z CdLS (68%) wskazywała, że odsetek poszczególnych wad narządowych, osiąganie poszczególnych etapów rozwoju oraz stopień upośledzenia nie wykazywał statystycznych różnic w porównaniu do grupy urodzonej o czasie.

Doświadczenia na noworodkach mysich heterozygot *NIPBL*(+) [89] ujawniły znaczny odsetek występowania zaburzeń oddychania w okresie okołoporodowym (późniejsze podjęcie pierwszego oddechu, długotrwale utrzymująca się nieregularność oddechu), co przyczyniało się bezpośrednio do wysokiej śmiertelności okołoporodowej. W badanej grupie średnia wartość testu Apgar w pierwszej minucie wynosiła 7,2 punktów,

choć większość noworodków kwalifikowano jako 8–10 pkt. Odsetek noworodków z zaburzeniami oddechu w okresie okołoporodowym był niski i większość z nich nie wymagała oddechu wspomaganego, nawet w grupie wcześniaków. Krótkotrwałe incydenty zaburzeń periodyki oddechu, czy bezdechów miały charakter przemijający i nie wymagały intensywnego postępowania. Podobne obserwacje przedstawili Jackson i wsp. i Selicorni i wsp. [82, 185]. Rozbieżności w częstości występowania zaburzeń oddychania w modelu zwierzęcym mutacji *NIPBL*(+) i obserwacjami noworodków CdLS mogą wynikać z odmiennych uwarunkowań gatunkowych, w tym odmienną dynamikę przystosowania układu oddechowego do warunków poporodowych. Z drugiej strony, rzeczywista częstość występowania krytycznych zaburzeń oddychania może być u noworodków z CdLS znacznie większa od dotychczas opisywanej. Nie można wykluczyć, że znaczna część noworodków CdLS z zagrażającymi życiu zaburzeniami oddechu w okresie okołoporodowym ginęła bez postawienia właściwego rozpoznania. Ponadto, doświadczenia kliniczne wskazują na nadmiernie częste klasyfikowanie noworodków z ciężkimi zaburzeniami oddechu do rozpoznania urazu okołoporodowego, a późniejsze komplikacje w ich rozwoju bywają często związane z niedotlenieniem okołoporodowym bez podjęcia próby poszukiwań podłoża genetycznego obserwowanych nieprawidłowości.

Niemal wszystkie przedstawione w pracy noworodki wykazywały zaburzenia napięcia mięśniowego, zwykle jego wzmożenie i zaburzenia odruchu ssania świadczące o niedojrzałości bądź uszkodzeniu ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Równocześnie tylko w nielicznych przypadkach w badaniach obrazowych odnotowano morfologiczne wykładniki uszkodzenia OUN. Podobne obserwacje przedstawił Jackson i wsp. [82] oraz Cereda i wsp. [141].

Podsumowując należy stwierdzić, że stan noworodków z CdLS był w większości przypadków zadowalający, a obserwowane zaburzenia adaptacyjne miały związek z wcześniactwem.

5.2. Fenotyp

Rozpoznanie klasycznej postaci CdLS u pacjentów w niniejszej pracy zwykle nie nastręczało trudności i dokonywane było wkrótce po urodzeniu u 70% dzieci, co odpowiada danym z innych opracowań, w których odsetek rozpoznania klasycznej postaci zespołu w okresie noworodkowym oceniano podobnie, na 70–80% [82, 144, 145, 164, 185].

Jedną z podstawowych cech rozpoznawczych zespołu jest pre- i postnatalna mikrosomia, stwierdzana u niemal wszystkich osób z postacią klasyczną zespołu i u ponad 75% z postacią łagodną choroby [1, 82, 92, 185, 199]. Mikrosomia w okresie prenatalnym była także obserwowana u płodów mysich heterozygot *NIPBL* i nie miała związku z wielkością łożyska [89]. Wymiernym wyrazem mikrosomii jest powszechnie opisywana niska masa urodzeniowa. Średnia masa urodzeniowa w całej badanej grupie wynosiła $2040,27 \pm 625,40$ g i była mniejsza od wartości zarejestrowanych przez Jacksona i wsp. [82] (2221 g), Kline i wsp. [91] (2280 g) oraz Ceredę i wsp. [141] (2350 g), ale była porównywalna z odnotowaną przez Barisic i wsp. [7] (2021g). Należy przy tym zaznaczyć, że dane Barisic i wsp. uwzględniały wyłącznie noworodki z klasyczną postacią zespołu. Według populacyjnych siatek percentylowych [38,48] masę urodzeniową poni-

żej trzeciego percentyla, niezależnie od czasu ukończenia ciąży stwierdzono u 60% noworodków. Niska średnia masa urodzeniowa w badanej grupie była bez wątpienia pochodną zwiększonego odsetka noworodków urodzonych przedwcześnie – niemal 20% z nich urodziło się przed 35 tygodniem ciąży. Średnia masa urodzeniowa analizowanej grupy dziewczynek była nieznacznie niższa niż chłopców, co odpowiada porównaniom przedstawionym w innych publikacjach [69, 82, 141, 185].

Wzrost poniżej trzeciego percentyla stwierdzono u mniej niż połowy noworodków, co jest zgodne z obserwacjami opisywanymi w grupach pacjentów włoskich [141] i amerykańskich [89, 91]. Należy podkreślić, że prawidłowy wzrost urodzeniowy nie wykluczał późniejszej mikrosomii. Znamienym spostrzeżeniem jest fakt, że o ile wzrost poniżej trzeciego percentyla stwierdzano u 37,84% noworodków, to tak znaczny niedobór wzrostu występował u ponad 91,89% starszych pacjentów. Obwód głowy przy urodzeniu poniżej trzeciego percentyla stwierdzono aż u trzech czwartych noworodków (75,68%) i podobny odsetek (78,38%) stwierdzono u starszych pacjentów. Niska masa urodzeniowa, mikrosomia z towarzyszącym proporcjonalnym małowłowie były zatem typowe dla CdLS, co potwierdziło doniesienia innych autorów [3, 80, 89, 91, 185].

W badanej grupie niska masa urodzeniowa była niekorzystnym czynnikiem prognostycznym późniejszego gorszego rozwoju psychomotorycznego dziecka i występowania zaburzeń mowy. Poczynione obserwacje korespondują ze spostrzeżeniami Hawleya i wsp. [69], a także Selicorniego i wsp. [185], którzy również odnotowali dodatnią korelację między niską masą urodzeniową a ciężkością fenotypu. Nie stwierdzono natomiast związku niskiej masy urodzeniowej z obecnością wad narządowych. Analiza danych polskiej grupy CdLS dokonana w tej pracy wskazuje, że mikrosomia i występowanie wad rozwojowych nie zawsze korelują z zaburzeniami czynnościowymi. Jakkolwiek niska masa urodzeniowa jednoznacznie stwierdzona w tej grupie wyraźnie korelowała z niedosłuchem, to z kolei nie stwierdzono znamienego związku między niedosłuchem, a zaburzeniami mowy. Znamienna mikrosomia, charakterystyczna dla osób z CdLS, sprawia że stosowanie wobec tych pacjentów populacyjnych siatek percentylowych uwzględniających masę ciała, wzrost oraz obwód głowy jest niemiarodajne i w praktyce utrudnia dokonywanie porównań w obrębie tego zespołu. W niniejszej pracy zastosowano kryteria antropometryczne zaproponowane przez Kline i wsp. [91] z uwzględnieniem siatek percentylowych dla CdLS. Większość (około 70%) pacjentów mieściło się między 25 a 75 percentylem, co jest zgodne z danymi innych autorów [59, 92, 154, 181, 185, 214]. Zastosowanie siatek percentylowych dla CdLS [Kline] pozwoliło na wykazanie, że rozwój klasycznego fenotypu ze znacznym upośledzeniem rozwoju występuje znamiennie częściej w podgrupie o wzroście i masie ciała poniżej 25 percentyla. Z kolei pacjenci powyżej 75 percentyla istotnie częściej prezentowali łagodny fenotyp.

W oparciu o pogłębioną analizę morfologiczną 31 pacjentów z CdLS, Ireland i wsp. [80]. opracowali w 1993 roku zestawienie najbardziej charakterystycznych cech fenotypowych zespołu. Zdaniem Irelanda i wsp. o diagnozie, poza mikrosomią przesądzały: charakterystyczny układ brwi, długa rynienka nosowa i cienkie wargi z kącikami zwróconymi ku dołowi. Inni autorzy, którzy przeprowadzili krytyczną analizę cech dysmorfii, uwzględnili ponadto, jako niezbędne w rozpoznaniu: małowłowie, długie rzęsy, szerokie rozstawienie nozdrzy, wady zgryzu, gotyckie podniebienie bądź rozszczep podniebienia, niskie osadzenie uszu, krótki tułów [3, 59, 156]. Z dotychczasowych doniesień wynika, że u pacjentów z łagodną postacią zespołu stwierdzano mniej wyrażone, ale rozpoznawalne, charakterystyczne cechy dysmorfii [3, 80, 127, 156, 185, 214]. Analizując budowę mózgo- i twarzoczaszki w badanej grupie zauważono, że proporcjonalne małowłowie w

większości z towarzyszącą brachycefalią występowało u około 80% osób. Interesującym spostrzeżeniem jest obserwacja zmian wyglądu okolicy oczodołowej zachodzących wraz z rozwojem dziecka. „Pędzelkowate” trójkątne brwi, często bez wyraźnej obecności synophrys z wiekiem zmieniały strukturę i wówczas obserwowano bujne brwi, obligatoryjnie z synophrys. Długie gęste rzęsy stwierdzono u wszystkich badanych. Cofnięta i mała żuchwa i wąskie wargi z kącikami skierowanymi ku dołowi stwierdzano u prawie wszystkich i w świetle własnych obserwacji można je uznać za charakterystyczne. Nieco mniej regularnie, bo u około dwóch trzecich pacjentów z CdLS, stwierdzono: szerokie rozstawienie nozdrzy, spłaszczenie nasady nosa, długą rynienkę nosową, nisko osadzone, zrotowane ku tyłowi uszy. Rozszczep podniebienia obserwowano rzadziej, u mniej niż 30% pacjentów. Występowanie powyższych cech fizjonomicznych bez wątpienia ułatwiało postawienie bezspornego rozpoznania, ale nie tworzyło rozstrzygającego kryterium diagnostycznego. Porównawcza analiza poszczególnych cech dysmorficznych w badanej grupie ujawniła częstsze występowanie pędzelkowatych brwi i rozszczepu podniebienia u osób z postacią klasyczną zespołu. Ponadto, zwraca uwagę istotne statystycznie współwystępowanie rozszczepu podniebienia i wad wrodzonych serca, podobnie jak z w zespole CATCH 22 (mikrodelecji 22q11q13).

Niezależnie od postaci zespołu pacjenci wyglądali zwykle na znacznie starszych niż wskazywał na to wiek biologiczny. Cechy przedwczesnego starzenia przejawiające się: ścieńczeniem skóry, utratą tkanki tłuszczowej w obrębie policzków, zaostreniem rysów twarzy były obecne u dorosłych z CDLS, niezależnie od postaci zespołu, przy czym często stwierdzano je już u nastoletnich pacjentów. U kilku pacjentów stwierdzono współistnienie cech dysmorfii typowych dla płodowego zespołu alkoholowego, w jednym stwierdzono współistnienie aberracji chromosomowej (mos XO/XX). W trakcie wieloletniej obserwacji pacjentów z podejrzeniem zespołu CdLS, u których nie stwierdzano mutacji szczególną trudność sprawiali właśnie pacjenci z FAS, których fenotyp jest zbliżony do CdLS (mikrosomia, małogłowie, mikro-retrognatia, wąskie usta, wysoko ustawione podniebienie, wady narządowe) [25].

5.3. Rozwój psychoruchowy i osiągnięcie umiejętności

Analizując czas osiągnięcia przez badanych życiowych umiejętności (siadanie, chodzenie, wymawianie słów) uwzględniono 64 pacjentów którzy ukończyli czwarty rż. Zwrócono jednak uwagę, że nawet w przypadkach znacznego upośledzenia, rozwój ruchowy był proporcjonalnie mniej opóźniony niż rozwój psychiczny. O ile umiejętność samodzielnego chodzenia osiągnęło 78,33% osób, to zdolność do samodzielnego komunikowania się osiągnęło mniej niż 50% (48,43%). Ponadto zaobserwowano zjawisko skokowego, nieharmonijnego rozwoju. Między długimi okresami kiedy dziecko pozornie nie czyniło żadnych postępów zdarzały się okresy nagłego przyspieszania rozwoju psychomotorycznego. Jak dotąd niewielu autorów przedstawiło profil rozwojowy pacjentów z CdLS [14,93,127]. Berney i wsp. [14] również zwracali uwagę na opisaną powyżej nieharmonijność osiągania umiejętności. Kline i wsp/ [94] opracowali diagram czasu osiągania poszczególnych umiejętności; opracowanie pochodzi jednak z roku 1993, kiedy możliwa było jedynie kliniczne potwierdzenie zespołu.

5.4. Zaburzenia budowy i funkcjonowania przewodu pokarmowego

Wyniki wielośrodkowych badań wskazują, że zaburzenia budowy i czynności przewodu pokarmowego stanowią podstawowy problem kliniczny osób z CdLS [10, 24, 43, 110, 112, 191]. Wady rozwojowe przewodu pokarmowego (zarośnięcie przełyku czy dwunastnicy, zwężenie odźwiernika, przepuklina przeponowa, przepuklina pachwinowa i mosznowa) oraz niedrożności spowodowane wgłobieniem, skrętem jelit, uwięzieniem przepuklin zarejestrowano u 7–15% noworodków [82, 141, 185] (6,75% w materiale własnym). W większości nie wymagały one pilnej interwencji chirurgicznej w pierwszych dobach życia.

Obserwowane już od okresu noworodkowego trudności w karmieniu (zaburzenia ssania, wymioty i ulewanie, niechęć do przyjmowania pokarmu) oraz niedostateczny przyrost masy ciała dotyczyły 70–100% pacjentów z CdLS [24, 30, 82, 92]. W badanej grupie u 82,43% noworodków stwierdzano brak lub słabo wyrażony odruch ssania. Konieczne było stosowanie sondy dożołądkowej (48,65%), a nawet zakładanie czasowo gastrostomii. Zaburzenia ssania występowały częściej u noworodków z niską masą urodzeniową, co można tłumaczyć wysokim odsetkiem wcześniaków z niewykształconym odruchem ssania. W 101-osobowej grupie włoskich pacjentów z CdLS zaburzenia ssania występowały u 71% noworodków, a 43% wymagało zastosowania sondy dożołądkowej w okresie noworodkowo-niemowlęcym [141]. Zbliżone proporcje ilościowe występowania zaburzeń odżywiania przedstawiono w 310-osobowej grupie pacjentów amerykańskich [82]. Zaburzenia ssania i połykania wiązano z przyczynami anatomicznymi (mikro i retrognatia, rozszczep podniebienia), brakiem właściwej koordynacji odruchów ssania i połykania oraz oddychania, refluksiem żołądkowo-przełykowym [24]. Z pewnością obserwowane u większości pacjentów opóźnienie rozwoju psychoruchowego, zaburzenia napięcia mięśniowego były dodatkowym czynnikiem utrudniającym proces przyjmowania pokarmu. Zaspokajanie dobowego pokrycia kalorycznego, zgodnego z normami dla wieku nie gwarantowało odpowiedniego przyrostu masy ciała pacjentów, co jest typowe dla CdLS [82, 92, 141]. Niechęć do przyjmowania pokarmów jak i trudności w karmieniu były podkreślane przez większość autorów [24, 89, 185], którzy sugerowali także, że długotrwałe stosowanie sondy dożołądkowej skutkowało nieprawidłową stymulacją percepcji smakowej i węchowej. Dzieci nie były w należyty sposób przyzwyczajane do odróżniania smaków i zapachów pokarmu. Zwrócono także uwagę na ciekawe, nie obserwowane w innych zespołach zjawisko lepszej tolerancji pokarmów przyprawianych papryką czy pieprzem, o ostrym zapachu oraz pokarmów o różnych temperaturach, zwłaszcza bardzo zimnych co koresponduje z obserwacjami rodziców badanej grupy.

Refluks żołądkowo-przełykowy (*gastro esophageal reflux* – GER), którego obecność rozpoznano u większości osób z CdLS (60–90%), stanowił kluczowy problem niezależnie od wieku [24, 30, 43, 82, 110, 114]. W niniejszych badaniach wykazano, że GER występował częściej u osób z klasycznym fenotypem zespołu i z głębokim upośledzeniem rozwoju, niż w jego łagodnej postaci. Jest to zgodne z danymi opublikowanymi przez Luzzani i wsp. [110], którzy zarejestrowali obecność GER u 90% pacjentów z fenotypem klasycznym i 82% z fenotypem łagodnym. Poza klasycznymi objawami choroby refluksowej (wymioty, ulewanie, zgaga, słaby przyrost masy ciała) u części pacjentów rozpoznanie GER utrudniało występowanie jedynie objawów niespecyficznych schorzenia takich jak: nawracające infekcje dróg oddechowych, bezdech, odgęciowe

układanie głowy (zespół Sandifera), nadpobudliwość, agresja i autoagresja, co znajdowało potwierdzenie także w innych publikacjach. [92, 93, 110]. Interesująca wydaje się obserwacja własna (związku występowania GER z rozszczepem podniebienia. W analizowanym materiale stwierdzono także związek GER z tendencją do stereotypii, samookaleczeń i zachowań autystycznych. Dodatkową trudność przy rozpoznawaniu GER stanowiło upośledzenie umysłowe uniemożliwiające właściwą komunikacji z chorym. Rodzice i opiekunowie, ale także lekarze pierwszego kontaktu nie zawsze potrafili skojarzyć nietypowe objawy a zwłaszcza agresję i autoagresję z bólem i dyskomfortem towarzyszącym chorobie refluksowej przełyku. Opóźniało to w sposób znaczący diagnozę, a tym samym włączenie leczenia.

Zastosowanie diagnostyki obrazowej oraz badań endoskopowych także wiązało się ze znacznymi trudnościami, w tym z koniecznością zastosowania krótkotrwałego znieczulenia ogólnego. Podobne zastrzeżenia zgłaszali także inni autorzy [24, 110].

Następstwem długotrwałej choroby refluksowej przełyku może być przełyk Barretta [113] opisywany u pacjentów z CdLS zmiennie częściej niż w populacji ogólnej, nawet u 14 % dorosłych pacjentów. Wiek pojawienia się typowych zmian dla przełyku Barretta wynosił według różnych raportów od 19–36 lat. [19, 43, 111, 124, 152], czyli w wczesnym okresie. W badanej grupie przełyk Barretta rozpoznano u dwóch pacjentek, u obu już w okresie dzieciństwa. Jak dotąd doświadczenia dotyczące terapii zachowawczej u pacjentów z chorobą refluksową nie zawsze były jednoznacznie pozytywne [10, 24, 30, 43, 110, 112, 191]. Dlatego powszechnie rekomendowano leczenie chirurgiczne [30, 110], początkowo technikami klasycznymi, a ostatnio z zastosowaniem techniki laparoskopowej (fundoplikacja Nissena). Niestety, około 30-procentowy odsetek polskich pacjentów, u których dokonano interwencji chirurgicznej, odbiega od standardów w krajach rozwiniętych, gdzie zabiegi antyrefluksowe są wykonywane u około 50% pacjentów z CdLS i GER. Tym niemniej, w ostatnich latach rozpowszechnienie wiedzy o zespole CdLS spowodowało wzrost zainteresowania chirurgicznymi metodami terapii. Wybrane ośrodki w kraju wyspecjalizowały się w chirurgicznej terapii antyrefluksowej pacjentów z CdLS (w szczególności: gdański, bydgoski, warszawski, wrocławski) Preferowana była technika laparoskopowa, skracająca zarówno czas znieczulenia ogólnego jak i późniejszy pooperacyjny okres pobytu pacjenta w szpitalu.

Zaparcia stwierdzano u 30% pacjentów z CdLS, a tendencja do zaparć wzrastała z wiekiem, przy czym u niektórych osób podjęte leczenie okazało się nieskuteczne. Nie zaobserwowano natomiast znaczącej skłonności do przewlekłych biegunk, u żadnego z pacjentów nie rozpoznano celiakii, co jest zgodne z obserwacjami Manciniego i wsp. [112]. Częstość występowania alergii pokarmowych nie odbiegała od populacyjnej.

Zwrócono również uwagę na skłonność do powstawania kamieni żółciowych i zapaleń pęcherzyka żółciowego u pacjentów nastoletnich i dorosłych, na co wcześniej zwrócono uwagę w analizach pacjentów amerykańskich i włoskich [82, 92, 185]. W badanej grupie obecność kamicy żółciowej zanotowano u dwóch osób jak dotąd rodzice nie podjęli decyzji o zabiegu.

Gwałtownie narastające zaburzenia gastroenterologiczne, zwłaszcza niedrożność powikłana zapaleniem otrzewnej były opisywane jako częsta przyczyna zgonów także w późniejszych okresach życia [82, 92, 140], co odróżnia pacjentów z CdLS od populacji ogólnej. Wśród przyczyn fatalnego przebiegu części ostrych powikłań żołądkowo-jelitowych podaje się opóźnione rozpoczęcie postępowania diagnostycznego i zbyt późne interwencje chirurgiczne, co wynika z utrudnionego lub niemożliwego kontaktu z

pacjentem, a także, subiektywnie wyższego-progu bólowego, co podkreślali inni autorzy [141].

5.5. Wady narządowe

U wszystkich pacjentów w badanej grupie obserwowano nieprawidłową budowę układu mięśniowo-szkieletowego, zwłaszcza kończyn górnych. Wyniki różnorodnych badań laboratoryjnych dobitnie wskazują na wysoką ekspresję kluczowego genu układu kohezyny – *NIPBL*, w komórkach układu mięśniowo-szkieletowego. Udokumentowano wysoką ekspresję transkryptu *NIPBL* w: zawiązkach kości łokciowych, kościach dłoni i nadgarstka, w kościach mózgo- i twarzoczaszki [89, 108, 126, 133, 196] w stadium embriogenezy, jak również udokumentowano ekspresję genu *NIPBL* w tkankach układu mięśniowo-szkieletowego u osób dorosłych [196]. Na istotną rolę genu *NIPBL* w rozwoju układu mięśniowo-szkieletowego wskazują także badania eksperymentalne na zwierzętach, w których wykazano występowanie anomalii kończyn u *heterozygotycznych* płodów mysich [89, 133]. W licznych zestawieniach, drobne malformacje kończyn były opisywane u 76–93% pacjentów z CdLS [22, 67, 79, 9, 167], podczas gdy wady ubytkowe kończyn występowały w 20–30% przypadków. W przedstawionych badaniach drobne malformacje kostne stwierdzono u wszystkich pacjentów, podczas gdy znaczące wady ubytkowe kończyn górnych: hemimelia, ubytki kości łokciowej i/lub promieniowej, oligodaktylia były widoczne jedynie u 20% badanych. Ubytkowe anomalie kostne stwierdzono znamienne częściej u płci męskiej, co jest zgodne z obserwacjami Barisic i wsp. opublikowanymi w raporcie EUROCAT [7], a także przez Selicorniego i wsp. [185]. W badaniach własnych klinodaktylia palca V występowała znamienne częściej u osób płci żeńskiej. Wady kończyn dolnych stwierdzano rzadziej, tym niemniej proporcja ich występowania była znacząco wyższa od populacyjnej. Wieloletnie obserwacje własne wskazują, że brak widocznych zmian w układzie mięśniowo-szkieletowym w okresie noworodkowym nie wykluczało ich późniejszego pojawienia się w okresie późniejszym. Dotyczyło to zwłaszcza ograniczenia ruchomości w stawach łokciowych, płaskostopia, palucha koślawego czy skoliozy. Ograniczenie ruchomości w stawach łokciowych=znamienne występowało znamienne częściej u płci żeńskiej. W ocenianej grupie polskich pacjentów CdLS u jednej pacjentki rozpoznano chorobę Perthesa – jałową martwicę głowy kości udowej. Zwraca uwagę fakt, że według danych z piśmiennictwa [82,92], u pacjentów z CdLS istotnie częściej rozpoznawano chorobę Perthesa niż w populacji ogólnej, w której częstość występowania choroby wynosi od 1 do 2%.

W badanej grupie potwierdzono częstsze występowanie wad ubytkowych kończyn górnych u osób klasyczną postacią CdLS niż z fenotypem łagodnym. Zwraca uwagę częste współistnienie wad ubytkowych kończyn górnych ze znacznym upośledzeniem rozwoju oraz brakiem mowy i niedosłuchem. Natomiast nie stwierdzono istotnych różnic między obecnością innych wad narządowych a wadami ubytkowymi kończyn. Dotychczas nie ukazało się podobne porównawcze zestawienie w dostępnym piśmiennictwie.

Jak dotąd opublikowano nieliczne prace dotyczące zmian w układzie krążenia u osób z CdLS, a przedstawiane w nich dane były rozbieżne co do częstości i rodzaju wrodzonych wad serca [122,69,82]. Wynikało to z: małej liczebności badanych grup pacjentów, niejednoznacznych kryteriów rozpoznania zespołu, dopuszczających element

pewnego subiektywizmu (dopiero od roku 2004 możliwa była diagnostyka molekularna), zgonów dzieci z wrodzoną wadą serca i fenotypem CdLS we wczesnym okresie życia przed postawieniem molekularnego rozpoznania. Według różnych danych częstość występowania wrodzonych wad serca ocenia się na od 13 do 70%. Są to wartości o ponad rząd wielkości wyższe niż w populacji ogólnej (0,8–1,2%) [73, 173]. Poniższe opracowanie wskazywało na szacunkową liczbę wad serca wśród pacjentów z CdLS na 28,38%, co jest zbliżone do danych Kline i wsp. [92] i Selicorniego i wsp. [186]. Należy podkreślić, że zarówno na podstawie własnego materiału, jak i doniesień pozostałych wymienionych wyżej autorów większość wad serca opisywanych u pacjentów z CdLS nie miała istotnego znaczenia hemodynamicznego a zaburzenia układu krążenia stanowiły zdecydowanie mniej istotny problem niż komplikacje gastroenterologiczne czy zaburzenia rozwoju i zachowania. Podsumowując liczne opracowania oparte o odmienne grupy pacjentów z CdLS, najczęściej rozpoznawano: otwór międzyprzedsionkowy (ASD), zwężenie tętnicy płucnej (PS) i otwór międzykomorowy (VSD) [11, 48, 146, 154, 159, 181, 186, 216]. W przedstawionym materiale występowanie wad serca odpowiadało danym z piśmiennictwa: najczęstszą wadą serca było ASD, choć u niektórych niemowląt zaobserwowano obecność innych wad, w tym PS i VSD. Dane o zwiększonej częstości występowania wad serca u niemowląt z CdLS są zbieżne z wynikami badań eksperymentalnych. Analiza rozwoju prenatalnego mysich heterozygot *NIPBL*(+) wykazała, że w około 50% płodów występowały nieprawidłowości budowy przegrody międzyprzedsionkowej i międzykomorowej. Ponadto zwrócono uwagę na częsty niedorozwój prawej komory [89, 133]. Wieloletnie obserwacje własne jednoznacznie wskazują, że zdecydowana większość wad serca występujących w okresie noworodkowym nie wywoływała istotnych zaburzeń hemodynamicznych i wykazywała tendencję do szybkiej regresji, a takie wady jak: ASD, VSD i PDA, a także FoA ulegały samoistnemu zamknięciu zwykle już w okresie niemowlęcym. Potwierdzali to także inni autorzy [11, 246, 186]. Intrygującym spostrzeżeniem jest obserwacja Kawauchi i wsp. [8], sugerująca że anomalie układu krążenia nie były stwierdzane u heterozygotycznych mysich noworodków *NIPBL*+, które bez komplikacji przeżyły okres okołoporodowy, jak również u osobników dorosłych. Z kolei, nieliczne dane publikowane na podstawie badań prenatalnych oraz autopsyjnych ludzkich płodów *NIPBL*+ nie są jednak jednoznaczne, jakkolwiek wady serca rozpoznawano w 30–60% badań [38, 147, 188]. Zestawiając badania eksperymentalne z jak dotąd niezbyt licznymi obserwacjami płodów ludzkich *NIPBL*+ nie można wykluczyć, że obciążone płody i noworodki z CdLS ze złożonymi bądź istotnymi hemodynamicznie wadami ulegają poronieniom, rodzą się martwe bądź giną w okresie okołoporodowym bez wysunięcia podejrzenia zespołu. Tezę tę może potwierdzać fakt, że złożone wady serca odnotowano w badanej grupie tylko w trzech przypadkach, co korespondowało z danymi Jacksona i wsp. [82], którzy opisali dwie istotne wady serca na 310 badanych noworodków z CdLS) i danymi grupy włoskiej (4 z 87 badanych). Nie można zatem wykluczyć, że rzeczywista śmiertelność przedporodowa i okołoporodowa jest w CdLS z powodu wad serca większa od dotychczas opisywanej.

Zwrócono także uwagę na przypadki koincydencji zespołu Fallota i CdLS. Wśród 310 pacjentów amerykańskich z CdLS zespół Fallota rozpoznano u dwóch z nich. Bhuiyan i wsp. [15] opisali dziewczynkę z klasyczną postacią CdLS i delecją 41–42 eksonu, u której rozpoznano zespół Fallota. Z kolei Johnston [85] udokumentował u pacjenta *NIPBL*+ obecność tej złożonej wady przebiegającej dodatkowo ze zdwojeniem łuku aorty. W przedstawionym materiale polskiej grupy CdLS zespół Fallota rozpoznano u dwojga pacjentów. Wydaje się więc że ta koincydencja, której występowanie można

szacunkowo ocenić na około 0,5 do 3% osób z CdLS, nie jest przypadkowa. Istnieją przesłanki, że niekorzystne czynniki środowiskowe mogą u osób z CdLS w większym stopniu niż w populacji ogólnej wpływać na nieprawidłowy rozwój serca. W niniejszym opracowaniu, u wszystkich badanych z uzasadnionym podejrzeniem FAS zidentyfikowano wady serca: u trzech zdiagnozowano otwór międzyprzedsionkowy (ASD), typowy zarówno dla CdLS (najczęstsza odnotowywana wada serca) jak i FAS, zaś u czwartego – wspólny kanał przedsionkowo-komorowy (AVC), częściej odnotowywany u pacjentów z FAS [25, 195].

Osobnego omówienia wymaga pacjentka ze współistnieniem mozaikowatego zespołu Turnera i mutacji *NIPBL* typu frameshift zlokalizowanej w eksonie 9 (c.1441_1448del GAGA), u której rozpoznano zwężenie tętnicy płucnej (PS) oraz obecność przepływu międzykomorowego (VSD). PS jest jedną z najczęstszych wad współistniejących z CdLS. Z kolei wrodzone wady serca są częste w zespole Turnera (21–40%), ale zarówno PS jak i VSD opisywane są rzadko. (0,6–1%) [62], co przemawiałoby w tym przypadku za dominacją zaburzenia ekspresji genów zależnych od *NIPBL* w kształtowaniu fenotypu.

Dotychczasowe dane wskazywały, że wady nerek i dróg moczowych występują u 10–40 % osób z CdLS [32, 89, 187], tym niemniej liczba dotychczasowych opracowań dotyczących tej grupy wad jest niewielka. Tonkin i wsp. [196] wykazali ekspresję genu *NIPBL* w nefronach ludzkich embrionów, co mogłoby tłumaczyć obecność anomalii strukturalnych nerek u pacjentów z mutacjami *NIPBL*. Równocześnie jednak analiza danych dotyczących oceny nerek u heterozygotycznych myszy *NIPBL*⁺ [89] nie wskazywała na ich uszkodzenie w procesie organogenezy. W przedstawionym materiale zwrócono uwagę na stosunkowo wysoki 17,57% odsetek zmian struktury miąższu nerki z zatarciem struktury korowo-rdzeniowej. Jakkolwiek tylko u dwojga dzieci z takim obrazem nerek stwierdzono cechy przewlekłej niewydolności nerek, wskazana jest systematyczna obserwacja pozostałych pacjentów pod tym kątem. W badaniu ultrasonograficznym u 10% pacjentów stwierdzono obecność pojedynczych torbieli nerek, jak dotąd nie skutkujących klinicznymi objawami ich niewydolności, podobne zmiany zostały opisane także przez innych autorów [32, 89, 197]. Zwraca uwagę zmiennie częstsze występowanie tej anomalii u pacjentów płci męskiej. U jednego z dzieci obserwowano ponadto niespotykany wśród osób z CdLS przypadek zastawki cewki tylnej.

Refluks pęcherzowo-moczowodowy jest najczęstszą wadą układu moczowego rejestrowaną w populacji (0,4–1,8% dzieci wg Ismaeli i wsp. [81]). W badanej grupie CdLS występował stosunkowo rzadko – u 5,4% pacjentów, podobnie jak w opracowaniu Selicorniego i wsp. (5,8%) [187], tym niemniej można przyjąć, że kilkakrotnie częściej niż w populacji ogólnej. Nie wymagał korekcji chirurgicznej.

U żadnego z badanych pacjentów nie stwierdzono klinicznych bądź laboratoryjnych cech zaburzeń funkcji tarczycy, co pokrywa się z doniesieniami innych autorów [71, 183]. Wielkość narządu w dostępnych badaniach USG nie odbiegała od normy, uwzględniając proporcje wagowo-wzrostowe.

W trakcie kilkuletniej obserwacji u dwojga pacjentów M⁺ rozpoznano cukrzycę typu I. Dotychczas nie opisano przypadków współistnienia cukrzycy typu I i CdLS. Jak dotąd cukrzycę w obu przypadkach rozpoznano rok temu i nie zaobserwowano istotnych powikłań w trakcie terapii. W obserwowanej przez Kline i wsp. [92] 71 osobowej grupie pacjentów powyżej 12 roku życia u 5% rozpoznano natomiast cukrzycę typu II. Wiązało się to przypuszczalnie z wyższą niż w innych populacjach tendencją do otyłości wśród amerykańskich nastolatków i dorosłych. Do tej pory wśród polskich pacjentów tego problemu nie opisano.

Własne obserwacje, poparte danymi z piśmiennictwa [92, 185, 209] wskazywały na to, że większość osób z CdLS (wg Kline 75%) przechodziła klasyczny cykl dojrzewania, który rozpoczynał się zwykle o 1–1,5 roku później niż u rówieśników, zaś I i II rzędowe cechy płciowe były słabiej zaznaczone u obu płci. W badanej grupie wszystkie pacjentki zaczęły miesiączkować, podczas gdy wg Kline i wsp. [92] u 25% kobiet nie odnotowano pierwszej miesiączki. U prawie wszystkich badanych płci męskiej stwierdzono nieprawidłowości narządów płciowych. Zgodnie z danymi z piśmiennictwa u ponad 70% chłopców [82, 92, 185] (w badanej grupie u ponad 90%) stwierdza się wnetrostwo, w większości wymagające korekcji chirurgicznej. U dziewczynek obserwowano niedorozwój warg sromowych oraz nieprawidłowości budowy macicy, ale te zmiany występowały rzadko, co potwierdzają dotychczasowe, jeszcze nieliczne (cztery pacjentki), obserwacje własne.

U nielicznych osób z CdLS opisano obniżenie liczby płytek w krwi obwodowej [49, 103], co także obserwowano w badanej grupie. Przejściowe obniżenie liczby płytek krwi zarejestrowano u pięciu osób, wszystkich płci żeńskiej. Analiza pozostałych elementów morfologii krwi obwodowej nie ujawniła istotnych zaburzeń.

Ponadto, nie stwierdzono upośledzenia odpowiedzi humoralnej u osób z CdLS, co jest zgodne z raportem Esposito i wsp. [45], którzy w grupie pacjentów z CdLS szczepionych przeciw A1H1, stwierdzili prawidłowe wskaźniki odpowiedzi immunologicznej u wszystkich badanych. Prawidłowa odpowiedź humoralna nie zabezpieczała jednak przed częstymi zapaleniami ucha środkowego i zatok o tendencji przechodzenia w stan przewlekły [117], co zauważono także we własnym materiale. Marchiso i wsp. [117] sugerują, że czynnikiem sprzyjającym zwiększonej zapadalności i zwiększonej skłonności do zapaleń ucha środkowego może być zmieniona budowa ucha środkowego, sitowia i zatok. Ponadto, co potwierdzają doświadczenia własne, utrudniony kontakt z osobą z CdLS, skutkował późnym rozpoznaniem, a przez to opóźnionym włączeniem celowanego leczenia.

Osobnego omówienia wymaga znacznie wyższa niż populacyjna śmiertelność spowodowana zapaleniem otrzewnej i wstrząsem septycznym w jego przebiegu. Zgodnie z relacjami rodziców i opiekunów osób z CdLS, zwłaszcza u dzieci dochodziło do incydentów gwałtownego pogarszania się stanu ogólnego, co było poprzedzone wymiotami i biegunką. Nie można więc wykluczyć patologicznej reakcji na powszechnie spotykane patogeny, ale należy także/przy tym podkreślić, że przy podwyższonym progu bólowym stwierdzanym u osób z zespołem CdLS [92, 141], początkowy rozwój patologicznych zmian w obrębie jamy brzusznej może być skryty, co zdecydowanie utrudnia wdrożenie właściwego postępowania we wczesnej fazie choroby.

5.6. Zaburzenia słuchu i mowy

Jedną z częściej opisywanych cech klinicznych CdLS jest niedosłuch o charakterze czuciowo-nerwowym (odbiorczy), przewodzeniowym lub mieszanym, który według różnych autorów stwierdzano u 40 do 80% pacjentów [86, 96, 117, 172, 176, 213], zaś w badanej grupie wystąpił u 63,24%. W badaniach własnych stwierdzono częstsze występowanie niedosłuchu u wcześniaków, osób z niską masą urodzeniową oraz wadami ubytkowymi kończyn.

Obiektywną przeszkodą w przeprowadzeniu wiarygodnej oceny słuchu są trudności diagnostyczne. Audiometria słowna i inne metody oceniające w sposób subiektywny próg słyszenia były w tej grupie pacjentów trudne do zastosowania z powodu niepełnosprawności intelektualnej i braku współpracy z badającym. Doświadczenie własne, a także opracowania innych autorów [97, 177] wskazują, że przy zastosowaniu rutynowych metod diagnostycznych często uzyskiwano niewiarygodne wyniki, proporcjonalnie do stopnia upośledzenia umysłowego. Dlatego większość badających wybierała obiektywną metodę, jaką jest ocena słuchowych potencjałów wywołanych z pnia mózgu (ABR), a weryfikacja nieprawidłowych wyników badaniem tympanometrycznym pozwalała dodatkowo na ustalenie rodzaju niedosłuchu [96, 117, 177]. Liczne dane wskazują, że osoby z CdLS są predysponowane do niedosłuchu z powodu wad rozwojowych m.in. wąskich kanałów słuchowych [172, 176, 177]. Z kolei, w badaniach własnych wykazano istotną koincydencję niedosłuchu z rozszczepem podniebienia, co potwierdza wcześniejsze obserwacje Sataloffa i wsp. [177], którzy wykazali występowanie rozszczepu podniebienia u 58% pacjentów z CdLS z zaburzeniami słuchu. Strukturalne nieprawidłowości ucha środkowego opisali Kawauchi i wsp. [89] również u mysich płodów heterozygotycznych dla *NIPBL*. Można zatem przyjąć, że u znaczącego odsetka osób z niedosłuchem ma on charakter wrodzony. Jednakże, według Marchisio i wsp. [117], którzy oceniali grupę 50 osób z CdLS, u znaczącego odsetka pacjentów całkowita bądź częściowa utrata słuchu nie miała charakteru wrodzonego, a była efektem nawracających, zbyt późno rozpoznanych bądź nieskutecznie leczonych zapaleń ucha środkowego. Analogiczne dane przedstawili Sataloff i wsp. [177]. Badania własne, w których stwierdzono nawracające zapalenia ucha środkowego u 50 % pacjentów, potwierdzają znaczenie czynnika zapalnego, jednoznacznie wskazując na konieczność wnikliwej kontroli i szybkiej, fachowej interwencji terapeutycznej. Zastosowanie aparatów słuchowych w przypadkach głębokiego niedosłuchu czy głuchoty u osób z CdLS bywa niewykonalne. Także w badanej grupie takie próby, szczególnie u pacjentów z postacią klasyczną choroby, kończyły się niepowodzeniem.

W badanej grupie nie udokumentowano statystycznie istotnego związku niedosłuchu z brakiem rozwoju mowy, zarówno w całej ocenianej grupie, jak i u osób, które ukończyły 4 rok życia. Wcześniejsze dane dotyczące powiązania rozwoju mowy z niedosłuchem są niespójne. Goodban [61] oraz Oliver i wsp. [141] podkreślali związek braku rozwoju mowy z umiarkowanym bądź głębokim niedosłuchem. Brak rozwoju mowy korelował ponadto z: niską masą urodzeniową, wadami ubytkowymi kończyn górnych, jak również opóźnieniem zdobywania zdolności motorycznych. Znamienny związek braku rozwoju mowy i niedosłuchu potwierdził również Sataloff i wsp. [177] u 57 badanych pacjentów z CdLS którzy ukończyli 4 rż. Z drugiej jednak strony obserwowano pacjentów z prawidłowymi obiektywnymi wynikami badań słuchu i brakiem rozwoju mowy, bądź też nie odnotowano znamienne częstszego współlistnienia niedosłuchu i braku rozwoju mowy [9, 92, 93, 174, 175]. Dominował pogląd, że niedorozwój mowy jest raczej składową upośledzenia rozwoju a nie niedosłuchu [44, 82, 96, 117, 173, 177]. W badanej grupie tylko u 50% osób z głębokim upośledzeniem rozwoju, które przekroczyły 4 rż stwierdzono umiarkowany bądź znaczny niedosłuch.

Zaburzenie budowy narządu wzroku oraz zaburzenia widzenia należą do fenotypu CdLS [82, 92, 185, 211]. Charakterystyczny układ brwi z synophrys oraz obecność długich, często podwójnych rzęs, obecne u prawie wszystkich należą do podstawowych cech rozpoznawczych [164]. Badanie okulistyczne u pacjentów z CdLS było szczególnie trudne, często niemożliwe do przeprowadzenia bez zastosowania znieczulenia ogólnego,

dlatego przedstawione dane dotyczące wad refrakcji oraz oceny nerwu wzrokowego należy uznać za niekompletne. Podobne doświadczenia zaprezentowali inni badacze [104, 134, 211], oceniając skuteczność przeprowadzenia pełnego badania okulistycznego na 40–50%. Przy ograniczonej liczebności grupy, rozpiętości wieku badanych, wady refrakcji rozpoznano u około połowy z nich, co odpowiadało wcześniejszym doniesieniom. Należy przy tym zaznaczyć, że porównania ilościowe między różnymi grupami pacjentów są karkołomne przy ograniczonej *per se* liczebności ocenianych grup, zwykle różniących się strukturą wiekową i rozwojowym charakterze wad refrakcji. Przypadki zaćmy i jaskry opisywane były rzadko [92, 211], w przedstawionym materiale dotyczyły pojedynczych pacjentów.

5.7. Zaburzenia układu nerwowego

Jak dotąd nie udało się ustalić jednoznacznej przyczyny zaburzeń neurologicznych u osób z CdLS. Wspomniana we wstępie koncepcja wpływu mutacji genu *NIPBL* na zmiany ekspresji genów odpowiedzialnych za powstanie białka ROBO1, wywierającego bezpośredni wpływ na dojrzewanie neuronów [108] nie została dotychczas potwierdzona na modelach zwierzęcych. Mimo typowego dla zespołu małogłowa, badania obrazowe nie wykazywały zwykle nieprawidłowości budowy struktur mózgowia. W nielicznych przypadkach opisano poszerzenie komór, atrofię istoty białej, hipoplazję robaka mózdku oraz zaburzenia mielinizacji [199, 204, 212]. Zaburzenia napięcia mięśniowego (na ogół jego wzmocnienie) były stwierdzane przez wielu autorów [92, 140, 185]. U przedstawionych pacjentów zwykle nie prowadziły do istotnych zaburzeń lokomocji. U kilku osób, u których wywiad okołoporodowy wskazywał na niedotlenienie okołoporodowe stwierdzono istotne zaburzenia lokomocji. Można nawet wnioskować, że rozwój ruchowy pacjentów z CdLS był niewspółmiernie lepszy od ich rozwoju psychicznego. Ukazały się nieliczne doniesienia dotyczące zapisów EEG u osób z CdLS, gdzie częstość występowania nieprawidłowego zapisu oceniano na 20–30%. [8, 82, 92]. W badanej grupie u nieco ponad 22,97% zarejestrowano nieprawidłowy EEG i częstość ta nie była znacząco wyższa od stwierdzanej wśród populacji osób z niepełnosprawnością intelektualną wywołaną innymi przyczynami (6–17% Jansen i wsp. [94]). Patologiczne zapisy EEG nie miały znamion charakterystycznych. Opisany w pracy wyższy od przeciętnego próg bólowy, odnotowany u osób z CdLS także przez innych badaczy [82, 92, 141], obserwowano również w innych zespołach uwarunkowanych genetycznie (np. z. Prader-Williego, z. Downa). Wysoki próg bólowy miał znaczące implikacje praktyczne, przy utrudnionej komunikacji pacjenta z otoczeniem. Opóźniało bowiem postawienie diagnozy w sytuacjach, w których ból jest zwykle jednym z pierwszych i wiodącym objawem ostrego stanu zapalnego, w tym zagrażających życiu ostrych powikłań brzusznych, takich jak niedrożność, wgłobienie lub zapalenie otrzewnej.

5.8. Fenotyp behawioralny

Zgodnie z danymi z piśmiennictwa, odnotowano zróżnicowany stopień upośledzenia umysłowego: od lekkiego, w postaci łagodnej zespołu, do głębokiego [14, 82, 92, 127, 185, 214]. Opisano tylko nielicznych pacjentów z potwierdzoną mutacją *NIPBL*, u któ-

rych iloraz inteligencji był prawidłowy [53, 170]. W większości opracowań średni iloraz inteligencji oceniano na 30–86 [14, 82]. Zaburzenia zachowania, obok niepełnosprawności intelektualnej były opisywane jako typowe dla zespołu, zwłaszcza postaci klasycznej [4, 14, 78, 82, 92, 128, 129, 142, 143, 175]. Najczęściej manifestowały się: agresją i autoagresją oraz nadpobudliwością z deficytem uwagi, przy czym skłonność do agresji i autoagresji określano jako typową cechę klasycznej postaci CdLS [4, 14, 128, 129, 142, 143]. W przedstawionym materiale objawy agresji demonstrowało 46,86%, zaś autoagresji 50% pacjentów powyżej 4 rż, istotnie częściej z postacią klasyczną zespołu. Zwraca uwagę znamienne częstsza skłonność do zachowań autoagresywnych u osób płci żeńskiej. Według własnych obserwacji, nadpobudliwość demonstrowało około 40% pacjentów, a wysokiemu stopniowi autoagresji nie zawsze odpowiadała skłonność do agresywnych zachowań, co jest zgodne z obserwacjami niektórych autorów [92, 142, 143]. Bezsprzeczne było nasilenie nieprawidłowych zachowań w przypadkach współistnienia choroby refluksowej, co sygnalizowali także inni autorzy [9, 16, 110, 143]. Wydaje się natomiast, że nasilenie zaburzeń zachowania jest w niewielkim stopniu powiązane z problemami okulistycznymi, nawracającymi zapaleniami ucha czy zapaleniem zatok przynosowych, co jest zgodne z danymi z piśmiennictwa [31, 143]. Skłonność do agresji i autoagresji wyraźnie ulega nasileniu z wiekiem, szczególnie w okresie dojrzewania, co obserwowano zarówno w badanej grupie, jak też opisywano we wcześniejszych doniesieniach [14, 92, 141, 142, 143], przy czym jest to szczególnie widoczne u kobiet. Zachowana autystyczne demonstrowało 59,48% badanych, tego typu zachowania obserwowano wcześniej u większości – 53–89% pacjentów [9, 128, 129, 143]. Najczęstszym opisywanym przejawem zachowań autystycznych była powtarzalność, wręcz rytualizm w wykonywanych czynnościach. Ten typ zachowań obserwowano częściej u osób z klasycznym niż z łagodnym fenotypem. Definitywne postawienie rozpoznania autyzmu jest znacząco utrudnione z powodu braku jednoznacznych kryteriów klinicznych jego rozpoznania i zwykle głębokiego upośledzenia umysłowego. Dlatego używa się raczej określenia: zachowania autystyczne. Występujące badanej grupie, postępujące z wiekiem charakterystyczne zaburzenia snu z trudnościami w zasypianiu i skracaniem trwania snu – nawet do czterech godzin na dobę, zauważyli także inni autorzy u ponad 50% pacjentów [9, 68, 92, 157]. Odwrócenie rytmu dobowego było natomiast rzadkie, co odróżniało badaną grupę od osób z organicznym uszkodzeniem centralnego układu nerwowego.

5.9. Zgony

Pierwsza zbiorcza publikacja odnosząca się do śmiertelności w grupie osób z CdLS dotyczyła 310 amerykańskich pacjentów z CdLS [82]. Odnotowano 14 zgonów (4,5%) będących głównie wynikiem powikłań ze strony układu krążenia lub przewodu pokarmowego. Schrier i wsp. [182] dokonali podsumowania 426 zgonów osób z CdLS zarejestrowanych w amerykańskich bazach danych w latach 1966–2007. Spośród 295 zgonów, w których ustalono przyczynę, ponad 31% było wynikiem zmian w układzie oddechowym wynikających z zespołów aspiracyjnych oraz zmian zapalnych w płucach o różnej etiologii, 19% wiązało się z powikłaniami gastroenterologicznymi, a 13% było wynikiem powikłań sercowo-naczyniowych. Tylko w jednym przypadku zgon był wynikiem procesu rozrostowego (chłoniak). Zgony w okresie noworodkowo-niemowlęcym wiąza-

ły się zwykle ze współistnieniem wrodzonych wad (serca, przewodu pokarmowego), podczas gdy u osób dorosłych główną przyczyną śmierci były zmiany w układzie oddechowym.

W trakcie dziesięcioletniej obserwacji zmarło czworo dzieci z analizowanej grupy. Ponadto, w trakcie 10 lat funkcjonowania Stowarzyszenia CdLS-Polska, do Stowarzyszenia zgłoszono dodatkowo siedem zgonów, u osób z klinicznie potwierdzonym rozpoznaniem CdLS, zarejestrowanych w stowarzyszeniu. W sumie więc zarejestrowano jedenaście zgonów, pięcioro dzieci zginęło w okresie noworodkowo-niemowlęcym. W zestawieniu łącznym grupy badanej i rejestru Stowarzyszenia CdLS-Polska, większość przyczyn zgonu odpowiada danym z piśmiennictwa – dominowały krytyczne zaburzenia układu krążenia, oddychania i przewodu pokarmowego. U trzech osób przyczyną było powikłane zapalenie płuc, u kolejnych trzech – nagłe zatrzymanie krążenia w trakcie snu (nagłe śmierci łóżeczkowe) z obciążonym dodatkowo wywiadem okołoporodowym (niedotlenienie okołoporodowe), u jednego noworodka – złożona wada serca, u dwóch osób – niedrożność jelitowa z następową resekcją znacznego odcinka jelita i zapaleniem otrzewnej o piorunującym przebiegu (trzy osoby), zaś u pozostałych dwóch osób rozpoznano posocznicę powikłaną niewydolnością wielonarządową.

5.10. Okres dojrzewania i dorosłości

W ostatnich latach średnia długość życia pacjentów z CdLS uległa znaczącemu wydłużeniu. Skutkowało to pojawieniem się nowych problemów, między innymi wynikających ze obserwowanego zjawiska przedwczesnego starzenia, a także z nasileniem z wiekiem zaburzeń zachowania [82, 92, 185].

Przedstawiona w niniejszej pracy 28 osobowa grupa pacjentów z CdLS którzy ukończyli 14 lat jest trzecią pod względem wielkości z dotąd opisanych, po włoskiej [139] i amerykańskiej [92]. Wszystkie osoby z badanej grupy przebywały w środowiskach rodzinnych, co pozwoliło nie tylko na zebranie szczegółowych danych, ale także na wiarygodne określanie profilu zachowań. Zmiany dysmorficzne dokonujące się z wiekiem opisano w części dyskusji dotyczącej fenotypu. Większość opisywanych wcześniej nastolatków i osób dorosłych miała tendencję do niedowagi, Kline i wsp. [141] odnotowali nadwagę u znaczącego odsetka osób z CdLS (17%) przypisując jej wystąpienie obserwowanej w społeczeństwie amerykańskim tendencji do złych nawyków żywieniowych. W badanej grupie ten problem dotyczył jak dotąd trzech pacjentów nastoletnich. Kline i wsp. [92] wykazali, że u 90% dorosłych z CdLS zdiagnozowano GER na różnych etapach rozwoju. W badaniach własnych odsetek dorosłych, którzy odpowiadali kryteriom rozpoznania GER był także wysoki, niemal 70-procentowy, choć nieco niższy niż w grupie amerykańskiej. Należy zaznaczyć, że dokładne porównania pomiędzy różnymi grupami są mało wiarygodne ze względu na znaczące trudności diagnostyczne i niejednorodne wskazania do przeprowadzenia badań. Niektórzy autorzy podkreślają, że u części pacjentów z CdLS diagnoza była stawiana dopiero przy zaawansowanych zmianach w obrębie przełyku [57, 92, 110]. Zwracano przy tym uwagę na zwiększone ryzyko powstania przełyku Barretta, szczególnie u mężczyzn [152, 191], w badanej grupie taki przypadek stwierdzono na razie tylko u pacjentki w 12 rż. W ostatniej dostatnich latach wobec ograniczonej/niezadowolającej skuteczności leczenia zachowawczego, zabiegi antyrefluksowe, z przewagą zastosowania technik laparoskopop-

wych, są coraz powszechniej rekomendowane u pacjentów dorosłych. W zbiorczym opracowaniu Kline i wsp. z 2007 roku, dotyczącym dorosłych z CdLS, leczenie zachowawcze zastosowano u 43% zaś operacyjne u 57% pacjentów [92]. Znaczącym problemem obserwowanym u osób dorosłych była tendencja do zaparć, z niewielką reakcją na stosowane leki prokinetyczne i dietę. W badanej grupie zaparcia występowały u 36% pacjentów, co jest zgodne z około 40-procentowym odsetkiem udokumentowanym w zestawieniu pacjentów amerykańskich [92] i włoskich [185]. Z danych z piśmiennictwa wynika ponadto, że u dorosłych z CdLS znacznie częściej niż w populacji rozpoznawano zapalenie pęcherzyka żółciowego [92, 152, 185]. Jak dotąd nie stwierdzono takiego przypadku w badanej grupie, chociaż ultrasonograficznie potwierdzono obecność kamieni żółciowych u dwóch pacjentek. Długotrwała obserwacja pacjentów wskazuje na pogłębiającą się z wiekiem skoliozę, powstawanie palucha koślawego (*hallux valgus*), koślawości kolan i tendencję do nadmiernego wysklepienia śródstopia i płaskostopia, co podkreślali także inni autorzy [82, 92, 167]. Wcześniejsze raporty wskazywały na częstsze niż w populacji występowanie choroby Perthesa [92, 167], co rozpoznano w badanej grupie u jednej pacjentki. W większości opracowań dotyczących CdLS, dominuje przekonanie, że zaburzenia układu krążenia nie stanowią istotnego klinicznie problemu u nastolatków i dorosłych, co potwierdzają przeprowadzone badania własne. Obserwacje innych autorów wskazywały na brak istotnych powikłań hemodynamicznych u dorosłych osób operowanych w dzieciństwie z powodu wad serca [82, 92, 187]. Wszyscy opisani w pracy pacjenci powyżej 14 rż nie przebyli zabiegów kardiochirurgicznych w dzieciństwie nie wykazywali cech niewydolności krążenia. Nie odnotowano również niedokrwienia mięśnia serca, nadciśnienia tętniczego oraz zaburzeń rytmu serca, sporadycznie prezentowanych na konferencjach naukowych jako przypadki kazuistyczne. Niejasna przyczynowo jest natomiast obserwowana zarówno w badanej grupie, jak i przez Kline i wsp. [92] skłonność do oziębienia i drętwienia dystalnych fragmentów kończyn, zwłaszcza u mężczyzn Selicorni i wsp. [185] wskazywali na występowanie zmian anatomicznych nerek i dróg moczowych u niespełna 30% pacjentów, z tendencją do rozwoju u części z nich niewydolności nerek. W badanej grupie ultrasonograficzne zmiany nerek stwierdzono u ponad 20% osób, jednakże nie stwierdzono u tych pacjentów cech niewydolności nerek. Wczesne występowanie zaćmy oraz przyspieszony rozwój zmian refrakcji soczewki, są powszechnie zaliczane do cech przedwczesnego starzenia, często opisywanych u osób z CdLS [82, 92, 134, 211]. Zaćmę stwierdzono jak dotąd tylko u dwóch pacjentów. Zaburzenia napięcia mięśniowego, przejawiające się zwykle jego wzmożeniem występowały niemal powszechnie u nastolatków i dorosłych, ale stopień nasilenia objawów spastycznych nie był znaczący i nie utrudniał znacząco lokomocji, co podkreślają także inni autorzy [82, 92, 139, 185]. Większość osób dorosłych poruszała się samodzielnie. U badanych dorosłych z CdLS, u których wcześniej nie odnotowano napadów padaczkowych, nie stwierdzano ich także w okresie dorosłości. Według danych Kline i wsp. [92] częstość występowania padaczki w grupie dorosłych pacjentów z zespołem CdLS wynosiła 26%, także według tego opracowania w większości pierwsze napady pojawiły się przed okresem dojrzewania. W obserwowanej grupie powyżej 14 rż w przypadku kiedy rozpoznanie padaczki było postawione w okresie dzieciństwa z powodzeniem stosowano monoterapię co było zgodne z innymi obserwacjami [139, 141]. Z wiekiem narastały natomiast zaburzenia zachowania, zwłaszcza skłonność do agresji i autoagresji [9, 14], co potwierdzały również własne obserwacje. Własne badania wskazywały, że tendencja do tego typu zachowań była bardziej powszechna wśród kobiet. Niebagatelny, podkreślany przez wielu autorów był związek

akceleracji agresji i autoagresji z nasileniem refluksu żołądkowo-przełykowego. Dalszej obserwacji wymaga pojawianie się nasilonej agresji i innych zaburzeń zachowania u kobiet w wieku 21–24 lat.

5.11. Fenotyp łagodny

Zakwalifikowanie danej osoby z fenotypem CdLS do klasycznej lub łagodnej postaci zespołu ma podstawowe znaczenie w prognozowaniu jakości życia. Jednak rozpoznanie przypadków łagodnych jest znacznie trudniejsze i wymaga dużego doświadczenia klinicznego. O ile w badanej grupie u pacjentów z klasyczną postacią rozpoznanie stawiano wkrótce po urodzeniu (średnio w trzecim miesiącu), to rozpoznanie postaci łagodnej miało miejsce średnio około 2,8 rż. W postaci klasycznej molekularne potwierdzenie diagnozy szacowane jest się na 60–80% [16, 17, 59, 154, 186, 214], natomiast w postaci łagodnej ta zależność dotyczy jedynie 25–30% pacjentów [108, 141, 185]. W przedstawionym materiale klasyczny fenotyp potwierdzono molekularnie u 83,72% łagodny jedynie w 16,28%. Interesującym spostrzeżeniem własnym wydaje się istotna przewaga płci żeńskiej wśród osób z fenotypem klasycznym, przy odwrotnej proporcji płci w postaci łagodnej zespołu, przy czym, jak wspomniano wyżej, porody przedwczesne dziewczynek odnotowano częściej niż chłopców. Nie można wykluczyć, że względna przewaga liczbowa płci żeńskiej z fenotypem klasycznym jest pochodną częstszego występowania letalnych wad u płodów męskich. Przy dotychczas marginalnym odsetku rozpoznań zespołu CdLS w badaniach prenatalnych i braku wiarygodnych danych dotyczących przyczyn przedwczesnego samoistnego obumarcia płodu ustalenie faktycznych przyczyn odmiennych proporcji płci u osób z fenotypem klasycznym lub łagodnym nie jest aktualnie możliwe i wymaga dalszych obserwacji. Zarówno odsetek niepowodzeń rozrodu jak i przebieg ciąży oraz czas jej trwania i odsetek porodów przedwczesnych był zbliżony w obu grupach. O ile średnie urodzeniowe masy ciała i długości były znacząco niższe u osób z klasycznym fenotypem o tyle średnie obwody głowy po urodzeniu były porównywalne. Można więc uznać, że mikrocefalia jest typowa dla zespołu, niezależnie od jego postaci. Stan noworodków różnił się znamienne w grupach – noworodki z postacią klasyczną częściej demonstrowały zaburzenia adaptacyjne, co było widoczne także w innych opracowaniach [1, 141]. Interesująca jest obserwacja dotycząca zbliżonej częstości występowania zaburzeń ssania w obu grupach, co dowodzi, że ten parametr można uznać za patognomiczny dla zespołu, niezależnie od jego postaci. Znaczącą mikrosomię odnotowano jedynie wśród osób z postacią klasyczną. Wieloletnie obserwacje własne pacjentów z łagodną postacią zespołu pozwoliły na wyodrębnienie kilku postaci klinicznych. Grupę pierwszą stanowili pacjenci u których ewidentnym cechem dysmorficznym obecnym od urodzenia odpowiadał względnie dobry rozwój psychomotoryczny. W tych przypadkach charakterystyczna, typowa dla okresu noworodkowego dysmorfia twarzy zmieniała się z wiekiem, co w znaczącym stopniu utrudniało postawienie rozpoznania postaci łagodnej zespołu u dzieci starszych. Dostęp do dokumentacji zdjęciowej z okresu niemowlęcego oraz wczesnego dzieciństwa może zatem w takich przypadkach stanowić klucz do stawiania rozpoznania. Drugą grupę stanowili pacjenci, u których dysmorfia ujawniała się wyraźniej po ukończeniu przez dziecko trzeciego rż. Spośród cech, które miały w takich przypadkach znaczenia należy wymienić: charakterystyczny układ brwi, często z synophrys, nos z zapadniętą nasadą i szerokimi nozdrzami, wydatną

wargę górną, podniebienie gotyckie. Trzecią grupę stanowili dorośli demonstrujący słabo wyrażone cechy u których cechy dysmorficzne typowe dla CdLS były słabo zaznaczone, ale fenotyp CdLS zidentyfikowano w okresie dziecięcym. Na warianty łagodnego fenotypu CdLS i związane z nimi implikacje diagnostyczne zwracali uwagę także inni badacze [36, 164, 185]. W publikacji Olivera i wsp. [141], w grupie 66 pacjentów opisanych przez Ceredę i wsp. z łagodną postacią CdLS, u sześciu pacjentów (9%) tej grupy rozwój oceniono jako prawidłowy. Dane te kontrastują z wieloletnimi obserwacjami własnymi, w których nie znaleziono pacjenta z rozpoznaniem CdLS bez upośledzenia rozwojowego. U osób z klasyczną postacią zespołu, charakterystycznym cechem dysmorfologicznym znamienne częściej towarzyszyły, refluks żołądkowo-przełykowy (GER), wady ubytkowe kończyn, niedosłuch, znaczne upośledzenie rozwoju z brakiem rozwoju mowy. Natomiast odsetek wad serca, wad układu moczowo-płciowego, zaburzeń wzroku, zaburzeń endokrynologicznych, zaburzeń neurologicznych z padaczką włącznie był zbliżony u pacjentów z fenotypem klasycznym i łagodnym, co odpowiada danym z wieloośrodkowego zestawienia zbiorczego opublikowanego w 2010 r. [141].

5.12. Korelacja genotyp-fenotyp

Punktem zwrotnym, otwierającym horyzont analizy korelacji genotyp-fenotyp, było powiązanie fenotypu CdLS z obecnością mutacji genu *NIPBL* przez dwie grupy badawcze w roku 2004 [99, 196]. W kolejnych publikacjach próbowano przypisać niektórym cechom fenotypowym związek z mutacjami genu *NIPBL* [16, 17, 59, 92, 126, 134, 154, 169, 181, 185, 214], jednakże mała liczebność grup oraz fakt, że większość z badań nie miała charakteru kompleksowego. utrudniały wysunięcie ostatecznych wniosków. Tylko kilka z dotąd opublikowanych zestawień zawierały w miarę szczegółową i opartą na zbliżonych kryteriach klinicznych analizę genotyp-fenotyp [16, 59, 92, 154, 185].

Częstość mutacji genu *NIPBL* była w badanej grupie zbliżona do prezentowanej w innych zestawieniach, gdzie wynosiła od 30 do 56% [16, 17, 59, 92, 154, 185, 214]. Analiza molekularna pozwoliła na identyfikację wariantów mutacji genu *NIPBL* u 40 pacjentów (54,05%). Osiem z mutacji (20%) opisano już wcześniej, przy czym dwie kilkakrotnie. (c.3060_3063 delAGAG, c.6892C>T) [16, 59]. U trzech spośród wszystkich pacjentów (4,05%) stwierdzono utratę całego allelu lub fragmentu obejmującego kilka eksonów. W innych doniesieniach częstość występowania tego typu dużych rearanżacji oceniano na mniej niż 5% [15, 130, 151, 169]. W przedstawionym materiale nie stwierdzono mutacji genu *SMC1A*, opisanego w innych opracowaniach u niespełna 5% pacjentów z CdLS. [18, 132, 154].

Przeprowadzona w powyższej pracy analiza porównawcza pacjentów z obecnością mutacji M+ Lu jej brakiem M-, oparta na stosunkowo dużej, 74-osobowej grupie pacjentów ewidentnie wskazuje, na cięższy klinicznie obraz choroby u pacjentów M+ oraz znamienne częstsze występowania charakterystycznych cech CdLS. Wykazanie istotnej przewagi fenotypu klasycznego u pacjentów M+ jest zgodne z doniesieniami innych autorów [16, 154, 185]. Oryginalnym spostrzeżeniem jest istotnie częstsze występowanie mutacji punktowych u osób płci żeńskiej. Można hipotetycznie wnioskować, że chłopcy z mutacjami punktowymi reprezentują cięższy klinicznie przebieg choroby i umierają w okresie pre- lub perinatalnym bez postawienia rozpoznania. Średni wiek matek noworodków M+ był istotnie niższy niż matek noworodków M-. Jak dotąd nie

znaleziono podobnego zestawienia, trudno więc odnieść się krytycznie do tej obserwacji. Natomiast odsetek niepowodzeń rozrodu był porównywalny w obu grupach. Zanotowano istotnie krótszy średni czas trwania ciąży oraz wyższy odsetek porodów wcześniaczych w grupie M+. Może to tłumaczyć fakt, że średni test Apgar, oceniający stan noworodków po porodzie był zmiennie niższy w grupie M+ oraz, że w tej także grupie stwierdzono przewagę noworodków z niską punktacją (6 i poniżej) świadczącymi o poważnych zaburzeniach adaptacyjnych.

Wyniki początkowych badań zawarte w pierwszej publikacji dotyczącej 28-osobowej grupy polskiej [214] wskazujące na istotnie niższą średnią masę ciała po urodzeniu u pacjentów M+ zostały potwierdzone w grupie 74 prezentowanych pacjentów, a wcześniej w 62-osobowej grupie włoskiej [185] i 11-osobowej grupie hiszpańskiej [154]. Ponownie należy zaznaczyć fakt, że aż 41,9% badanych noworodków M+ urodziło się przedwcześnie, co bez wątpienia wpływało na niższą średnią masę ciała przy urodzeniu. Także średnia długość ciała oraz obwód głowy były niższe w grupie M+.

Wzrost poniżej trzeciego percentyla dla populacji istotnie częściej stwierdzono u pacjentów M+, co potwierdziło dane Gillis i wsp. Bhuiyana i wsp., a także Selicorniego i wsp. [16, 59, 185]. Posługując się klasyfikacją Kline i wsp. [91] wzrost poniżej 25 percentyla odnotowano wyłącznie u pacjentów M+. Selicorni i wsp. [185], posługując się tą samą klasyfikacją, odnotowali statystyczną przewagę odsetka osób ze wzrostem powyżej 75 percentyla wśród pacjentów M-, ale w badanej grupie takiej zależności nie stwierdzono.

Pośród cech dysmorficznych, które istotnie częściej stwierdzono u osób M+ w porównaniu do M- należy wyróżnić: postnatalne małogłowie, niską linię owłosienia, „pędzelkowate” brwi i szerokie rozstawienie nozdrzy. Zaobserwowano również tendencję do częstszego występowania rozszczepu podniebienia, co zauważyli także Kline i wsp. [92], ale w obu badaniach nie stwierdzono statystycznej znamienności różnic międzygrupowych. Z kolei, niskie osadzenie uszu istotnie częściej zauważono u pacjentów M-. W badaniach własnych stwierdzono co prawda wyższy odsetek wad ubytkowych kończyn górnych w grupie M+, ale był on nieistotny statystycznie. Podobnie, nieznamienną tendencję wskazującą na przewagę liczbową wad ubytkowych kończyn w grupie M+ ujawnili Gillis i wsp. [59] oraz Bhuiyan i wsp. [16]. Natomiast istotnie częstsze występowanie wad ubytkowych kończyn w grupie M+ udokumentowali Selicorni i wsp. [185] oraz Kline i wsp. [92]. W badaniach własnych zwrócono również uwagę na przewagę występowania drobnych dłoni i stóp oraz klinodaktylii V palca u pacjentów M+. Refluks żołądkowo-przelykowy (GER) zmiennie częściej występował u pacjentów M+, co jest zgodne z doniesieniem Bhuiyana i wsp. [16] oraz obserwacjami Schoumans i wsp. [181]. W badaniach własnych nie znaleziono istotnych różnic częstości występowania wad rozwojowych między osobami M+ i M-. Nieznamienna tendencja do wyższej częstości występowania: wad serca i nerek oraz niedosłuchu u pacjentów M+, którą uwidoczniono na ryc.17, najprawdopodobniej nie ma charakteru przypadkowego, gdyż jest zgodna z analogicznymi danymi przedstawionymi przez Selicorniego i wsp. [185]. Ponadto, w analizowanej grupie zaznaczyła się przewaga występowania ptozy u pacjentów M+, nie była jednak statystycznie znamienna, podobnie jak w doniesieniu Nallasamy i wsp. [134]. Ciekawa jest obserwacja, że pacjenci M+ istotnie szybciej osiągnęli zdolność samodzielnego siadania, ale później umiejętność samodzielnego chodzenia. Można zaryzykować stwierdzenie, że rozwój motoryczny niemowląt M+ w pierwszych miesiącach postępował w miarę harmonijnie, a w miarę upływu czasu zaznaczało się opóźnienie w stosunku do rozwojowych norm wiekowych, wymaga to jednak dalszych wielośro-

kowych obserwacji. We wcześniejszych analizach rozwoju, uwzględniających osoby powyżej czwartego rż, odnotowano, że znacznego stopnia opóźnienie rozwoju istotnie częściej występowało u pacjentów M+ [59, 185]. Sugerują to także prezentowane wyniki badań, jakkolwiek różnice między grupami M+ i M- nie były znamienne. Obserwowana tendencja do częstszego braku rozwoju mowy oraz niedosłuchu u osób M+, jest zbieżna z raportem Pio i wsp. [154], w którym wykazano przewagę niedosłuchu w tej grupie pacjentów. Selicorni i wsp. [185] wykazali nie tendencję, a istotną przewagę braku rozwoju mowy u pacjentów M+. W świetle obserwacji własnych i danych z piśmiennictwa zależność między występowaniem nieprawidłowych wzorców zachowania a obecnością mutacji *NIPBL* jest dyskusyjna. W opracowaniu Bhuiyana i wsp. [16] wykazano statystyczną przewagę zachowań autystycznych wśród pacjentów M+, ale nie potwierdzono tego w prezentowanych badaniach.

Obiektywnym niedostatkiem analizy grupy badanej była jej ograniczona liczebność, wynikająca z rzadkości występowania zespołu. Podjęto zatem próbę zbiorczego podsumowania danych własnych z wcześniej opublikowanymi zestawieniami [16, 59, 154, 181, 185]. Wyzwaniem dla przeprowadzenia szerokiej metaanalizy, okazały się fragmentaryczność większości dostępnych danych i nierzadko niespójne kryteria identyfikacji wybranych cech obrazu klinicznego. Ostatecznie, w porównaniach przedstawionych w tab. 15 przyjęto kryteria oceny fenotypu zastosowane wcześniej przez Gillis i wsp. [59], zmodyfikowane przez Bhuiyana i wsp. [16], zwracając przede wszystkim uwagę na: masę urodzeniową, wzrost (wg skali Kline i wsp. [91]), stopień redukcji kończyn, obecność refluku żołądkowo-przełykowego, stopień upośledzenia rozwoju, rozwój mowy i obecność zachowań autystycznych. Wyniki porównawczej analizy zbiorczej ujawniły, że spośród porównywanych cech jedynie trzy miały charakter różnicujący osoby M+ i M-. U osób M+ istotnie częściej stwierdzano: niski wzrost poniżej 25 percentyla wg siatek CDLS, niedosłuch lub głuchotę i refluku żołądkowo-przełykowy (GER).

W dotychczasowych publikacjach najczęściej stwierdzano mutacje *NIPBL* typu *missense* (około 30%), mutacje skutkujące skróceniem produktu białkowego: *frame-shift* (do 30%) i *nonsense* (około 20%). Ponadto, stosunkowo często występowały mutacje typu *splice site* występowały u ok. 15%, zaś mutacje *in-frame* identyfikowano sporadycznie, w 2–3% mutacji *NiPBL* [17, 18, 59, 140, 154, 185, 214]. Interesującym spostrzeżeniem jest w znacznej mierze odmienny rozkład typu mutacji *NIPBL* w ocenianej grupie polskich pacjentów z CdLS. Przy podobnym, 50-procentowym odsetku mutacji ze skróceniem produktu białkowego, stwierdzono dwukrotnie częstsze od oczekiwanej, bo aż 40-procentowe, występowanie mutacji typu *missense*. Zwraca także uwagę, mniejsza niż w danych referencyjnych częstość występowania mutacji *splice site* (7,5%), a także dwukrotnie mniejszy odsetek mutacji *nonsense* wśród mutacji *truncating*, skracających produkt białkowy (1/5).

Dotychczasowe badania molekularne wskazują na zdecydowanie nierównomierne rozmieszczenie mutacji w obrębie genu *NIPBL*, przy czym większość mutacji to zmiany punktowe występujące często we fragmencie kodującym ewolucyjnie zakonserwowane domeny HEATi [89, 99, 108, 138, 181, 192, 196]. W przedstawionym materiale dziewięć mutacji – cztery *frameshift* (10, 11, 12, 13) dwie *nonsense* (18, 19) trzy *missense* (33, 34, 35) znajdowało się w pobliżu domen z powtórzeniami HEAT. Ponadto pięć – trzy *frame shift* (14, 15, 16) jedna *nonsense* (20), jedna *missense* (36) zlokalizowane były

w pobliżu końca C. Tym samym ponad 30% mutacji znajdowało się w obszarze uznanym za konserwatywny. Wszystkie skutkowały klasycznym fenotypem.

Jak przedstawiono we wstępie, badania na heterozygotycznych modelach zwierzęcych dowiodły, że skrócenie produktu białkowego, bądź znaczny jego niedobór prowadzą do niezdolności białka NIPBL do prawidłowego kontrolowania kohezji (oraz do zaburzeń ekspresji wybranych genów [42, 88, 89, 108, 133, 166]. Autorzy sugerowali, że taki rodzaj mutacji, determinuje rozwój wad rozwojowych i znaczne upośledzenie rozwoju, co w efekcie daje obraz klasycznej postaci zespołu. Rzeczywiście udało się wykazać, że mutacje skutkujące skróceniem produktu białkowego wiązały się z cięższym fenotypem, podczas gdy mutacje typu *missense* czy *in-frame* wykazywały łagodniejszą ekspresję kliniczną [16, 59, 185].

Wyniki badań własnych jednoznacznie potwierdzają cięższy obraz kliniczny osób z mutacjami genu *NIPBL* skutkującymi skróceniem produktu białkowego (*truncating*).

Analiza korelacji wykazała, że w prezentowanej grupie, mutacje genu *NIPBL* skutkujące skróceniem produktu białkowego (*truncating*), które stanowiły 50% wszystkich mutacji punktowych, determinowały niekorzystny obraz kliniczny zespołu CdLS. Klasyczny fenotyp zespołu charakteryzował wszystkich 16 pacjentów z mutacją typu *frame shift* i wszystkich badanych z 4-osobowej podgrupy z mutacją typu *nonsense*.

Porównując dane pacjentów z mutacjami ze skróceniem produktu białkowego z mutacjami *missense* i *splice-site*, odnotowano istotnie wyższy odsetek porodów przedwczesnych wśród pacjentów z mutacjami *missense* i *splice site*.

Gillis i wsp. i Bhuiyan i wsp. [16, 59] stwierdzili istotnie większy postnatalny niedobór wzrostu u osób z mutacjami skutkującymi skróceniem produktu białkowego w porównaniu do pacjentów z mutacjami typu *missense*. Różnicą którą wykazano w badanej grupie był istotnie wyższy odsetek osób powyżej 75 percentyla w grupie *missense* i *splice-site*. Fenotyp mutacji *truncating* był u wszystkich pacjentów wyrazisty, zawierał typowe odrębności budowy twarzy, zawsze obserwowano mikrosomię. Powszechnie wiadomo, że wygląd twarzoczaszki jest jedną z najbardziej oczywistych cech indywidualnych o największym potencjale identyfikującym jednostkę. Swoista dysmorfia obserwowana u osób z CdLS w znacznej mierze zaciera różnice indywidualne. Nie mniej jednak wieloletnie obserwacje i nieliczne dane z piśmiennictwa [140, 164, 185] wskazują na pewne subtelne odmienności, związane z typem mutacji. Najbardziej specyficzny wygląd twarzy można przypisać osobom z mutacjami typu *nonsense*. U tych pacjentów przykuwały uwagę szczególnie wyrażenie zaznaczony synophrys z trójkątnie ustawionymi brwiami, drobny, zadarty nos i mikrognatia.

U pacjentów z mutacjami skracającymi produkt białkowy zaobserwowano także częstsze występowanie nisko osadzonych uszu niż u chorych z mutacjami *missense* i *splice site*, natomiast nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie innych cech dysmorficznych. Wyrazem cięższego obrazu klinicznego u osób z mutacjami skracającymi produkt białkowy był wyraźnie gorszy profil rozwojowy. Porównując pacjentów powyżej czwartego rz. stwierdzono, że osoby z mutacjami *truncating* istotnie później osiągały zdolność chodzenia niż badani z mutacjami *missense* i *splice-site*. Niekorzystny obraz uzupełniało znamienne częstsze występowanie zaburzeń przewodu pokarmowego u pacjentów z mutacjami skracającymi produkt białkowy. Odsetek zaburzeń odruchu ssania u noworodków był co prawda porównywalny w obydwu grupach to jednak okres utrzymywania sondy dożołądkowej, częstość występowania refluku żołądkowo-przełykowego (GER), jak również odsetek przypadków z powikłanym przebiegiem GER był największy wśród pacjentów *truncating*. Ponadto, zwraca uwagę dwukrotnie więk-

sza częstość występowania wad ubytkowych kończyn górnych u tych pacjentów oraz występowanie wyłącznie w tej grypie dysplazji stawów biodrowych. Pacjenci z mutacjami *truncating* prezentowali ponadto najwyższy w porównaniu do innych mutacji odsetek znacznego upośledzenia rozwoju i braku rozwoju mowy oraz głęboki niedosłuch.

Podsumowując obserwacje własne potwierdzają sugestie Gillis i wsp. [59] Selicorniego i wsp. [185] oraz Kline i wsp. [92], Oliveiry i wsp. [140], że pacjenci z mutacjami skracającymi produkt białkowy prezentują istotnie najcięższy fenotyp, przebiegający z głębokim upośledzeniem rozwoju, wadami ubytkowymi kończyn, znacznym niedosłuchem, brakiem rozwoju mowy, ciężkimi zaburzeniami ze strony przewodu pokarmowego. Można przyjąć, że mutacje skrócenia produktu białkowego skutkują znaczącą utratą funkcji białka i prowadzą do rozwoju klasycznego fenotypu CdLS, co potwierdza hipotezę Strachana [192].

Przy nadal niewielkiej liczbie badań molekularnych opisanych u osób z CdLS zidentyfikowanie cech fenotypowych odróżniających od siebie konkretne mutacje punktowe, których opisy mają zwykle charakter kazuistyczny, jest w większości przypadków niemożliwe. Niektóre z mutacji rozpoznanych w prezentowanej grupie zostały scharakteryzowane wcześniej, co umożliwia podjęcie orientacyjnej próby analizy porównawczej. Mutację opisaną wcześniej u portugalskiej pacjentki [140] w eksonie 9 (c.1441_1448delGAGA) [154] stwierdzono w badanej grupie u dziewczynki ze współistnieniem kariotypu mos 45,X/XX. Ekson 9 należy do największych, a rozmiar eksonu koreluje ze znaczną liczbą znajdujących w nim mutacji skutkujących skróceniem produktu białkowego [154, 185]. Mutacje eksonu 9 znajdowano także w komórkach somatycznych u chorych z rakiem jelita grubego [6]. Może to świadczyć że mutacje zlokalizowane w tym obszarze skutkują defektem kohezji chromatyd siostrzanych, skutkujących niestabilnością chromosomów. Zlokalizowana w eksonie 10 mutacja (c.3060_3063 del AGAG) została opisana uprzednio dwukrotnie [16,59] nie przedstawiono jednak opisu klinicznego, co uniemożliwia porównanie pacjentów. Fenotyp zlokalizowanej w pobliżu końca C w eksonie 44 mutacji (c.7439_7440delA) opisali także Pio i wsp. [154]. Głębokie upośledzenie umysłowe i brak rozwoju mowy, typowe cechy dysmorfii twarzy, ograniczenie ruchów w stawach łokciowych, niedosłuch, dysplazja obu nerek oraz refluks żołądkowo-przelykowy korespondował z analogicznym zestawem cech u pacjentki z badanej grupy, u której zidentyfikowano identyczną mutację. U pacjentki opisanej przez Pio i wsp.[154] stwierdzono ponadto lewostronną monodaktylię natomiast u przedstawionej pacjentki stwierdzono jedynie symetryczną hipoplazję kości śródreczą i paliczków.

Mutacja *nonsense* zlokalizowana w eksonie 26 (c.5167 C>T), którą zidentyfikowano u jednego pacjenta z klasycznym fenotypem, została wcześniej opisana przez Nallasa-my'ego i wsp. [134] którzy także opisywali klasyczną postać kliniczną zespołu. W obydwu przypadkach-stwierdzono miopię, zez, jednostronne opadanie powieki oraz oczopląs.

Obraz kliniczny dotychczas opisanych-pacjentów z mutacjami typu *splice site* był zróżnicowany – od postaci łagodnych, bez wad narządowych do postaci klasycznych, z wadami ubytkowymi kończyn. Sugerowano, że cięższy fenotyp reprezentowali pacjenci z utratą eksonów zlokalizowanych bliżej końca C [59, 154, 185, 196], chociaż opisywano także klasyczne fenotypy w mutacjach zlokalizowanych poza końcem C, np. skutkujących utratą eksonu 19 [154, 181]. W prezentowanej grupie stwierdzono jedynie trzy mutacje *splice site*, co nie pozwala na wysunięcie uogólnionych wniosków odnośnie

wpływu tego rodzaju mutacji i jej szczegółowej lokalizacji na cechy fenotypowe. Dwoje pacjentów, z uszkodzeniem miejsca donorowego bądź akceptorowego dla procesu składowania skutkującego delecją eksonu 16 (c.3855+1 delG) oraz 33 (c.5863-1G>C) wykazywało fenotyp łagodny, bez wyraźnych wad narządowych, przy czym oboje potrafili porozumiewać się prostymi zdaniami. Trzeci (c. 5575-2delA, z uszkodzeniem miejsca akceptorowego skutkującego delecją eksonu 30) wykazywał znacznie cięższy fenotyp kliniczny z typową mikrosomią i dysmorfia, wadami ubytkowymi kończyn, głębokim upośledzeniem i brakiem rozwoju mowy. Jak dotąd u pacjentów z mutacjami typu *missense* lub *in-frame* autorzy obserwowali generalnie łagodniejszy obraz kliniczny [16, 59, 181, 185]. Uzasadniano, że ww. mutacje, nie powodując zaburzeń kohezji chromatyd siostrzanych, wpływały jedynie na nieprawidłową ekspresję genów [55,108]. W tym kontekście, zwraca uwagę obserwacja Gillis i wsp. [59], którzy wykazali istotnie lepszy rozwój psychomotoryczny i rzadsze występowanie wad ubytkowych kończyn u osób z mutacją typu *missense* w porównaniu do mutacji skracających produkt białkowy. Także z trzech pacjentów z mutacjami *missense* opisanych przez Selicorniego i wsp. [185], dwóch prezentowało łagodny fenotyp zespołu. Analizując fenotyp badanych pacjentów z mutacjami *missense* wykazano, że był on co prawda łagodniejszy niż fenotyp mutacji skracających produkt białkowy, nie mniej jednak obraz kliniczny aż 75% pacjentów odpowiadał klasycznej postaci zespołu.

Dwie z przedstawionych w pracy mutacji typu *missense* były zlokalizowane w eksonie 9 genu *NIPBL*, o znaczeniu którego wspomniano wyżej omawiając mutacje skracające produkt białkowy. Jedna skutkowała fenotypem umiarkowanym (c.1051C>A), podczas gdy druga fenotypem klasycznym, z wrodzoną złożoną wadą serca (c.1071A>C). Tylko jedna z mutacji *missense* zlokalizowana była w eksonie 10 (c.2603G>A) i skutkowała fenotypem klasycznym. Mutację typu *missense* zlokalizowaną w eksonie 20 (c.4321G>T) potwierdzono u jednej pacjentki w badanej grupie, zaś identyczną analogiczną lokalizację zmiany opisali także u dziewczynki Pio i wsp. [154]. W obu przypadkach rozpoznano łagodny fenotyp, a w prenatalnym badaniu USG stwierdzono hipotrofię wewnątrzmaciczną. Szczegółowe porównanie cech fenotypowych ujawniło wyraźne różnice pomiędzy pacjentkami. Wzrost i masa przedstawionej w pracy pacjentki przekraczała 75 percentyl według siatki percentylowej dla CdLS), podczas gdy u dziecka opisanego przez Pio i wsp. obserwowano znaczny niedobór wzrostu. Prezentowana w pracy pacjentka wymawiała proste zdania, potrafiła napisać litery, zaś badanie NMR mózgowia nie wykazało patologii. Poza nieistotną hemodynamicznie niedomykalnością zastawki mitralnej oraz hypoplazją kości śródreczę i paliczków nie stwierdzono u niej innych wad narządowych. U pacjentki opisanej przez Pio i wsp. stwierdzano natomiast wyraźne opóźnienie rozwoju psychomotorycznego, a w badaniu NMR uwidoczniono korowo-podkorowe zaburzenia mielinizacji, jednak także w tym przypadku nie stwierdzono istotnych wad kończyn, jedynie drobne dłonie i stopy.

Mutacje: c.3616G>A, c.4015T>C oraz c.4306A>C, nie znajdowały się w pobliżu konserwatywnych ewolucyjnie domen mimo to skutkowały klasycznym fenotypem. U czterech pacjentów z mutacjami *missense* zlokalizowanych w pobliżu pierwszej domeny HEAT. (c.5164A>C), między 4 a 5 domeną HEAT (c.6892 C>T i c.6935 G>T) oraz w pobliżu końca C (c.7297 G>A) zgodnie z przewidywaniem stwierdzono fenotypy odpowiadające klasycznej postaci zespołu. Wszystkie skutkowały: znacznym opóźnieniem rozwoju, niedosłuchem, rozszczepem podniebienia, ptozą, refluksem żołądkowo-przełykowym. Należy dodać, że mutację, c.6892C>T zidentyfikowano dotychczas kilkakrotnie [59, 92, 185], odnotowując zróżnicowanie postaci klinicznej. Z obrazem feno-

typu klasycznego obserwowanym u jednego pacjenta w badanej grupie, kontrastują raporty Selicorniego i wsp. [185], którzy rozpoznali w jednym przypadku umiarkowane upośledzenie rozwoju i wadę serca oraz Kline i wsp. [92], gdzie mutację stwierdzono u osoby z fenotypem umiarkowanym, z niskorosłością, umiarkowanym upośledzeniem rozwoju, wadą serca (VSD) i hipoplazją kości promieniowej. Istotną ubytkową wadę kostną – monodaktylię, prezentował jedynie pacjent z aktualnie analizowanej grupy.

Ewidentny brak swoistości fenotypowej zależnej od lokalizacji punktowych poszczególnych typów mutacji wskazuje że także inne czynniki wywierały znaczący wpływ na kształtowanie się fenotypu. Łagodniejszy przebieg zespołu u pacjentów z mutacjami *missense*, odnotowywany w części opisów klinicznych zespołu, skłonił do porównania cech klinicznych tej grupy z pacjentami z fenotypem CdLS bez mutacji. Istotnie nie stwierdzono znaczących różnic między grupami z wyjątkiem parametrów antropometrycznych po urodzeniu. Rozpatrując fenotyp mutacji typu *missense* wzięto także pod uwagę działanie innych czynników mogących zaburzać organogenezę. W dwóch przypadkach z potwierdzonymi mutacjami typu *missense* udowodniono dodatkowe działanie czynnika teratogennego w ciąży (alkohol). Pacjent nr 24, obecnie czteroletni wykazuje zaskakująco dobry rozwój psychomotoryczny, natomiast rozwój drugiego dziecka (pacjentka nr 25) jest znacząco opóźniony. U obu pacjentów poza typowymi cechami fenotypowymi CdLS zaznaczone są jednak cechy typowe dla FAS [195] – spłaszczona środkowa część twarzy, hipoteloryzm, śladowa zmarszczka nakątna, krótkie i spłaszczone *philtrum*. U dziewczynki stwierdzono ponadto wadę serca – AVC niespotykaną w CdLS.

Dotychczasowe opisy pacjentów z mutacjami typu *in-frame* wskazują na ich generalnie łagodniejszy genotyp, zbliżony do opisywanych dla mutacji *missense*. Jedyna występująca w materiale mutacja *in-frame* (c.6653_6655 del ATA) została opisana również przez Borcka i wsp. [17]. W obu przypadkach poza typową dysmorfia i opóźnieniem rozwoju z brakiem mowy, refluksem żołądkowo-przelykowym nie stwierdzono istotnych wad narządowych.

Osobnego komentarza wymaga korelacja genotypu z obecnością wad ubytkowych kończyn u pacjentów z CdLS. Udowodniono, że delangina, produkt genu *NIPBL* jest zaangażowana w aktywację genów *Ubx* i *Cut* [108, 196]. *Ubx* jest genem supresorowym dla rozwoju kończyn w okresie embriogenezy, działa poprzez hamowanie genu *Dll*, zaangażowanego w rozwój dystalnych odcinków kończyn. Wyniki badań wskazują, że mutacje genu *Cut* odpowiadają za nieprawidłową budowę kończyn [89, 126, 108, 196]. W doświadczeniach Rollins i wsp. [165] wykonanych na muszkach owocowych (*Drosophila melanogaster*) wykazano, że heterozygotyczna utrata genu *Nipped-B* znacząco wpływała na zmianę ekspresji wyżej wymienionych genów. Udowodniono, że mutacje genu *NIPBL* wywierają wpływ na regulację ekspresji genów *Ubx* i *Cut* także u człowieka. Jak wspomniano we wstępie, wykazano w okresie embriogenezy ekspresję transkryptu *NIPBL* w zawiązkach kości łokciowych, kościach dłoni i nadgarstka [89, 99, 126, 196]. Powyższe zależności powinny więc skutkować obecnością wad kończyn, zwłaszcza górnych u większości pacjentów z mutacjami genu *NIPBL*. Od klarownego obrazu ścisłych powiązań mutacji *NIPBL* z zaburzeniami rozwoju kończyn zdecydowanie odbiegają wnioski z badań eksperymentalnych Kawauchiego i wsp. [89], którzy u heterozygotycznych płodów mysich *NIPBL*⁺ nie obserwowali wad ubytkowych kończyn, jedynie ich skrócenie. W rzeczywistości wady ubytkowe kończyn stwierdzano jak dotąd u około 30% osób z mutacjami *NIPBL*, choć nieco częściej niż u pacjentów M- [16, 17, 92, 154, 181, 185]. W przedstawionym materiale wady ubytkowe kończyn stwierdzono u 20%

osób z CdLS, w tym u 30% pacjentów z mutacjami typu *frameshift* i *nonsense*. Trzy z nich (c.415_416insTTAT; ekson 5, c.1012_1016delCAGAG; ekson 9, c.2296del A; ekson 10) znajdowały się w pobliżu końca N. Pozostałe trzy znajdowały się w zakresie konserwatywnego końca C (c.5207_5222del16; ekson 26, c.6409_6412delAAAC; ekson 37, c.7096C>T; ekson 42). Miyake i wsp. [126] stwierdzili w grupie japońskich chorych z CdLS wady ubytkowe kończyn u dwóch z trzech pacjentów z mutacjami *nonsense*, zlokalizowanymi w eksonach 10 i 12 (c.1885 C>T, c.1921 G>T, c.3346 G>T). Należy zaznaczyć, że obraz kliniczny pacjentów japońskich z mutacjami *nonsense* był zbieżny z obserwacjami własnymi – wszyscy badani prezentowali fenotyp klasyczny.

Wady ubytkowe kończyn górnych są rzadkością wśród pacjentów z mutacjami *missense*. Spośród opisanych dotąd około 140 mutacji tego typu stwierdzono je jedynie u trzech pacjentów [154, 181, 196]. Wszystkie skutkowały obustronną monodaktylią. Dwie z nich [181, 196] zlokalizowane były blisko siebie, między trzecią i czwartą domeną HEAT. Trzecia [154] była umiejscowiona w pobliżu końca C. W przedstawionej grupie u jednego pacjenta z mutacją typu *missense* (c.6892C>T) stwierdzono jednostronną monodaktylię – w tym przypadku mutacja zlokalizowana była między czwartą a piątą domeną HEAT. Tę lokalizację mutacji punktowej opisano kilkakrotnie [59, 92, 185], jednak tylko Kline i wsp. odnotowali jednostronną hipoplazję kości promieniowej.

Tabela 15. Metaanaliza cech fenotypowych pacjentów M+ i M- dane własne i piśmiennictwo
Table 15. Comparison of some clinical data M+ and M- patients – this study and literature

Dane kliniczne <i>Clinical data</i>	Badania własne <i>This study</i>		Piśmiennictwo* [16, 59, 154, 181, 185] <i>Literature [16, 59, 154, 181, 185]</i>		p – poziom istotności <i>p – Value</i>
	M+	M-	M+	M-	X
Liczba pacjentów <i>Number of patients</i>	43	31	124	138	
Wzrost <i>Height</i>					
I >P75 dla CdLS, >75 for CdLS(I)	7	11	14	39	0,3164
II >P25-75 dla CdLS, 25-50 for CdLS	28	22	52	35	0,6665
III <P25 dla CdLS, <25 for CdLS	8	0	20	13	0,0185
Redukcja kończyn górnych <i>Upper limb reduction</i>					
I Brak aplazji, <i>Lack of aplasia</i>	28	21	72	79	0,2498
Obecne >2 palców dłoni, >2 <i>fingers</i>	6	4	13	12	0,6678
Obecne < 2 palce dłoni, <2 <i>fingers</i>	9	6	27	10	0,3585
Wady serca <i>Heart malformations</i>	14	7	16	15	0,2810
Wada nerek i dróg moczowych <i>Nephrourological malformations</i>	13	10	7	4	0,6933
Wada wzroku. <i>Eye malformations</i>	16	21	7	14	0,4584

Dane kliniczne <i>Clinica data</i>	Badania własne <i>This study</i>		Piśmiennictwo* [16, 59, 154, 181, 185] <i>Literature [16, 59, 154, 181, 185]</i>		p – poziom istotności <i>p – Value</i>
	M+	M-	M+	M-	
Niedosłuch <i>Hypacusis</i>	30	13	6	11	0,0140
Refluks żołądkowo-przelykowy <i>GER</i>	34	18	26	30	0,0476
Rozszczep podniebienia <i>Cleft palate</i>	17	7	8	7	0,2677
Upośledzenie rozwoju <i>Developmental delay</i>					
I Łagodne <i>Mild</i>	3	4	8	23	0,3691
II Umiarkowane <i>Moderate</i>	8	12	33	63	0,4567
III Znaczne <i>Severe</i>	22	10	49	31	0,4567
Brak mowy <i>Lack of speech</i>	17	12	10	7	0,9892
Zachowani autystyczne <i>Autistic behaviour</i>	29	9	16	9	0,2898

5.13. Mutacje ciche

W analizowanej grupie chorych z CdLS zidentyfikowano także sześć mutacji punktowych zamiany zasad bez zmiany aminokwasu – tzw. mutacji synonimicznych „*silent*”. Następstwa kliniczne tego typu mutacji były jak dotąd przedstawiane w sposób niejednoznaczny [101]. W mutacjach typu *silent*, zawsze o charakterze punktowym, zamianie pojedynczego nukleotydu w obrębie tripletu zasad (kodonu), najczęściej trzeciego aminokwasu z kolei, nie towarzyszy zamiana aminokwasu w kodowanym białku. Istnieją przesłanki, że określone triplety zasad kodujące dany aminokwas są preferowane, przy tworzeniu prawidłowej struktury przestrzennej białka. Zgodnie z koncepcją wskazującą na istotny wpływ szybkości wbudowywania poszczególnych aminokwasów na przestrzenne uformowanie struktury składanego białka, każda zmiana zasady w obrębie tripletu może być patogenna, gdyż dynamika tworzenia struktury białkowej opartej na rzadziej stosowanym triplecie jest odmienna. W ten sposób nieprawidłowy triplet, nawet nie wpływając na sekwencję wbudowywania aminokwasów w cząsteczkę białka, może powodować nieprawidłową sekwencję tworzenia wiązań w obrębie powstającej cząsteczki białka, zmienioną konfiguracją przestrzenną i w efekcie utratą lub zmianą funkcji. W analizowanej grupie, fenotyp pacjentów z mutacjami typu *silent* był zróżnicowany.

Tylko u dwojga stwierdzono klasyczną postać kliniczną CdLS, ale u żadnego z badanych nie zanotowano wad ubytkowych kończyn górnych. Analiza porównawcza cech klinicznych wykazała wyższy średni wiek matek niż u pozostałych pacjentów CdLS, zbliżony do fizjologicznego czasu trwania ciąży i wyższą masę urodzeniową w stosunku do noworodków M+. Elementem wyróżniającym pacjentów z mutacjami *silent* może

być spłaszczenie philtrum i niskie osadzenie uszu występujące u wszystkich osób z tym typem mutacji.

5.14. Szczególne warianty fenotypu CdLS

Współistnienie aberracji chromosomowej, zwłaszcza chromosomów płciowych i mutacji *NIPBL* jest rzadkie. Jak dotąd opisano tylko czterech pacjentów u których aberracje chromosomów płciowych współistniały z fenotypem CdLS: chłopca z mozaikowym kariotypem [26] 45,X/46,XY, dziewczynkę z fenotypem 45,X [12] oraz dwie dziewczynki z mozaikowymi fenotypami 45,X/46,XX [74,95], przy czym u jednej z nich mozaikowy kariotyp mos X/XX współistniał z mutacją genu *SMC1* [74]. W analizowanej grupie zidentyfikowano jedną pacjentkę o współistniejących cechach CdLS i zespołu Turnera [207]. Fenotyp pacjentki z mutacją typu *frame-shift* przedstawiono w tab. 13 uwzględniając cechy zarówno typowe dla CdLS jak i dla zespołu Turnera [156, 171]. Dominowały cechy zespołu CdLS, jakkolwiek po urodzeniu stwierdzono obrzęki stóp, nisko schodzącą linię owłosienia i śladową pletwiastość szyi, typowe dla monosomii X.

5.15. Rearanżacje genomowe

W przedstawionym materiale u trzech pacjentek stwierdzono delecje obejmujące wiele eksonów: u pacjentki nr 41 znaleziono 62,7 kb delecję obejmującą eksony 35-47 i koniec 3' genu *NIPBL*, a u dwóch pozostałych zidentyfikowano utratę całego allelu wraz z genami przyległymi (pacjenci 42 i 43). W powszechnej opinii duże rearanżacje genu *NIPBL* są niezbyt częste i stanowią mniej niż 5% stwierdzanych mutacji. Jak dotąd opisano: 5,2 kb delecję eksonu 41-42 [15], 87 kb delecję obejmującą eksony 2-11 *NIPBL* [130]. W jednym z najnowszych doniesień, Pehlivan i wsp [151] przedstawili kolejne pięć przypadków rearanżacji obejmujących więcej niż jeden ekson, natomiast Russo i wsp. [169] w grupie 132 pacjentów *NIPBL* i *SMC1* negatywnych udokumentowali trzy takie rearanżacje. Ponadto Yan i wsp. [215] oraz Russo i wsp. [169] opisali pojedyncze przypadki duplikacji obejmujących więcej niż jeden ekson *NIPBL*. W tab. 16 (załącznik) zestawiono fenotypy trzech pacjentów z prezentowanej grupy, z cechami klinicznymi dotąd opisanych rearanżacji. Zwraca uwagę fakt, że zarówno utrata kilku eksonów, jak i utrata całego allelu spowodowała u większości mikrosomię i dysmorfie twarzy typową dla postaci klasycznej CdLS. Głębokie upośledzenie z brakiem rozwoju mowy stwierdzono u 9 spośród 13 pacjentów z dużymi rearanżacjami (69,2%), natomiast u pozostałych trzech odnotowano fenotyp umiarkowany (utrata eksonów zlokalizowanych w pobliżu końca N). Tylko w jednym przypadku [130] fenotyp istotnie odbiegał od pozostałych. Prezentowany pacjent nie prezentował klasycznych cech dysmorfii typowych dla CdLS (tab. 16). Refluks żołądkowo-przełykowy stwierdzono u wszystkich. Wady ubytkowe kończyn stwierdzono u pięciu pacjentów, w tym, u dwóch u których delecja obejmowała prawie cały gen. U żadnej z przedstawionych w pracy trzech pacjentek nie stwierdzono ubytkowych wad kończyn, obserwowano natomiast skrócenie kości nadgarstka i śródreżca oraz klinodaktylię palca V. U wszystkich pacjentek i dodatkowo u pacjenta opisanego przez Murray i wsp. [130] obserwowano również małe nerki o nie-

prawidłowej strukturze. U obu pacjentek z utratą allelu dodatkowo stwierdzono niedosłuch opisany u połowy pozostałych pacjentów z rearanżacjami) oraz rozszczep podniebienia odnotowany także przez Bhuiyana i wsp. [15]. Tylko u dwóch pacjentów [15, 151] opisano złożone wady serca, u pozostałych wady serca nie stwierdzono bądź nie miały znaczenia hemodynamicznego. Podsumowując obserwacje nielicznej grupy pacjentów z dużymi rearanżacjami należy stwierdzić że jakkolwiek upośledzenie rozwoju z brakiem lub niedorozwojem mowy, mikrosomia oraz refluks żołądkowo-przełykowy występowały u we wszystkich przypadkach, to ekspresja wad narządowych była niewspółmierna do rozmiaru delecji i jej lokalizacji. Łagodniejsze fenotypy stwierdzono u pacjentów u których utracone zostały eksony zlokalizowane w pobliżu końca N [130, 151].

Porównano obserwacje z danymi dotyczącymi modelu zwierzęcego, zaproponowanego przez Kawauchi i wsp. [89]. Heterozygotyczne *NIPBL* płody mysie w okresie rozwoju wykazywały mikrosomię, zmiany budowy twarzoczaszki, upośledzenie słuchu i wady serca (w 50% ASD) Natomiast nie obserwowano u nich wad ubytkowych kończyn ani wad nerek.

Tabela 16. Porównanie cech klinicznych u pacjentów z CdLS z rearanżacjami genu *NIPBL*
Table 16. *The comparison of clinical features of CdLS patients with large rearrangements in NIPBL gene*

Cecha kliniczna <i>FEATURE</i>	Bhuiyan et al., 2007	Murray et al., 2011	Pehlivan et al., 2012	Pehlivan et al., 2012	Pehlivan et al., 2012	Pehlivan et al., 2012	Russo et al., 2012	Russo et al., 2012	Russo et al., 2012	AT	AK	MP
Liczba pacjentów <i>Number of patient</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	13	12
Delecja eksonów NIPBL <i>NIPBL Deletion, Exons</i>	41-42	2-11	2-17	2-9	1-45	2-6	2-9	1-10	25-27	35-47	allele	allele
Płeć <i>Gender</i>	Ż	M	Ż	Ż	M	M	M	M	Ż	Ż	Ż	Ż
Typ fenotypu* <i>Phenotype</i>	K*	LM	K	L	KI	L	L	K	K	K	K	K
Wiek rozpoznania (lata) <i>Age of clinical evaluation</i>	1,8	2,5	3,1	1m6		11,1	11	36	4,1	41	2	3
Tydzień ciąży <i>Gestation (weeks)</i>	36	38	37	27		40	32			38	35	38
Hypotrofia płodu <i>IUGR</i>	+	-	+	+		-	+	+	+	+	+	+
Wzrost < 3 prc <i>Postnatal Length < 3rd centile</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Małogłowie <i>Microcephaly</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nadmierne owłosienie <i>Hirsutism</i>	+	-		-	+			+	+	+	+	+
Skóra marmurkowa <i>Cutis marmorata</i>		+	+	-	+	+						+
Synophrys	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

Cecha kliniczna <i>FEATURE</i>	Bhuiyan et al., 2007	Murray et al., 2011	Pehlivan et al., 2012	Pehlivan et al., 2012	Pehlivan et al., 2012	Pehlivan et al., 2012	Russo et al., 2012	Russo et al., 2012	Russo et al., 2012	AT	AK	MP
Szeroko rozstawione nozdrza <i>Anteverted nostrils</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Płaskie philtrum <i>Flat philtrum</i>	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cienkie wargi <i>Thin lips</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rozszczep podniebienia <i>Cleft palate</i>	-	-	-	-	-	-				-	+	+
Redukcja kończyn <i>Limb reduction</i>	-	-	+	+	+	+		+	+	-		
Wada serca <i>Heart defects</i>	ToF	VSD, ASD	-	-	-	-				TI	ASD	-
GER	+	+	+	+		-		+	+	+	+	+
Wady dróg moczowych <i>Urological abnormalities</i>	+	-	-							+	+	+
Niedosłuch <i>Hypacusis</i>	-	+	+	-		+		+		-	+	+
Opóźnienie rozwoju Deve- <i>lopmental delay</i>	+++	++	+++	+++	++	++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Brak mowy <i>Speech absent</i>	+	+	+	+	+	-		-	-	+	+	+

Brak oznaczeń oznacza brak danych.

No notation indicates that information is unavailable.

K*fenotyp klasyczny – K classic phenotype

L*fenotyp łagodny – L mild phenotype

5.16. Rekomendacje

Rozpoznanie

Do typowych cech zespołu Cornelia de Lange należy: mikrosomia z proporcjonalnym małowłóciem, nadmierne, ciemne owłosienie skóry głowy oraz tułowia, zrośnięte ze sobą brwi (synophrys), długie gęste rzęsy, nisko osadzone uszy, cofnięta i mała żuchwa, wady kończyn, przede wszystkim górnych drobne dłonie i stopy, obustronne skrócenie kości śródrezcza oraz paliczków oraz klinodaktylia V palca dłoni. Prawie u wszystkich stwierdza się zaburzenia przewodu pokarmowego, w tym refluks żołądkowo-przelykowy. Rzadziej stwierdza się: wady: serca, układu moczowo-płciowego (ale niemal regułą jest wnętrostwo), wzroku, niedosłuch [1, 21, 34, 37, 40, 79, 80, 93, 115, 144, 145, 156]. Upośledzeniu umysłowemu towarzyszy brak lub niedorozwój mowy. Zaburzenia zachowania przejawiają się nadruchliwością, agresją, autoagresją i zachowaniami pseudoautystycznymi [8, 9, 14, 16, 20, 142]. Wyróżnia się także przypadki łagodne *mild*, w których cechy dysmorfii są mniej nasilone, wady narządowe występuje rzadziej, stopień upośledzenia waha się między lekkim a umiarkowanym [61, 127, 156, 178, 199]. Rozpoznanie przypadków łagodnych jest znacznie trudniejsze i wymaga dużego doświadczenia klinicznego.

W okresie dojrzewania i dorosłości nadal widoczna jest proporcjonalna mikrosomia z małowłóciem. Hirsutyzm nasila się obejmując podudzia, przedramiona, w przypadku mężczyzn także plecy. Środkowa część twarzy ulega spłaszczeniu. Brwi z czasem mogą stawać się krzaczaste, nadal wyraźnie zaznaczone jest synophrys. Osoba dorosła wydaje się starsza niż wiek metrykalny.

Niedobór wzrostu poniżej trzeciego percentyla zgodnie z siatkami percentylowymi populacyjnymi stwierdza się prawie u wszystkich pacjentów z CdLS. Dlatego stosowanie populacyjnych siatek percentylowych jest niemiarodajne i powoduje jedynie dodatkowy stres u rodziców. Kline i wsp w 1993 opracowali siatki percentylowe CdLS dla poszczególnych parametrów (masa ciała, wzrost oraz obwód głowy) w zależności od wieku [91]. Śledzenie rozwoju dziecka przy ich pomocy pozwala na systematyczną ocenę rozwoju fizycznego oraz wychwycenie zwolnienia tempa wzrastania. Należy pamiętać, że mikrosomia skutkuje również proporcjonalnym zmniejszeniem narządów, co jest widoczne zwłaszcza w pomiarach ultrasonograficznych. Dlatego wskazane jest odnoszenie wymiarów narządów do rzeczywistych wymiarów pacjenta a nie do jego wieku.

Diagnostyka i poradnictwo genetyczne

Diagnostyka zespołu powinna rozpoczynać się od wykonania badania cytogenetycznego, ponieważ około 5% chorych wykazuje obecność aberracji chromosomowych. Kolejnym etapem jest diagnostyka molekularna, skierowania na znalezienie mutacji punktowych zlokalizowanych w genach: *NIPBL*, *SMC1* i *SMC3* i *HDAC8*. Należy przy tym pamiętać, że jak dotąd mutacje w ww. genach wykrywane były u 50–60% pacjentów. W postaci klasycznej molekularne potwierdzenie diagnozy szacowane jest się na 60–80% [99, 108, 196], natomiast w postaci łagodnej ta zależność dotyczy jedynie 25–30% pacjentów [99, 108, 196]. Znalezienie mutacji punktowej skutkuje obligatoryjnie

poszukiwaniem mutacji u rodziców, zaznaczyć jednak należy że większość mutacji ma charakter *de novo*. W przypadku braku potwierdzenia mutacji punktowej stosuje się technikę MLPA celem znalezienia rearanżacji obejmującej więcej niż jeden ekson – szacuje się, że taki genotyp posiada około 5% osób z fenotypem CdLS [15, 130, 160, 169].

Zespół CdLS dziedziczy się w sposób autosomalny dominujący (jeśli mutacja dotyczy genów: *NIPBL* oraz *SMC3*) jak również sprzężony z płcią (mutacja *SMC1* i *HDAC8*). W większości obserwuje się przypadki z mutacją *de novo*, natomiast ryzyko powtórzenia się zespołu dla potomstwa osoby z CdLS oblicza się zgodnie z przyjętymi regułami dziedziczenia. Opisano przypadki mozaikowości germinalnej oraz disomii jednorodzicielskiej. Dlatego udzielanie porady genetycznej odnośnie ryzyka powtórzenia się CdLS musi uwzględniać powyższe obserwacje. Zwykle ocenia się je na około 1%, a nawet 1,5%. Ponieważ w około 40% przypadków zespołu nie udaje się ustalić jego etiopatogenezy udzielenie w takich przypadkach wiarygodnej porady genetycznej jest oparte tylko na przesłankach empirycznych.

Badanie prenatalne

Nieprawidłowa przezierność fałdu karkowego w pierwszym trymestrze oraz znacząco obniżone wartości testu PAPP-A wykonywanego powyżej 11 tygodnia ciąży były stwierdzane co prawda w wybranych przypadkach, nie mogą jednak stanowić podstawy do wysunięcia podejrzenia CdLS [3, 148]. W uzasadnionych przypadkach (podejrzenie postaci rodzinnej, ciąża gdzie rodzicem jest osoba z CdLS) możliwe jest wykonanie kordocentezy czy amniopunkcji i wykonanie diagnostyki molekularnej. W późniejszych okresach ciąży sugestię rozpoznania można postawić na podstawie ultrasonografii płodowej, gdzie hypotrofii wewnątrzmacicznej (80–100%) towarzyszą wady narządowe, w szczególności wady ubytkowe kończyn górnych (27–58%) (jednostronne dysplazje i ubytki kości łokciowej i/lub promieniowej, ektrodaktylia). W przypadku braku znacznych anomalii kończyn górnych należy zwrócić uwagę na obecność: niedorozwoju kości śródręcza i paliczków, klinodaktylię V palca, kościorost promieniowo-łokciowy jak również na wady kończyn dolnych obecne u około 40% badanych. Obecność przepukliny przeponowej dodatkowo uwiarygadnia rozpoznanie [87,102,148]. W III trymestrze ciąży dodatkowo występuje charakterystyczna dysmorfia twarzy, obejmująca: obecność długich rzęs, drobne policzki, zadarty nos, rozszczep podniebienia, co powinno nasuwać podejrzenie CdLS.

Zaburzenia gastroenterologiczne

Zaburzenia budowy oraz funkcji przewodu pokarmowego, zwłaszcza zaś jego górnego odcinka są typowe dla CdLS [24, 30, 43, 92, 110, 111, 152]. U niemal wszystkich noworodków stwierdzano brak lub słabo wyrażony odruch ssania, co sprawia że konieczne jest stosowanie sondy dożołądkowej, a nawet zakładanie gastrostomii. Wieloośrodkowe doświadczenia stosowania takiego systemu żywienia u pacjentów z CdLS są zachęcające [24].

Właściwe żywienie dziecka z CdLS zwykle nie wymaga dodatkowego dowozu kalorii, wskazana jest zbilansowana właściwie dieta. Rzadko zachodzi konieczność stosowania diety eliminacyjnej. Natomiast u dzieci często obserwowana jest niechęć do przyjmowania pokarmu i trudności z karmieniem. Zwrócono uwagę, że dodawanie do pokarmów przypraw, niewielkich ilości soli, pieprzu, maggie itp. może wpłynąć pozytywnie na apetyt.

Refluks żołądkowo-przelykowy występuje u większości osób z CdLS i jest dla nich kluczowym problemem [30, 110]. Poza typową symptomatologią (ulewanie, wymioty, przykry zapach z ust) obecne są objawy mało charakterystyczne – skłonność do nawrotowych infekcji, znaczny niepokój, agresja i autoagresja. Objawy refluksu żołądkowo-przelykowego nie ustępują z czasem, a raczej mają tendencję do nasilania się. Możliwym powikłaniem jest przełyk Barretta [110, 111, 152]. Jako regułę należy przyjmować wykonywanie już w okresie niemowlęcym badania USG jamy brzusznej ze zwróceniem uwagi na fale zwrotne z żołądka do przełyku. W przypadkach wątpliwych rozważać należy badanie rentgenowskie górnego odcinka przewodu pokarmowego, także endoskopię przełyku i żołądka. U starszych pacjentów, szczególnie u tych z nasilonym niepokojem, agresją i autoagresją rekomenduje się wykonanie badania radiologiczne górnego odcinka przewodu pokarmowego, pH metrie oraz endoskopię górnego odcinka przewodu pokarmowego, mimo braku współpracy z pacjentem i konieczności stosowania krótkotrwałego znieczulenia ogólnego.

Istotne jest szybkie wdrożenie terapii antyrefluksowej. W przypadku zmian miernie nasilonych wskazane jest włączenie leków prokinetycznych i leków hamujących wydzielanie kwasu solnego, następnie antagonistów receptora H₂ i inhibitorów pompy protonowej (IPP). Leczenie zachowawcze bywa jednak nieskuteczne. Dlatego sugeruje się stosunkowo szybko przeprowadzanie zabiegów antyrefluksowych. Polecane jest zastosowanie technik laparoskopowych [30, 110]. Skraca to zarówno czas pobytu w oddziałach szpitalnych jak i zmniejsza czas trwania znieczulenia ogólnego. Ze względu na specyfikę kwalifikowanych pacjentów ośrodek podejmujący się tego typu zabiegów powinien posiadać niezbędne doświadczenie zwłaszcza dotyczące znieczulenia i opieki pooperacyjnej. **Gwałtownie narastające zaburzenia gastroenterologiczne, a zwłaszcza niedrożność są nadal przyczyną znacznej liczby nagłych zgonów.** Symptomatologia jest w tych przypadkach uboga, a kontakt z pacjentem utrudniony lub niemożliwy. Choczy z CdLS mają subiektywnie wyższy próg bólowy, co wielokrotnie opóźnia właściwą diagnozę. **Każdorazowo stwierdzenie infekcji wirusowej bądź bakteryjnej przewodu pokarmowego powinno wzbudzać szczególną ostrożność, jeśli nie konieczność hospitalizacji.**

Zaburzenia układu kostno-szkieletowego

Wady kostne, zwłaszcza kończyn górnych są typowe dla zespołu [67, 82, 92, 93, 185]. Ubytkowe wady kostne kończyn górnych występują u 20–30% osób z CdLS. Protezy nie znajdują zastosowania, nawet w przypadkach aplazji kości promieniowych i łokciowych. Zwykle wywołują u pacjentów rozdrażnienie, stają się powodem dodatkowego stresu. U osób dorosłych postępująca skolioza dotyczy zwłaszcza kobiet, problemem staje się powstawanie palucha koślawego (*hallux valgus*), zabieg chirurgiczny w takich przypadkach przynosi dobry efekt kliniczny. Częściej niż w populacji stwierdza

się chorobę Perthesa. W związku z udowodnionym przedwczesnym występowaniem osteoporozy dieta kobiet przed menopauzą powinna uwzględniać przynajmniej 1000 mg wapnia, zaś po okresie pomenopauzalnym – 1500 mg wapnia i około 800 j witaminy D₃ dziennie.

Zaburzenia sercowo-naczyniowe

Wady serca stwierdza się u około 30% osób [64, 82, 122, 186, 197], a u 5–10% wymaga korekcji chirurgicznej. W schemacie postępowania rekomenduje się wykonanie badania ECHO serca po urodzeniu, ponieważ u większości noworodków z CdLS wady są klinicznie nieme i mogą zostać przeoczone. W przypadku, kiedy w okresie noworodkowym w badaniu ECHO stwierdzono zmiany w układzie krążenia, dziecko wymaga okresowej kontroli. Należy podkreślić, że większość zmian ma tendencję do samoistnego ustępowania. Z opracowań [92, 186] wynika, że problemy kardiologiczne mogą pojawić się z wiekiem u osób z CdLS. Z czasem można uwidocznic niewielką niedomykalność zastawki mitralnej. Nie zarośnięty w okresie niemowlęstwa i wczesnego dzieciństwa otwór owalny może być przyczyną niemych udarów, mogących ująć uwagę wobec obserwowanych u dorosłych zaburzeń zachowania.

U mężczyzn z wiekiem nieproporcjonalnie narastają zaburzenia krążenia obwodowego, przejawiające się drętwieniem dłoni i stóp. Rzadziej tego typu objawy pojawiają się u kobiet. Należy zwrócić uwagę, że u dorosłych osób nie chodzących może pojawić się tendencja do zakrzepów żylnych. Opisano także sporadyczne przypadki nadciśnienia tętniczego, mające jednak zwykle związek z niewydolnością nerek czy otyłością, dlatego wskazana jest okresowa jego kontrola. Wyniki pomiarów ciśnienia mogą być zawyżone z powodu niepokoju pacjenta, dlatego wskazane jest kilkukrotny pomiar w przypadkach wątpliwych.

Zaburzenia urologiczno-nefrologiczne

Wady układu moczowego stwierdza się u około 20% osób z CdLS [32, 92, 187]. Niektóre z nich ujawniają się w okresie prenatalnym lub bezpośrednio po urodzeniu. Wymagają korekcji chirurgicznej lub odpowiednio prowadzonej profilaktyki przeciwpadajalnej. O ile wady pęcherza i moczowodów są widoczne już w okresie noworodkowym, to zmiany w nerkach mogą ujawniać się dopiero w okresie wzrastania, dlatego istotne jest stałe monitorowanie budowy i wielkości nerek (ultrasonografia) i w razie stwierdzenia nieprawidłowości rozszerzenie diagnostyki o badania biochemiczne.

Obserwacje endokrynologiczne

Jak dotąd nie stwierdzono znaczących zaburzeń funkcji tarczycy. Wielkość narządu jest zwykle proporcjonalna do wymiarów pacjenta. Mimo obecnej u większości mikrosomii wydzielanie hormonu wzrostu jest prawidłowe. Opisano pojedyncze przypadki cukrzycy typu I i II. Prawie wszyscy chłopcy demonstrują nieprawidłowości budowy zewnętrznych narządów płciowych (wnętrostwo, spodzietwo, mikropenis), jednak

wartości hormonów płciowych rzadko odbiegają od norm referencyjnych dla wieku. Należy pamiętać o konieczności monitorowania położenia jąder w przypadkach wnetrostwa i w odpowiednim czasie podejmować decyzje o zabiegach chirurgicznych, co w przyszłości zapobiegnie rozwojowi nowotworów jąder. Dojrzewanie jest zwykle opóźnione o 2,3 lata. 75% kobiet rozpoczyna miesiączkowanie, tym niemniej jest ono nieregularne, z nasilonym zespołem napięcia okołomenstruacyjnego. Zastosowanie doustnych preparatów progesteronu, także w skojarzeniu z lekami odwadniającymi daje dobry efekt. Kobiety są płodne, sugerowanie jest stosowanie preparatów antykoncepcyjnych. Nie ma dowodów na niepłodność mężczyzn z CdLS.

Zaburzenia słuchu i mowy

Od 40–80% osób z CdLS ma różnego stopnia niedosłuch [44, 86, 117, 172]. Rekomendowane jest badanie słuchowych potencjałów wywołanych z pnia mózgu (ABR), weryfikacja wyników nieprawidłowych badaniem tympanometrycznym pozwala na ustalenie rodzaju niedosłuchu. Ocena słuchu u osoby z CdLS zalecana raz na 2,3 lata

W wielu przypadkach zaburzenie słuchu nie ma charakteru wrodzonego, a jest efektem nawracających, niezauważanych bądź źle leczonych zapaleń ucha środkowego [96, 117]; **Dlatego każdy przypadek infekcji dróg oddechowych u osoby z CdLS powinien obligatoryjnie podlegać badaniu otoskopowemu.**

W przypadku stwierdzenia głębokiego niedosłuchu znacznego stopnia upośledzenie umysłowe w często utrudnia, albo wręcz uniemożliwia zastosowanie aparatu słuchowego. Podobnie jak w przypadku protezowania nie należy za wszelką cenę podejmować decyzji o jego stosowaniu.

U ponad połowy pacjentów z wiekiem stwierdza się przewlekłe zapalenia zatok, widoczne w obrazowaniu TK. Ponieważ nie leczone skutkuje bólami głowy, uczuciem dyskomfortu, którego pacjent nie jest w stanie opisać dlatego zaleca się antybiotykoterapię oraz stosowanie leków mukolitycznych, a nawet zabiegi chirurgiczne.

Większość osób z klasyczną postacią zespołu nie mówi lub wydaje niezrozumiałe dźwięki, rzadko łącząc je w sylaby. Nieliczne osoby wymawiają pojedyncze, proste słowa, tylko pacjenci z postacią łagodną potrafią wymawiać proste zdania. Dlatego warto od okresu niemowlęcego podejmować próby nauczania komunikacji pozawerbalnej z tworzeniem języka gestów, opartych na zasadzie skojarzeń. Nie ma bezpośredniego dowodu na związek zaburzeń słuchu z zaburzeniami mowy u pacjentów z CdLS.

Szczepienia

U osób z CdLS znacznie częściej niż w populacji dochodzi u do przewlekłych zapaleń ucha środkowego oraz zapaleń zatok. Zaburzenia perystaltyki i często nieprawidłowa budowa przewodu pokarmowego także sprzyja powikłaniom infekcyjnym. Dlatego w tej rekomenduje się pełny zakres szczepień podstawowych oraz dodatkowo szczepienie przeciw pneumokokom oraz przeciw wirusom z grupy rotha oraz grypie [45]. Jak dotąd nie opisano powikłań poszczepiennych (w szczególności ze strony układu nerwowego), częste są natomiast opisy wzrostu temperatury i niepokoju niemowląt po stosowaniu szczepionek skojarzonych. Wskazane jest wówczas zastosowanie preparatów obniżających temperaturę.

Zaburzenia okulistyczne

W okresie noworodkowym należy zwrócić uwagę na częste występowanie niedrożności kanalików łzowych. Obecność gęstych, często podwójnych rzęs prowadzi do nawracających zapaleń spojówek, a nawet owrzodzeń rogówki. Opadanie powiek wymaga zwykle zabiegu w okresie dzieciństwa, jest on przyspieszany w przypadkach kiedy uniemożliwia dziecku prawidłowe widzenie i zmusza do ustawiania głowy w nieprawidłowej pozycji. W przypadkach wad refrakcji tolerancja szkieł korekcyjnych jest znacznie lepsza niż aparatów słuchowych. U osób dorosłych należy zwracać uwagę na niekiedy szybko postępujące zaburzenia widzenia wynikające z przedwcześnie pojawiającej się zaćmy oraz narastającej krótkowzroczności [104, 134, 211].

Zaburzenia neurologiczne

Większość osób z CdLS porusza się samodzielnie. Niewielkie wzmożenie napięcia mięśniowego obserwowane u ponad połowy chorych nie ma zwykle wpływu na zdolności lokomocyjne. Padaczkę potwierdzoną nieprawidłowym zapisem elektroencefalograficznym stwierdza się u 23–26% chorych [8, 91, 185]. Zwykle obserwuje się dobrą odpowiedź na monoterapię, terapia trwa zwykle całe życie, z korekcją dawek w okresie dojrzewania. Preferuje się w leczeniu preparaty kwasu walproinowego i karbamazepinę.

Zaburzenia zachowania

Stopień upośledzenia waha się między lekkim a głębokim. Typowe są stereotypie, nadpobudliwość, skłonność do agresji i autoagresji wyrażająca się szczypaniem siebie, uderzaniem głową o podłogę itd. [9, 14, 129, 142, 143, 210].

Zachowania autystyczne obserwowane są u ponad połowy pacjentów, autyzm stwierdza się u jednej trzeciej osób z postacią klasyczną CdLS [128] ich manifestacja jest zróżnicowana. W leczeniu chorych z CdLS zaleca się risperidonu w przypadku nasilenia objawów nadpobudliwości zaleca się preparaty metylfenidate. Warta podkreślenia jest korelacja autoagresji i obecność refluku żołądkowo-przłykowego [78, 142]. Często bowiem likwidacja jego objawów w sposób znacząco zmniejsza tendencję do agresji i autoagresji. Należy także pamiętać o dobrych efektach regularności trybu życia, unikaniu sytuacji na które pacjenci nie są wcześniej przygotowani (np. podróz). Zmiany zachowań w okresie dojrzewania pojawiają się nawet u dotąd spokojnych dzieci [14]. Z wiekiem narasta skłonność do agresji i autoagresji, szczególnie u kobiet. Dominuje zły nastrój, tendencja do samookaleczeń, agresja. Taki panel zachowań obserwowany jest szczególnie w okresie okołomenstruacyjnym. Często ma miejsce nadmierna płaczliwość, niechęć do wykonywania nawet najprostszych czynności, wychodzenia z domu, odmawianie spożywania posiłków. Objawy te przypominają klasyczną depresję. Terapia antydepresyjna była stosowana u niespełna 10% dorosłych z CdLS a doniesienia o jej skuteczności są niejednoznaczne. Zaburzenia snu występują u większości dorosłych z CdLS Odwrócenie rytmu dobowego jest natomiast rzadkie. Stosowane w zaburzeniach snu leków nasennych i uspokajających jest nieskuteczne.

Rekomendacje anestezyjologiczne

Znieczulenie dzieci z CdLS obarczone jest zwiększonym ryzykiem powikłań [184]. Założenie dostępu żylnego oraz sondy żołądkowej przed indukcją znieczulenia jest trudne i wymaga często indukcji wziewnej, pomimo zalegania śliny i treści pokarmowej. Należy zwrócić uwagę na fakt, że szybka intubacja jest niemożliwa bez dostępu do żyły, a ponadto kolejnym czynnikiem ryzyka mogą być trudne warunki do intubacji ze względu na wady twarzoczaszki. Obserwacje wskazują na nadwrażliwość na stosowanie imidazolium – po leku zdarzają się zarówno przypadki nadmiernego pobudzenia, jak i zaburzenia oddychania. Z doświadczeń ośrodków anestezyjologicznych wynika także, że ponieważ intubacja dziecka z CdLS wymaga specjalnego doświadczenia, w miarę możliwości należy jej unikać np. przy konieczności transportu pacjenta [184].

6. WNIOSKI

Na podstawie analizy danych klinicznych oraz wyników badań obrazowych i laboratoryjnych przeprowadzonych u 74 pacjentów z zespołem Cornelia de Lange wyciągnięto następujące wnioski:

1. Obraz kliniczny polskich pacjentów z zespołem Cornelia de Lange odpowiadał jego typowej charakterystyce. Pacjenci wykazywali: pre- i postnatalną mikrosomię, charakterystyczną dysmorfie twarzy, wady narządowe, upośledzenie rozwoju psychomotorycznego, zaburzenia rozwoju mowy i nietypowy profil zachowań, a jednym z najczęstszych zaburzeń czynnościowych był refluks żołądkowo-przełykowy.
2. Niska masa urodzeniowa, mikrosomia i wady ubytkowe kończyn są niekorzystnymi czynnikami prognostycznymi upośledzenia rozwoju psychomotorycznego i rozwoju mowy, natomiast masa urodzeniowa zbliżona do prawidłowej, koreluje z lepszym rozwojem intelektualnym.
 - A. Występowanie refluksu żołądkowo-przełykowego jest kluczowym problemem chorych i predysponuje do stereotypii, samookaleczeń i zachowań autystycznych
 - B. Pacjenci dorośli wykazywali cechy przedwczesnego starzenia. Z wiekiem narastały zaburzenia behawioralne, w tym skłonność do agresji, autoagresji i zachowań autystycznych, co było szczególnie widoczne u kobiet.
3. Pacjenci z mutacjami punktowymi lub dużymi rearanżacjami genu NIPBL wykazywali bardziej charakterystyczny i cięższy obraz kliniczny, w porównaniu do pacjentów bez mutacji tego genu, przy czym najcięższy fenotyp prezentowały osoby z mutacjami skracającymi produkt białkowy (*frame shift* i *nonsense*).
4. Doświadczenia własne wynikające z długotrwałej obserwacji dużej grupy chorych z CdLS oraz ich rodzin pozwoliło na opracowanie modelu postępowania diagnostycznego oraz efektywnej wielodyscyplinarnej opieki (Rekomendacje).

7. PIŚMIENICTWO

1. Allanson J. E., Hennekam R.C., Ireland M.: De Lange syndrome: subjective and objective comparison of the classical and mild phenotypes. *J. Med. Genet.* **1997**, **34** (8), 645–650.
2. Angle B., Yen F., Hersh J.H., Gowans G.: Patient with terminal duplication 3q and terminal deletion 5q: comparison with the 3q duplication syndrome and distal 5q deletion syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **2003**, **116A** (4), 376–386.
3. Arbuzova S., Nikolenko M., Krantz D., Hallahan T., Macri J.: Low first-trimester pregnancy-associated plasma protein-A and Cornelia de Lange syndrome. *Prenat. Diagn.* **2003**, **23** (10), 864.
4. Arron K., Oliver C., Hall S., Sloneem J., Forman D., Mcclintock K.: Effects of social context on social interaction and self-injurious behavior in Cornelia de Lange syndrome. *Am. J. Ment. Retard.* **2006**, **111** (3), 184–192.
5. Bal J. I wsp. *Biologia molekularna w medycynie*. Wydawnictwo naukowe PWN SA Warszawa 2007, ISBN 978-83-01-14703-7.
6. Barber T. D., McManus K., Yuen K.W., Reis M., Parmigiani G., Shen D., Barrett I., Nouhi Y., Spencer F., Markowitz S., Velcunescu V.E., Kinzler K.W., Vogelstein B., Lengauer C., Hieter P.: Chromatid cohesion defects may underlie chromosome instability in human colorectal cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, **105** (9), 3443–3448.
7. Barisic I., Tokic V., Loane M., Bianchi F., Calzonari E., Garne E., Wellesley D., Dolk H.: Descriptive epidemiology of Cornelia de Lange syndrome in Europe. *Am. J. Med. Genet. A.* **2008**, **146A** (1), 51–59.
8. Barr A. N., Grabow J.D., Matthews C.G., Grosse F.R., Motl M.L., Opitz J.M.: Neurologic and psychometric findings in the Brachmann-De Lange syndrome. *Neuro-padiatrie.* **1971**, **3** (1), 46–66.
9. Basile E., Villa L., Selicorni A., Molteni M.: The behavioural phenotype of Cornelia de Lange Syndrome: a study of 56 individuals. *J. Intellect. Disabil. Res.* **2007**, **51** (Pt 9), 671–681.
10. Baynam G., Goldblatt J., Walpole I., Deletion of 8p23.1 with features of Cornelia de Lange syndrome and congenital diaphragmatic hernia and a review of deletions of 8p23.1 to 8pter? A further locus for Cornelia de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **2008**, **146A** (12), 1565–1570.
11. Beck B.: Epidemiology of Cornelia de Lange's syndrome. *Acta Paediatr. Scand* 1976, **65** (5), 631–638.
12. Beck B., Mikkelsen M.: Chromosomes in the Cornelia de Lange syndrome. *Hum. Genet.* **1981**, **59** (4), 271–276.
13. Beratis N. G., Hsu L.Y., Hirschorn K.: Familial de Lange syndrome. Report of three cases in a sibship. *Clin. Genet.* **1971**, **2** (3), 170–176.
14. Berney T. P., Ireland M., Burn J.: Behavioural phenotype of Cornelia de Lange syndrome. *Arch. Dis. Child.* **1999**, **81** (4), 333–336.
15. Bhuiyan Z. A., Stewart H., Redeker E.J., Mannens M.M., Hennekam R.C.: Large genomic rearrangements in NIPBL are infrequent in Cornelia de Lange syndrome. *Eur. J. Hum. Genet.* **2007**, **15** (4), 505–508.
16. Bhuiyan Z. A., Klein M., Hammond P., Van Haeringen A., Mannens M.M., Berckelarel-Onnes I., Hennekam R.C.: Genotype-phenotype correlations of 39

- patients with Cornelia De Lange syndrome: the Dutch experience. *J. Med. Genet.* **2006**, **43** (7), 568–576.
17. Borck G., Redon R., Sanlaville D., Rio M., Prieur M., Lyonnet S., Vekemans M., Carter N.P., Munnich A., Cooleaux L., Cormier-Daire V.: NIPBL mutations and genetic heterogeneity in Cornelia de Lange syndrome. *J. Med. Genet.* **2004**, **41** (12), 128, 1–6.
 18. Borck G., Zarhrate M., Bonnefont J.P., Munnich A., Cormier-Daire V., Colleaux L.: Incidence and clinical features of X-linked Cornelia de Lange syndrome due to SMC1L1 mutations. *Hum. Mutat.* **2007**, **28** (2), 205–206.
 19. Borkowska A., Łuczak G., Delińska - Galińska A.: Przeryk Baretta u 12-letniej dziewczynki z zespołem Corneli de Lange. *Pediatrica współczesna: gastroenterologia, hepatologia i żywienie dziecka.* **2006**, **8**, 2, 192–193.
 20. Bose T., Gerton J.L.: Cohesinopathies, gene expression, and chromatin organization. *J. Cell Biol.* **2010**, **189** (2), 201–210.
 21. Brachmann M.: Ein fall von symmetrischer monodaktylie durch Ulnardefekt, mit symmetrischer flughuatbildung in den ellnbeugen, sowie anderen abnormaliteten (zwerghaftogkeit, halsrippen, behaaarung). *Jarb. Kinder Phys. Erzie.* **1916**, **84**, 225–230.
 22. Braddock S. R., Lachman R.S., Stopeenhagen N.C.C., Carey J.C., Ireland M., Moeschler J.B., Cunniff C., Graham J.M., JR.: Radiological features in Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 100–1013.
 23. Braunholz D., Hullings M., Gil-Rodriguez, M.C, Fincher C.T., Mallozzi M.B., Loy E., Albrecht M., Kaur M., Limon J., Rampuria A., Clarck D., Kline A., Dalski A., Eckhold J., Tzschach A., Hennekam R., Gillesen-Kaesbach G., Wierzba J., Krantz I.D., Deardorff M.A., Kaiser F.J.: Isolated NIBPL missense mutations that cause Cornelia de Lange syndrome alter MAU2 interaction. *Eur. J. Hum. Genet.* **2012**, **20**, (3), 271–276.
 24. Bull M. J., Fitzgerald J.F., Heifetz S.A., Brei T.J.: Gastrointestinal abnormalities: a significant cause of feeding difficulties and failure to thrive in Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 1029–1034.
 25. Burd L., Deal E., Rios R., Adickes E., Wynne J., Klug M.G., Congenital heart defects and fetal alcohol spectrum disorders. *Congenit. Heart Dis.* **2007**, **2** (4), 250–255.
 26. Calo S., Gualandri W., Radice C.: XY-XO mosaicism in a case of Cornelia De Lange syndrome. *Minerva Pediatr.* **1968**, **20** (50), 2600–2604.
 27. Canudas S., Smith S.: Differential regulation of telomere and centromere cohesion by the Scc3 homologues SA1 and SA2, respectively, in human cells. *J. Cell Biol.* **2009**, **187** (2), 165–173.
 28. Castronovo P., Delahaye-Duriez A., Gervasini C., Azzollini, A., Minier F., Russo S., Masciadri M., Selicorni A., Verloes A., Larizza L.: Somatic mosaicism in Cornelia de Lange syndrome: a further contributor to the wide clinical expressivity?. *Clin. Genet.* **2010**, **78** (6), 560–564.
 29. Castronovo P., Gervasisni C., Cereda A., Masciadri M., Milani D., Russo S., Selicorni A., Larizza L.: Premature chromatid separation is not a useful diagnostic marker for Cornelia de Lange syndrome. *Chromosome. Res.* **2009**, **17** (6), 763–771.
 30. Cates M., Billmire D.F., Bull M.J., Grosfeld J.L., Gastroesophageal dysfunction in Cornelia de Lange syndrome. *J. Pediatr. Surg.* **1989**, **24** (3), 248–350.

31. Chadwick O., Piroth N., Walker J., Bernard S., Taylor E.: Factors affecting the risk of behaviour problems in children with severe intellectual disability. *J. Intellect. Disabil. Res.* **2000**, **44** (Pt 2), 108–123.
32. Charles A. K., Porter H.J., Sams V., Lunt P.: Nephrogenic rests and renal abnormalities in Brachmann-de Lange syndrome. *Pediatr. Pathol. Lab Med.* **1997**, **17** (2), 209–219.
33. Chong K., Keating S., Hurst S., Summers A., Berger H., Seaward G., Martin N., Fiedberg T., Chitayat D.: Cornelia de Lange syndrome (CdLS): prenatal and autopsy findings. *Prenat. Diagn.* **2009**, **29** (5), 489–494.
34. Choo PB., Bianchi G.N.: Brachmann de Lange syndrome. A report of four cases, *Aust.Paediatric.* 1965, 1, 236–238.
35. Clark D.E., Sherer I., Deardorff M.A., Byrne J.L.B., Loomes K.M., Nowaczyk M.J.M., Jackson L.G., Krantz I.D.: Identification of the prenatal profile of Cornelia de Lange syndrome (CdLS): a review of 53 CdLS pregnancies. *Am. J. Med. Genet.* 2012 in press.
36. Deardorff M. A., Kaur M., Yaeger D., Rampuria A., Korolev S., Pie J., Gil-Rodriguez C., Arnedo M., Loeys B., Kline A.D., Wilson M., Lillquist K., Siu V., Ramos F.J., Musio A., Jackson L.S., Dorsett D., Krantz I.D.: Mutations in cohesin complex members SMC3 and SMC1A cause a mild variant of cornelia de Lange syndrome with predominant mental retardation. *Am. J. Hum. Genet.* **2007**, **80** (3), 485–494.
37. Deardorff MA, Bando M, Nakato R, Watrin E, Itoh T, Minamino M, Saitoh K, Komata M, Katou Y, Clark D, Cole KE, De Baere E, Decroos C, Di Donato N, Ernst S, Francey LJ, Gyftodimou Y, Hirashima K, Hullings M, Ishikawa Y, Jaulin C, Kaur M, Kiyono T, Lombardi PM, Magnaghi-Jaulin L, Mortier GR, Nozaki N, Petersen MB, Seimiya H, Siu VM, Suzuki Y, Takagaki K, Wilde JJ, Willems PJ, Prigent C, Gillissen-Kaesbach G, Christianson DW, Kaiser FJ, Jackson LG, Hirota T, Krantz ID, Shirahige K. HDAC8 mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesin acetylation cycle. *Nature.* 2012 Aug 12. doi: 10.1038/11316.
38. De Lange C.: Sur un type nouveau de degeneration (typus Amstelodamensis). *Arch Med Enfants* 1933; 36: 713–719.
39. Descipio C., Kaur M., Yaeger D., Innis J.W., Spinner, N.B., Jackson, L.G., Krantz, I.D.: Chromosome rearrangements in cornelia de Lange syndrome (CdLS): report of a der(3)t(3;12)(p25.3;p13.3) in two half sibs with features of CdLS and review of reported CdLS cases with chromosome rearrangements. *Am. J. Med. Genet. A.* **2005**, **137A** (3), 276–282.
40. De Smuldres C., Theunissen P., Schrander-Stompel C., Frijns J.P., On the variable expression of the Brachmann-de Lange syndrome. *Clin. Genet.* **1992**, **41** (1), 42–45.
41. Dodge J. A., Chiladze T., Donadieu J., Grossmann Z., Ramos F., Selicorni A., Siderius L., Stefanidis C.J., Tasic V., Valiulis A., Wierzba J.: The importance of rare diseases: from the gene to society. *Arch. Dis. Child.* **2011**, **96** (9), 791–792.
42. Dorsett D., Krantz, D.: On the molecular etiology of Cornelia de Lange syndrome. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2009**, **1151**, 22–37.
43. Duvall G. A., Walden D.T.: Adenocarcinoma of the esophagus complicating Cornelia de Lange syndrome. *J. Clin. Gastroenterol.* **1996**, **22** (2), 131–136.

-
44. Egelund E. P.: Congenital hearing loss in patients with Cornelia de Lange syndrome (a report of two cases). *J. Laryngol. Otol.* **1987**, **101** (12), 1276–1279.
 45. Esposito S., Selicorni A., Daleno C., Valzan, A., Cerutti M., Galeone C., Consolo S., Menni F., Principi N.: Immunogenicity, safety and tolerability of monovalent 2009 pandemic influenza A/H1N1 MF59-adjuvanted vaccine in children and adolescents with Williams or Cornelia De Lange syndrome. *Hum. Vaccin.*, **2011**, **7** (6), 613–617.
 46. Fenton T. R.: A new growth chart for preterm babies: Babson and Benda's chart updated with recent data and a new format. *BMC. Pediatr.* 2000, **3**, 13–17.
 47. Fenton T. R., Sauve R.S.: Using the LMS method to calculate z-scores for the Fenton preterm infant growth chart. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2007**, **61** (12), 1380–1385.
 48. Filippi G.: The de Lange syndrome: Report of 15 cases. *Clin. Genet.*, 1989, **35**, 343–363.
 49. Froster U. G., Gortner L.: Thrombocytopenia in the Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **46** (6), 730–731.
 50. Fryns J. P.: Partial trisomy 4p and Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **2000**, **95** (4), 406.
 51. Fryns J. P., Vinken L.: Thrombocytopenia in the Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **1994**, **49** (3), 360.
 52. Fryns J. P., Dereymaker A.M., Hoefnagels M., D'Hondt F., Mertens G., Van Den B.H.: The Brachmann-de Lange syndrome in two siblings of normal parents. *Clin. Genet.* **1987**, **31** (6), 413–415.
 53. Gadoth N., Lerman M., Garty B.Z., Shmulewitz O.: Normal intelligence in the Cornelia de Lange syndrome. *Johns. Hopkins. Med. J.* **1982**, **150** (2), 70–72.
 54. Gause M., Misulovin Z., Bilyeu A., Dorsett D.: Dosage-sensitive regulation of cohesin chromosome binding and dynamics by Nipped-B, Pds5, and Wapl. *Mol. Cell Biol.* **2010**, **30** (20), 4940–4951.
 55. Gause M., Schaaf C.A., Dorsett D.: Cohesin and CTCF: cooperating to control chromosome conformation?. *Bioessays*. **2008**, **30** (8), 715–718.
 56. German J., Roberts' syndrome. I. Cytological evidence for a disturbance in chromatid pairing. *Clin. Genet.* **1979**, **16** (6), 441–447.
 57. Gervasini C., Pfundt R., Castronovo P., Usso S., Roversi G., Masciardi M., Milani D., Zampino G., Selicorni A., Schoenmakers E.F., Larizza L.: Search for genomic imbalances in a cohort of 24 Cornelia de Lange patients negative for mutations in the NIPBL and SMC1L1 genes. *Clin. Genet.* **2008**, **74** (6), 531–538.
 58. Gibbons R. J., Picketts D.J., Villard L., Higgs D.R.: Mutations in a putative global transcriptional regulator cause X-linked mental retardation with alpha-thalassemia (ATR-X syndrome). *Cell.* **1995**, **80** (6), 837–845.
 59. Gillis L. A., McCallum J., Kaur M., Descipio C., Yaeger D., Mariani A., Kline A.D., Li H.H., Devoto M., Jackson L.G., Krantz I.D.: NIPBL mutational analysis in 120 individuals with Cornelia de Lange syndrome and evaluation of genotype-phenotype correlations. *Am. J. Hum. Genet.* **2004**, **75** (4), 610–623.
 60. Gordillo M., Vega H., Trainer A.H., Hou F., Sakai N., Luque R., Kayserili H., Basaran S., Skovby F., Hennekam R.C., Uzielli M.L., Schnur R.E., Manouvrier S., Chang S., Blair E., Hurst J.A., Forzano F., Mainz M., Simola K.O., Raas-Rorschild A., Schultz R.A., Mcdaniell L.D., Ozono K., Inui K., Zo H., Jabs E.W.: The molecular mechanism underlying Roberts syndrome involves loss of ESCO2 acetyltransferase activity. *Hum. Mol. Genet.* **2008**, **17** (14), 2172–2178.

61. Goodban M. T., Survey of speech and language skills with prognostic indicators in 116 patients with Cornelia de Lange syndrome, *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 1059–1063.
62. Gravholt C. H.: Epidemiological, endocrine and metabolic features in Turner syndrome. *Eur. J. Endocrinol.* **2004**, **151** (6), 657–687.
63. Greenberg F., Robinson L.K.: Mild Brachmann-de Lange syndrome: changes of phenotype with age. *Am. J. Med. Genet.* **1989**, **32** (1), 90–92.
64. Greenwood R. D., Sommer A., Craenen J., Waldman J.D., Rosenthal A.: Congenital heart disease in de Lange's syndrome. *South. Med. J.* **1977**, **70** (1), 80–81.
65. Grummer-Strawn L. M., Rwinolkd C., Krebs N.F.: Use of World Health Organization and CDC growth charts for children aged 0-59 months in the United States. *MMWR Recomm. Rep.* **2010**, **59** (RR-9), 1–15.
66. Gusev N. B.: Some properties of caldesmon and calponin and the participation of these proteins in regulation of smooth muscle contraction and cytoskeleton formation. *Biochemistry (Mosc.)* **2001**, **66** (10), 1112–1121.
67. Halal F., Preus M.: The hand profile on de Lange syndrome: diagnostic criteria. *Am. J. Med. Genet.* **1979**, **3** (4), 317–323.
68. Hall S. S., Arron K., Sloneem J., Oliver C.: Health and sleep problems in Cornelia de Lange Syndrome: a case control study. *J. Intellect. Disabil. Res.* **2008**, **52** (Pt 5), 458–468.
69. Hawley P. P., Jackson L.G., Kurnit D.M.: Sixty-four patients with Brachmann-de Lange syndrome: a survey. *Am. J. Med. Genet.* **1985**, **20** (3), 453–459.
70. Heidinger-Pauli J. M., Mert O., Davenport C., Guacci V., Koshland D.: Systematic reduction of cohesin differentially affects chromosome segregation, condensation, and DNA repair. *Curr. Biol.* **2010**, **20** (10), 957–963.
71. Hillman J. C., Hammond J., Noe O., Reiss M.: Endocrine investigations in De Lange's and Seckel's syndromes. *Am. J. Ment. Defic.* **1968**, **73** (1), 30–33.
72. Hirano T.L.: At the heart of the chromosome: SMC proteins in action. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2006**, **7** (5), 311–322.
73. Hoffmann J.I., Kaplan S.: The incidence of congenital heart disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2002**, **39** (12), 1890–1900.
74. Hoppman-Chaney N., Jang J.S., Jen J., Babovic-Vuksanovic D., Hodge J.C.: In-frame multi-exon deletion of SMC1A in a severely affected female with Cornelia de Lange Syndrome. *Am. J. Med. Genet. A*, **2011** doi: 10.1002/ajmg.a.34360
75. Hou C., Dale R., Dean A.: Cell type specificity of chromatin organization mediated by CTCF and cohesin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, **107** (8), 3651–3656.
76. Huang W. H., Porto M.: Abnormal first-trimester fetal nuchal translucency and Cornelia De Lange syndrome. *Obstet. Gynecol.* **2002**, **99** (5 Pt 2), 956–958.
77. Hulinsky R., Byrne J.L., Lowichik A., Viscocil D.H.: Fetus with interstitial del(5)(p13.1p14.2) diagnosed postnatally with Cornelia de Lange syndrome, *Am. J. Med. Genet. A*, **2005**, **137A** (3), 336–338.
78. Hyman P., Oliver C.: Causal explanations, concern and optimism regarding self-injurious behaviour displayed by individuals with Cornelia de Lange syndrome: the parents' perspective. *J. Intellect. Disabil. Res.* **2001**, **45** (Pt 4), 326–334.
79. Ireland M., Burn J.: Cornelia de Lange syndrome--photo essay. *Clin. Dysmorphol.* **1993**, **2** (2), 151–160.

80. Ireland M., Donnai D., Burn J.: Brachmann-de Lange syndrome. Delineation of the clinical phenotype. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 959–964.
81. Ismaili K., Hall M., Piepsz A., Wissing K.M., Collier F., Schulman C., Avni F.E.: Primary vesicoureteral reflux detected in neonates with a history of fetal renal pelvis dilatation: a prospective clinical and imaging study. *J. Pediatr.* **2006**, **148** (2), 222–227.
82. Jackson L., Kline A.D., Barr M.A., Koch S.: de Lange syndrome: a clinical review of 310 individuals. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 940–946.
83. Jahnke P., Xu W., Wullling M., Albrecht M., Gabriel H., Gilesssen-Kaesbach G., Kaiser F.J.: The Cohesin loading factor NIPBL recruits histone deacetylases to mediate local chromatin modifications, *Nucleic Acids Res.*, **2008**, **36** (20), 6450–6458.
84. Jansen D. E., Krol B., Groothof J.W., Post D.: People with intellectual disability and their health problems: a review of comparative studies. *J. Intellect. Disabil. Res.* **2004**, **48** (Pt 2), 93–102.
85. Johnston T.A., Farra H., Double Lumen Aortic Arch in Association with Tetralogy of Fallot. *Images of Paediatric Cardiol.* **2006**, **6**, 5–7.
86. Kaga K., Tamai F., Kitazumi E., Kodama K.: Auditory brainstem responses in children with Cornelia de Lange syndrome. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* **1995**, **31** (2-3), 137–145.
87. Kanellopoulos V., Lavazzo C., Tzanatou C., Papadakis E., Tassis K.: A case of third trimester diagnosis of Cornelia de Lange syndrome. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2011**, **283** (1), 59–83.
88. Kaur M., Descipio C., Mccallum J., Yaeger D., Devoto M., Jackson L.G., Spinner N.B., Krantz I.D.: Precocious sister chromatid separation (PSCS) in Cornelia de Lange syndrome, *Am. J. Med. Genet. A.* **2005**, **138** (1), 27–31.
89. Kawauchi S., Calof A.L., Santos R., Lopez-Burks M.E., Young C.M., Hoang M.P., CHua A., Lao T., Lechner M.S., Daniel J.A., Nussenzweig A., Kitzes L., Yokomori K., Hallgrimsson B., Lander A.D.: Multiple organ system defects and transcriptional dysregulation in the Nipbl(+/-) mouse, a model of Cornelia de Lange Syndrome. *PLoS. Genet.* **2009**, **5** (9), e1000650.
90. Kliever M. A., Kahler S.G., Hertzberg B.S., Bowie J.D.: Fetal biometry in the Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 1035–1041.
91. Kline A. D., Barr M., Jackson L.G.: Growth manifestations in the Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 1042–1049.
92. Kline A. D., Grados M., Sponseller P., Levy H.P., Blagowidov N., Schoedel C., Rampolla J., Clemens D.K., Krantz I., Kimball A., Pichard C., Tuchman D.: Natural history of aging in Cornelia de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.* **2007**, **145C** (3), 248–260.
93. Kline A. D., Krantz I.D., Sommer A., Kliever M., Jackson L.G., Fitzpatrick D.R., Levin A.V., Selicorni A.: Cornelia de Lange syndrome: clinical review, diagnostic and scoring systems, and anticipatory guidance. *Am. J. Med. Genet. A.* **2007**, **143A** (12), 1287–1296.
94. Kline A. D., Stanley C., Blevitz J., Brodsky K., Barr M., Jackson L.G.: Developmental data on individuals with the Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 1053–1048.
95. Klosowski BN, Iankova MF, Fateeva EM, Damanskaia L: On the problem of the De Lange's syndrome. *Pediatrics (ros)* 1968, **47** (8), 33–39.

96. Kozłowski J., Wierzbą J., Narożny W., Balcerska A., Stankiewicz C., Kuczkowski J., Auditory function in children with Brachmann-de Lange syndrom. *Otolaryngol. Pol.* **2006**, **60** (4), 577–581.
97. Krajewska-Walasek M.: Ryzyko nierozłączania się chromosomów w mejozie jako funkcja wieku rodziców w zespole Downa Praca habilitacyjna Warszawa 1992 Pomnik – Szpital Centrum Zdrowia Dziecka.
98. Krajewska-Walasek M., Chrzanowska K., Tylki-Szymańska A., Białecka M.: A further report of Brachmann-de Lange syndrome in two sibs with normal parents. *Clin. Genet.* **1995**, **47** (6), 324–327.
99. Krantz I. D., McCallum J., Descipio C., Kaur M., Gillis L.A., Yaeger D., Jukowski L., Wasserman N., Bottani A., Morris C.A., Nowaczyk M.J., Toriello H., Bamschad M.J., Carey J.C., Rappaport E., Kawauchi S., Lander A.D., Calof A.L., Li H.H., Devoto M., Jackson L.G.: Cornelia de Lange syndrome is caused by mutations in NIPBL, the human homolog of *Drosophila melanogaster* Nipped-B. *Nat. Genet.* **2004**, **36** (6), 631–635.
100. Krantz I. D., Tonkin E., Smith M., Devoto M., Bottani A., Simpson C., Hofreiter M., Abraham V., Jukowski L., Conti B.P., Strachan T., Jackson L.: Exclusion of linkage to the CDL1 gene region on chromosome 3q26.3 in some familial cases of Cornelia de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **2001**, **101** (2), 120–129.
101. Kuźniacka A.: Analiza mutacji punktowych i dużych rearanżacji genu NIPBL u chorych z zespołem Corneli de Lange. Rozprawa doktorska. Gdański Uniwersytet Medyczny, 2011.
102. Kuźniacka A., Wierzbą J., Ratajska M., Koczkowska M., Malinowska M., Lipska B., Limon J.: The *NIPBL* gene alterations in 65 Polish patients with Cornelia de Lange Syndrome. *J Appl Genet* (in press)
103. Lambert M. P., Jackson L.G., Clark D., Kaur M., Krantz I.D., Deardorff M.A.: The incidence of thrombocytopenia in children with Cornelia de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **2011**, **155A** (1), 33–37.
104. Levin A. V., Seidman D.J., Nelson L.B., Jackson L.G.: Ophthalmologic findings in the Cornelia de Lange syndrome. *J. Pediatr. Ophthalmol. Strabismus.* **1990**, **27** (2), 94–99.
105. Lieber E., Glaser J.H., Jhaveri R.: Brachmann-de Lange syndrome. Report of two cases in a sibship. *Am. J. Dis. Child.* **1973**, **125** (5), 717–718.
106. Lipska B. S., Brzskwiniewicz M., Wierzbą J., Morzuch L., Piotrowski A., Limon J.: 8.6Mb interstitial deletion of chromosome 4q13.3q21.23 in a boy with cognitive impairment, short stature, hearing loss, skeletal abnormalities and facial dysmorphism. *Genet. Couns.* **2011**, **22** (4), 353–356.
107. Liu J., Feldman R., Zhang Z., Deardorff M.A., Haverfield E.V., Kaur M., Li J.R., Clark D., Kline A.D., Waggoner D.J., Das S., Jackson L.G., Krantz I.D.: SMC1A expression and mechanism of pathogenicity in probands with X-Linked Cornelia de Lange syndrome. *Hum. Mutat.* **2009**, **30** (11), 1535–1542.
108. Liu J., Krantz I.D.: Cohesin and human disease. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* **2008**, **9**, 303–320.
109. Liu J., Zhang Z., Bando M., Itoh T., Deardorff M.A., Clark D., Kaur M., Tandy S., Kondon T., Rappaport E., Spinner N.B., Vega H., Jackson L.G., Shirahige K., Krantz I.D.: Transcriptional dysregulation in NIPBL and cohesin mutant human cells. *PLoS. Biol.* **2009**, **7** (5), e1000119.

-
110. Luzzani S., Macchini F., Valade A., Milani D., Selicorni A.: Gastroesophageal reflux and Cornelia de Lange syndrome: typical and atypical symptoms. *Am. J. Med. Genet. A.* **2003**, **119A** (3), 283–287.
 111. Macchini F., Fava G., Selicorni A., Torricelli I.M., Leva E., Valade A.: Barrett's esophagus and Cornelia de Lange Syndrome. *Acta Paediatr.* **2010**, **99** (9), 1407–1410.
 112. Macchini F., Selicorni A., Luzzani S., Milani D., Roggero P., Valade A.: Coeliac disease and Cornelia de Lange syndrome: lack of association. *Acta Paediatr.* **2007**, **96** (10), 1518–1520.
 113. Malesci A., Savarino V., Zentilin P., Belicchi M., Mela G.S., Lapertosa G., Bocchia P., Ronchi G., Franceschi M.: Partial regression of Barrett's esophagus by long-term therapy with high-dose omeprazole. *Gastrointest. Endosc.* **1996**, **44** (6), 700–705.
 114. Mannini L., Liu J., Krantz I.D., Musio A.: Spectrum and consequences of SMC1A mutations: the unexpected involvement of a core component of cohesin in human disease. *Hum. Mutat.* **2010**, **31** (1), 5–10.
 115. Manourvier S., Espinasse M., Vaest P., Boute O., Farre I., Dupont F., Puech F., Gosselin B., Farriaux J.P.: Brachmann-de Lange syndrome: pre- and postnatal findings. *Am. J. Med. Genet.* **1996**, **62** (3), 268–273.
 116. Marston S. B., Redwood C.S.: The essential role of tropomyosin in cooperative regulation of smooth muscle thin filament activity by caldesmon. *J. Biol. Chem.* **1993**, **268** (17), 12317–12320.
 117. Marchisio P., Selicorni A., Pignataro L., Milani D., Baggi E., Lambertini L., Dusi E., Villa L., Capaccio P., Cerutti M., Esposito S., Principi N.: Otitis media with effusion and hearing loss in children with Cornelia de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **2008**, **146A** (4), 426–432.
 118. Martinez-Frias M. L., Bermejo E., Felix V., Jimenez N., Gomez-Ullate J., Lopez J.A., Aparicio P., Ayala A., Gairi J.M., Galan E., Suarez M.E., Penas A., De Tapia J.M., Nieto C., De la S.E.: Brachmann-de-Lange syndrome in our population: clinical and epidemiological characteristics. *An. Esp. Pediatr.* **1998**, **48** (3), 293–298.
 119. Mau U. A., Backsch C., Schaudt H., Trefz F.K., Kaiser P.: Three-year-old girl with partial trisomy 4p and partial monosomy 8p with resemblance to Brachmann-de Lange syndrome-another locus for Brachmann-de Lange syndrome on 4p?. *Am. J. Med. Genet.* **2000**, **91** (3), 180–184.
 120. McConnell V., Brown T., Morrison P.J.: An Irish three-generation family of Cornelia de Lange syndrome displaying autosomal dominant inheritance. *Clin. Dysmorphol.* **2003**, **12** (4), 241–244.
 121. McNairn A. J., Gerton J.L.: Cohesinopathies: One ring, many obligations. *Mutat. Res.* **2008**, **647** (1–2), 103–111.
 122. Mehta A. V., Ambalavanan S.K.: Occurrence of congenital heart disease in children with Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **1997**, **71** (4), 434–435.
 123. Michie S., French D., Allanson A., Bobrow M., Marteau
 124. T.M.: Information recall in genetic counselling: a pilot study of its assessment. *Patient. Educ. Couns.* **1997**, **32** (1–2), 93–100.

125. Miller G., Monnier P., Savary M., Maurer W., Gloor F.: An esophageal carcinoma limited to the mucosa and submucosa (proceedings). *Z. Gastroenterol.* **1978**, **16** (11), 699–700.
126. Misulovin Z., Schwartz Y.B., Li X.Y., Kahn T.G., Gause M., Macarthur S., Fay J.C., Eisen M.B., Pirotta V., Biggin M.D., Dorsett D.: Association of cohesin and Nipped-B with transcriptionally active regions of the *Drosophila melanogaster* genome. *Chromosome*, **2008**, **117** (1), 89–102.
127. Miyake N., Visser R., Kinoshita A., Yoshiura K., Niikawa N., Kondoh T., Matsumoto N., Harada N., Okamoto N., Sonoda T., Naritomi K., Kaname T., Chinemura Y., Tonoki H., Kurosawa K.: Four novel NIPBL mutations in Japanese patients with Cornelia de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **2005**, **135** (1), 103–105.
128. Moeschler J. B., Graham J.M., JR.: Mild Brachmann-de Lange syndrome. Phenotypic and developmental characteristics of mildly affected individuals. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 969–976.
129. Moss J. F., Oliver C., Berg K., Kaur G., Jephcott L., Cornisch K.: Prevalence of autism spectrum phenomenology in Cornelia de Lange and Cri du Chat syndromes. *Am. J. Ment. Retard.* **2008**, **113** (4), 278–291.
130. Moss J., Oliver C., Hall S., Arron K., Sloneem J., Petty J.: The association between environmental events and self-injurious behaviour in Cornelia de Lange syndrome. *J. Intellect. Disabil. Res.* **2005**, **49** (Pt 4), 269–277.
131. Murray J. E., Wlayat M., Gillett P., Sharkey F.H., Rajan D., Carter N.P., Fitzpatrick D.R.: An atypical facial appearance and growth pattern in a child with Cornelia de Lange Syndrome: an intragenic deletion predicting loss of the N-terminal region of NIPBL. *Clin. Dysmorphol.* **2012**, **21** (1), 22–23.
132. Musio A., Krantz I.D.: Cohesin biology and the cohesinopathies: Abstracts from the Second Biennial Conference, Pontignano, Italy, 2009, *Am. J. Med. Genet. A.* **2010**, **152A** (7), 1630–1640.
133. Musio A., Selicorni A., Focarelli M.L., Gervasini C., Milani D., Russo S., Vessoni P., Larizza L.: X-linked Cornelia de Lange syndrome owing to SMC1L1 mutations. *Nat. Genet.* **2006**, **38** (5), 528–530.
134. Muto A., Calof A.L., Lander A.D., Schilling T.F., Multifactorial origins of heart and gut defects in nipbl-deficient zebrafish, a model of Cornelia de Lange Syndrome, *PLoS. Biol.* **2011**, **9** (10), e1001181.
135. Nallasalmy S., Kherant F., Yaeger D., McCallum J., Kaur M., Devoto M., Jackson L.G., Krantz I.D., Young T.L.: Ophthalmologic findings in Cornelia de Lange syndrome: a genotype-phenotype correlation study, *Arch. Ophthalmol.* **2006**, **124** (4), 552–557.
136. Nasmyth K., Haering C.H.: The structure and function of SMC and kleisin complexes, *Annu. Rev. Biochem.* **2005**, **74**, 595–648.
137. Neuwald A. F., Hirano T.: HEAT repeats associated with condensins, cohesins, and other complexes involved in chromosome-related functions. *Genome Res.* **2000**, **10** (10), 1445–1452.
138. Niu D. M., Huang J.Y., Li H.Y., Liu K.M., Wang S.T., Chen Y.J., Udaka T., Izumi K., Kosaki K.: Paternal gonadal mosaicism of NIPBL mutation in a father of siblings with Cornelia de Lange syndrome. *Prenat. Diagn.* **2006**, **26** (11), 1054–1057.

-
139. Oblacińska A., Jodkowska M., Mikiei-Kostyra K., Palczewska I.: Assessment of physical development of children and adolescents. Part I. Infants and children up to 5 years-national reference values or WHO standards?.PartII.Children and adolescentsaged 6-19 years-national references or WHO recommendations? *Med. Wiek. Rozwoj.* **2010**, **14** (2), 95–114
140. Olios G.,Pasarini A., Atzen F., Milani D., Cereda A., Cerutti M., Maitz N., Menni F., Selicorni A.: Clinical problems and everyday abilities of italia adolescent and young adults with Cornelia de Lange Syndrome. *Am. J. Med. Genet A.* **2009**, **149A**, 11, 2532–2537.
141. Oliveira J., Dias C., Redeker E., Costa E., Silva J., Reis L.M., Den Dunnen,J.T., Santos,R.: Development of NIPBL locus-specific database using LOVD: from novel mutations to further genotype-phenotype correlations in Cornelia de Lange Syndrome. *Hum. Mutat.* **2010**, **31** (11), 1216–1222.
142. Oliver C., Bedeschi M.F., Blagovidow N., Carrico C.S., Cereda A., Fitzpatrick D.R., Gervasini C., Griffith G.M., Kline A.D., Marchisio P., Moss J., Ramos F.J., Selicorni A., Tunnincliffe P., Wierzba J., Hennekam R.C.: Cornelia de Lange syndrome: extending the physical and psychological phenotype. *Am. J. Med. Genet. A.* **2010**, **152A** (5), 1127–1135.
143. Oliver C., Arron K., Soneem J., Hall S.: Behavioural phenotype of Cornelia de Lange syndrome: case-control study. *Br. J. Psychiatry.***2008**, **193** (6), 466–470.
144. Oliver C., Sloneem J., Hall S., Arron K.: Self-injurious behaviour in Cornelia de Lange syndrome: 1. Prevalence and phenomenology. *J. Intellect. Disabil. Res.* **2009**, **53** (7), 575–589.
145. Opitz J. M.: The Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **1985**, **22** (1), 89–102.
146. 145. Opitz J. M.: Brachmann-de Lange syndrome. A continuing enigma. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* **1994**, **148** (11), 1206–1208.
147. Oudit G. Y., Chow C.M., Cantor W.J.: Calcific bicuspid aortic valve disease in a patient with Cornelia de Lange syndrome: linking altered Notch signaling to aortic valve disease. *Cardiovasc. Pathol.* **2006**, **15** (3), 165–167.
148. Pajkrt E., Weisz B., Firth H.V., Chitty L.S.: Fetal cardiac anomalies and genetic syndrome., *Prenat. Diagn.* **2004**, **24** (13), 1104–1115.
149. Pajkrt E., Griffin D.R., Chitty L.S.: Brachmann-de Lange syndrome: definition of prenatal sonographic features to facilitate definitive prenatal diagnosis. *Prenat. Diagn.* **2010**, **30** (9), 865–872.
150. Palczewska I., Niedźwiedzka Z., Szilagyi-Pagowska I., Pawlik K.: Secular growth trends in children and youth of Warsaw in the last twenty years. *Med. Wiek. Rozwoj.*, **2004** (2), 161–171.
151. Pauli A., Althoff F., Oliveira R.A., Heidmann S., Schuldinger O., Lehner C.F., Dickson B.J., Nasmth K.: Cell-type-specific TEV protease cleavage reveals cohesin functions in *Drosophila* neurons. *Dev. Cell* **2008**, **14** (2), 239–251.
152. Pehlivan D., Hullings M., Carvalho C.M., Gonzaga-Jauregui C.G., Loy E., Jackson L.G., Krantz I.D., Deardorff M.A., Lupski J.R.: NIPBL rearrangements in Cornelia de Lange syndrome: evidence for replicative mechanism and genotype-phenotype correlation. *Genet. Med.* **2012**, 1–10.
153. Pei R. S., Lin C.C., Mak S.C., Chi C.S., Chou G., Barrett's esophagus in a child with de Lange syndrome: report of one case, *Acta Paediatr. Taiwan.* **2000**, **41** (3), 155–157.

154. Pfitzer G., Zeugner C., Troschka M., Chalovitz J.M.: Caldesmon and a 20-kDa actin-binding fragment of caldesmon inhibit tension development in skinned gizzard muscle fiber bundles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1993**, **90** (13), 5904–5908.
155. Pie J., Gil-Rodriguez M.C., Ciero M., Lopez-Vinaz E., Riate M.P., Arnedo M., Deardorff M.A., Puisac B., Legarreta J., De Karam J.C., Rubio E., Bueno I., Baldellou A., Calvo M.T., Casals N., Olivares J.L., Losada A., Hegardt F.G., Krantz I.D., Gomez-Puertas P., Ramos F.J.: Mutations and variants in the cohesion factor genes NIPBL, SMC1A, and SMC3 in a cohort of 30 unrelated patients with Cornelia de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **2010**, **152A** (4), 924–929.
156. Pihl K., Larsen T., Krebs L., Christiansen M.: First trimester maternal serum PAPP-A, beta-hCG and ADAM12 in prediction of small-for-gestational-age fetuses. *Prenat. Diagn.* **2008**, **28** (12), 1131–1135.
157. Preus M., Rex A.P.: Definition and diagnosis of the Brachmann-De Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **1983**, **16** (3), 301–312.
158. Rajan R., Benke J.R., Kline A.D., Levy H.P., Kimball A., Mettel T.L., Boss E.F., Ishman S.L.: Insomnia in Cornelia de Lange Syndrome. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* **2012**, **76** (7), 972–975.
159. Ranke M. B., Saenger P.: Turner's syndrome. *Lancet.* **2001**, **358** (9278), 309–314.
160. Rao P. S., Sissman N.J.: Congenital heart disease in the de Lange syndrome. *J. Pediatr.* **1971**, **79** (4), 674–677.
161. Ratajska M., Wierzba J., Pehlivan D., Xia Z., Brubdage E.K., Cheung S.W., Stankiewicz P., Lupski J.R., Limon J.: Cornelia de Lange syndrome case due to genomic rearrangements including NIPBL. *Eur. J. Med. Genet.* **2010**, **53** (6), 378–382.
162. Revenkova E., Focarelli M.L., Susani L., Paulis M., Bassi M.T., Mannini L., Frattini A., Delia D., Krantz I., Vezzoni P., Jessberger R., Musio A.: Cornelia de Lange syndrome mutations in SMC1A or SMC3 affect binding to DNA. *Hum. Mol. Genet.* **2009**, **18** (3), 418–427.
163. Ritchie K., Seah C., Moulin J., Isaac C., Dick F., Berube N.G., Loss of ATRX leads to chromosome cohesion and congression defects. *J. Cell Biol.* **2008**, **180** (2), 315–324.
164. Robinson L. K., Wolsberg E., Jones K.L.: Brachmann-de Lange syndrome: evidence for autosomal dominant inheritance. *Am. J. Med. Genet.* **1985**, **22** (1), 109–115.
165. Rohadgi S., Clark D., Kline A.D., Jackson L.G., Pie J., Siu V., Ramos F.J., Krantz I.D., Deardorff M.A.: Facial diagnosis of mild and variant CdLS: Insights from a dysmorphologist survey. *Am. J. Med. Genet. A.* **2010**, **152A** (7), 1641–1653.
166. Rollins R. A., Morcillo P., Dorsett D.: Nipped-B, a Drosophila homologue of chromosomal adherins, participates in activation by remote enhancers in the cut and Ultrabithorax genes. *Genetics.* **1999**, **152** (2), 577–593.
167. Rollins R. A., Korom M., Aulner N., Martens A., Dorsett D.: Drosophila nipped-B protein supports sister chromatid cohesion and opposes the stromalin/Scc3 cohesion factor to facilitate long-range activation of the cut gene. *Mol. Cell Biol.* **2004**, **24** (8), 3100–3111.

-
168. Roposch A., Bhaskar A.R., Lee F., Adedapo S., Mousny M., Alman B.A.: Orthopaedic manifestations of Brachmann-de Lange syndrome: a report of 34 patients. *J. Pediatr. Orthop. B.* **2004**, **13** (2), 118–122.
 169. Russell K. L., Ming J.E., Patel K., Jukofsky L., Magnusson M., Krantz I.D.: Dominant paternal transmission of Cornelia de Lange syndrome: a new case and review of 25 previously reported familial recurrences. *Am. J. Med. Genet.* **2001**, **104** (4), 267–276.
 170. Russo S., Masciadri M., Gervasini C., Azzollini J., Cereda A., Zampino G., Haas O., Scarano G., Di Rocco M., Finelli P., Tenconi R., Selicorni A., Larizza L.: Intragenic and large NIPBL rearrangements revealed by MLPA in Cornelia de Lange patients. *Eur. J. Hum. Genet.*, **2012**, 1–8.
 171. Saal H. M., Samango-Sprouse C.A., Rodnan L.A., Rosenbaum K.N., Custer D.A.: Brachmann-de Lange syndrome with normal IQ. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 995–998.
 172. Saenger P., Wikland K.A., Conway G.S., Davebport M., Gravholt C.H., Hintz R., Hovatta O., Hultcrantz M., Landin-Wilhelmsen K., Lin A., Lippe B., Pasquino A.M., Ranke M.B., Rosenfeld R., Silberbach M.: Recommendations for the diagnosis and management of Turner syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2001**, **86** (7), 3061–3069.
 173. Sakai Y., Watanabe T., Kaga K.: Auditory brainstem responses and usefulness of hearing aids in hearing impaired children with Cornelia de Lange syndrome. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* **2002**, **66** (1), 63–69.
 174. Samanek M.: Congenital heart malformations: prevalence, severity, survival, and quality of life. *Cardiol. Young.* **2000**, **10** (3), 179–185.
 175. Sarimski K.: Infant attentional behaviours as prognostic indicators in Cornelia-de-Lange syndrome. *J. Intellect. Disabil. Res.* **2007**, **51** (Pt 9), 697–701.
 176. Sarimski K.: Analysis of intentional communication in severely handicapped children with Cornelia-de-Lange syndrome. *J. Commun. Disord.* **2002**, **35** (6), 483–500.
 177. Sasaki T., Kaga K., Ohira Y., Ogawa Y., Fukushima Y.: Temporal bone and brain stem histopathological findings in Cornelia de Lange syndrome. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* **1996**, **36** (3), 195–204.
 178. Sataloff R. T., Spiegel J.R., Hawkshaw M., Epstein J.M., Jackson L.: Cornelia de Lange syndrome. Otolaryngologic manifestations. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* **1990**, **116** (9), 1044–1046.
 179. Saul R. A., Rogers R.C., Phelan M.C., Stevenson R.E.: Brachmann-de Lange syndrome: diagnostic difficulties posed by the mild phenotype. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 999–1002.
 180. Schieppati A., Henter J.I., Daina E., Aperia A.: Why rare diseases are an important medical and social issue. *Lancet.* **2008**, **371** (9629), 2039–2041.
 181. Schmidt D., Schwalie P.C., Ross-Innes C.S., Hurtado A., Brown G.D., Carroll J.S., Flicek P., Odom D.T.: A CTCF-independent role for cohesin in tissue-specific transcription. *Genome Res.* **2010**, **20** (5), 578–588.
 182. Schoumans J., Wincent J., Barbaro M., Djureinovic T., Maguire P., Forsberg L., Staaf J., Turesson A.C., Borg A., Norfgren A., Malm G., Anderlid B.M.: Comprehensive mutational analysis of a cohort of Swedish Cornelia de Lange syndrome patients. *Eur. J. Hum. Genet.* **2007**, **15** (2), 143–149.

183. Schrier S. A., Sherer I., Deardorff M.A., Clark D., Audette L., Gillis L., Kline A.D., Ernst L., Loomes K., Krantz I.D., Jackson L.G.: Causes of death and autopsy findings in a large study cohort of individuals with Cornelia de Lange syndrome and review of the literature. *Am. J. Med. Genet. A.*, **2011**, **155A** (12), 3007–3024.
184. Schule B., Oviedo A., Johnston K., Pai S., Francke U.: Inactivating mutations in ESCO2 cause SC phocomelia and Roberts syndrome: no phenotype-genotype correlation. *Am. J. Hum. Genet.* **2005**, **77** (6), 1117–1128.
185. Schwartz I. D., Schwartz K.J., Kousseff B.G., Bercu B.B., Root A.W.: Endocrinopathies in Cornelia de Lange syndrome. *J. Pediatr.* **1990**, **117** (6), 920–923.
186. Selicorni A., Russo S., Gervasisni C., Castronovo P., Milani D., Cavalleri F., Bentivegna A., Masciadri M., Domi A., Divizia M.T., Sforzini C., Tarantino E., Memo L., Scarano G., Larizza L.: Clinical score of 62 Italian patients with Cornelia de Lange syndrome and correlations with the presence and type of NIPBL mutation. *Clin. Genet.* **2007**, **72** (2), 98–108.
187. Selicorni A., Colli A.M., Passarini A., Milani D., Cereda A., Cerutti M., Maitz S., Alloni V., Salvini L., Galli M.A., Ghiglia S., Salice P., Danzi G.B.: Analysis of congenital heart defects in 87 consecutive patients with Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **2009**, **149A**, (6), 1268–1282.
188. Selicorni A., Sforzini C., Milani D., Cagnoli G., Fossali E., Bianchetti M.G.: Anomalies of the kidney and urinary tract are common in de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **2005**, **132** (4), 395–397.
189. Sepulveda W., Wong A.E., Dezerega V.: Brachmann-de Lange Syndrome: prenatal diagnosis with 2- and 3-dimensional sonography. *J. Ultrasound Med.* **2009**, **28** (3), 401–404.
190. Shaheen N., Ransohoff D.F.: Gastroesophageal reflux, Barrett esophagus, and esophageal cancer: clinical applications. *JAMA.* **2002**, **287** (15), 1982–1986.
191. Slavin T. P., Lazebnik N., Clark D.M., Vengoechea J., Cohen L., Kaur M., Konczal L., Crowe C.A., Corteville J.E., Nowaczyk M.J., Byrne J.L., Jackson L.G., Krantz I.D.: Germline mosaicism in Cornelia de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.*, 2012, **158A** (6), 1481–1485.
192. Sommer A.: Occurrence of the Sandifer complex in the Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 1026–1028.
193. Strachan T.: Cornelia de Lange Syndrome and the link between chromosomal function, DNA repair and developmental gene regulation. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **2005**, **15** (3), 258–264.
194. Stembalska A., Slezak R., Pesz K., Gil J., Sasiadek M.: Prenatal diagnosis--principles of diagnostic procedures and genetic counseling. *Folia Histochem Cytobiol.* 2007; 45 Suppl 1, 11–6.
195. Struck M. F., Seifert J., Rummeler A., Nowak A.: To intubate or not to intubate: Cornelia de Lange syndrome, ileus and helicopter transport. *Eur. J. Emerg. Med.* **2012**, **19** (2), 126–127.
196. Thackray H., Tiffit C.: Fetal alcohol syndrome. *Pediatr. Rev.* **2001**, **22** (2), 47–55.
197. Tonkin E. T., Wang T.J., Lisgo S., Bamshad M.J., Strachan T.: NIPBL, encoding a homolog of fungal Scc2-type sister chromatid cohesion proteins and fly Nipped-B, is mutated in Cornelia de Lange syndrome. *Nat. Genet.* **2004**, **36** (6), 636–641.

-
198. Tsukuhara M., Okamoto N., Ohaashi H., Kuwajima K., Kondo I., Sugie H., Nagai T., Naritomi K., Hasegawa T., Fukushima A.Y., Masuno M., Kuroki Y.: Brachmann-de Lange syndrome and congenital heart disease. *Am. J. Med. Genet.* **1998**, **75** (4), 441–442.
 199. Urban M., Hartung J.: Ultrasonographic and clinical appearance of a 22-week-old fetus with Brachmann-de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **2001**, **102** (1), 73–75.
 200. Van Allen M. I., Filippi G., Siegel-Bartelt J., Yong S.L., McGillivray B., Zuker R.M., Smith C.R., Magee J.F., Ritchie S., Toi A.: Clinical variability within Brachmann-de Lange syndrome: a proposed classification system. *Am. J. Med. Genet.* **1993**, **47** (7), 947–958.
 201. Van Der Lelij. P., Chrzanowska K.H., Godthelp B.C., Rooimans M.A., Oostra A.B., Stumm M., Zdzienicka M.Z., Joenje H., De Winter J.P.: Warsaw breakage syndrome, a cohesinopathy associated with mutations in the XPD helicase family member DDX11/ChlR1. *Am. J. Hum. Genet.* **2010**, **86** (2), 262–265.
 202. Vega H., Waisfisz Q., Gordillo M., Sakai N., Yanagihara I., Yamada M., Van Gosliga D., Kayserili H., Xu C., Ozono K., Jabs E.W., Inui K., Joenje H.: Roberts syndrome is caused by mutations in ESCO2, a human homolog of yeast ECO1 that is essential for the establishment of sister chromatid cohesion. *Nat. Genet.* **2005**, **37** (5), 468–470.
 203. Vrolik W. *Tabulae ad illustrandam embryogenesin hominis et mammalium tam naturalem quam abnormem.* London, Amsterdam: 1849–1852.
 204. Vrouwe M. G., Elghalbzouri-Maghrani E., Meijers M., Schouten P., Godthelp B.C., Bhuiyan Z.A., Redeker E.J., Mannenes M.M., Mullenders L.H., Pastink A., Darroudi F.: Increased DNA damage sensitivity of Cornelia de Lange syndrome cells: evidence for impaired recombinational repair. *Hum. Mol. Genet.* **2007**, **16** (12), 1478–1487.
 205. Vuilleumier N., Kovari E., Michon A., Hof P.R., Mentenopoulos G., Giannakopoulos P., Bouras C.: Neuropathological analysis of an adult case of the Cornelia de Lange syndrome. *Acta Neuropathol.* **2002**, **104** (3), 327–332.
 206. Weichert J., Schroer A., Beyer D.A., Gilessen-Kaesbach G., Stefanova I.: Cornelia de Lange syndrome: antenatal diagnosis in two consecutive pregnancies due to rare gonadal mosaicism of NIPBL gene mutation. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **2011**, **24** (7), 978–982.
 207. Westergaard J. G., Chemnitz J., Teisner B., Poulsen H.K., Ipsen L., Beck B., Grudzinskas J.G.: Pregnancy-associated plasma protein A: a possible marker in the classification and prenatal diagnosis of Cornelia de Lange syndrome. *Prenat. Diagn.* **1983**, **3** (3), 225–232.
 208. Wierzba J., Gil-Rodriguez M.C., Polucha A., Puisac B., Arnedo M., Teresa-Rodrigo M.E., Winnicka D., Hegardt F.G., Ramos F.J., Limon J., Pie J., Cornelia de Lange syndrome with NIPBL mutation and mosaic Turner syndrome in the same individual. *BMC. Med. Genet.* **2012**, **13** (1), 43–59.
 209. Wierzba J., Kuźniacka A., Ratajska M., Lipska B.S., Kardaś I., Iliszko M., Limon J.: Cornelia de Lange syndrome associated with a de-novo novel NIPBL splice-site mutation and a coincidental inherited translocation t(3;5)(p13;q11). *Clin. Dysmorphol.* **2011**, **20** (4), 222–224.
 210. Wierzba J., Wierzba T., Mazurkiewicz-Beldzińska M., Szyca R., J Kozłowski J., Banach P., Potaż P., Limon J.: Dorosły z rzadkim schorzeniem genetycznym: dia-

- gnostyka i terapia zespołu Cornellii de Lange *Forum Med. Rodz.* **2010**, **4**, 167–174
211. Wulffaerth J., Bercklaer-Onnes I., Kroonenberg P., Scholte E., Bhuiyan Z., Hennekam R., Simultaneous analysis of the behavioural phenotype, physical factors, and parenting stress in people with Cornelia de Lange syndrome, *J. Intellect. Disabil. Res.* **2009**, **53** (7), 604–619.
 212. Wygnanski-Jaffe T., Shin J., Perruzza E., Abdoell M., Jackson L.G., Levin A.V.: Ophthalmologic findings in the Cornelia de Lange Syndrome. *J. AAPOS.* **2005**, **9** (5), 407–415.
 213. Yamaguchi K., Ishitobi F.: Brain dysgenesis in Cornelia de Lange syndrome. *Clin. Neuropathol.* **1999**, **18** (2), 99–105.
 214. Yamanobe S., Ohtani I.: Temporal bone pathology in Cornelia de Lange syndrome. *Otol. Neurotol.* **2001**, **22** (1), 57–60.
 215. Yan J., Saifi G.M., Wierzba T.H., Withers M., Bien-Willner G.A., Limon J., Stankiewicz P., Lupski J.R., Wierzba J.: Mutational and genotype-phenotype correlation analyses in 28 Polish patients with Cornelia de Lange syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **2006**, **140** (14), 1531–1541.
 216. Yan J., Zhang F., Brundage E., Scheurle A., Lanpher B., Erickson R.P., Powis Z., Robinson H.B., Trapane P.L., Stachiw-Hietpas D., Keppler-Noreuil K.M., Lalani S.R., Sahoo T., Chinault A.C., Patel A., Cheung S.W., Lupski J.R.: Genomic duplication resulting in increased copy number of genes encoding the sister chromatid cohesion complex conveys clinical consequences distinct from Cornelia de Lange. *J. Med. Genet.* **2009**, **46** (9), 626–634.
 217. Yurttufan S., Ozdemir R., Erdevi O., Kocabas A., Akcay A., Oguz S.S., Dilmed U., Cornelia de Lange syndrome in a preterm infant presenting with coarctation of aorta and perimembranous ventricular septal defect, *Genet. Couns.* **2011**, **22** (4), 435–438.
 218. Xu H., Balakrishnan K., Malaterre J., Beasley M., Yan Y., Essers J., Appeldoorn E., Tomaszewski J.M., Vazquez M., Verschoor S., Lavin M.F., Bertencello I., Ramsay R.G., McKay M.J.: Rad21-cohesin haploinsufficiency impedes DNA repair and enhances gastrointestinal radiosensitivity in mice, *PLoS. One.* **2010**, **5** (8), e12112.
 219. Zhang B., Chang J., Fu M., Huang J., Kashyap R., Salavaggione E., Jain S., Kulkarni S., Deardorff M.A., Uzielli M.L., Dorsett D., Beebe D.C., Jay P.Y., Heuckeroth R.O., Krantz I., Milbrandt J.: Dosage effects of cohesin regulatory factor PDS5 on mammalian development: implications for cohesinopathies, *PLoS. One.* **2009**, **4** (5), e5232. 1–17.
 220. Zhang B., Jain S., Song H., Fu M., Heuckeroth R.O., Erlich J.M., Jay P.Y., Milbrandt J.: Mice lacking sister chromatid cohesion protein PDS5B exhibit developmental abnormalities reminiscent of Cornelia de Lange syndrome. *Development.* **2007**, **134** (17), 3191–3201.
 221. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=NIPBL>
 222. <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/NIPBL>
 223. http://grenada.lumc.nl/LOVD2/CDLS/home.php?select_db=NIPB

8. STRESZCZENIE

Zespół Cornellii de Lange (CdLS; OMIM122470, 300590, 610759) jest rzadko występującym (1:10000–1:30000), genetycznie uwarunkowanym zespołem cech klinicznych charakteryzującym się: mikrosomią z proporcjonalnym małym głowiem i charakterystyczną dysmorfia twarzą, z częstym występowaniem wad: kończyn, przede wszystkim górnych, serca, układu moczowo-płciowego, wzroku, niedosłuchu, a także zaburzeniami czynnościowymi przewodu pokarmowego. Typowa jest niepełnosprawność intelektualna z brakiem rozwoju lub niedorozwojem mowy i zaburzeniami zachowania. Badania ostatnich lat ujawniły, że czynnikiem etiopatogenetycznym zespołu są mutacje genów kodujących białka układu kohezyny, w tym przede wszystkim genu *NIPBL*, które wykazano u 25–60% pacjentów. Nieliczne dane wskazują, że określenie powiązań między fenotypem i genotypem ma istotne znaczenie dla właściwego poradnictwa genetycznego i strategii terapeutycznej.

Badaniami objęto 74-osobową grupę polskich pacjentów (35 płci żeńskiej; 47,29%; i 39 płci męskiej; 52,71%) w wieku od 8 miesięcy do 36 lat (średnia $12,72 \pm 8,10$ roku), z potwierdzonym klinicznie rozpoznaniem CdLS, obserwowaną od 10 lat. Rodziny wszystkich pacjentów są zrzeszone w Stowarzyszeniu Cornelia de Lange – Polska, które wspierało rekrutację pacjentów i organizację badań. Polska. Grupa pacjentów z CdLS jest trzecią pod względem liczebności z dotąd opublikowanych na świecie (po amerykańskiej i włoskiej). W analizie uwzględniono wywiad rodzinny, ciążowy i okołoporodowy, dane antropometryczne, ocenę: pediatryczną, gastroenterologiczną, kardiologiczną, nefrologiczną, endokrynologiczną, hematologiczną, otolaryngologiczną, okulistyczną, neurologiczną, ocenę rozwoju psychomotorycznego i ocenę fenotypu behawioralnego. Badania uzupełniono dokumentacją zdjęciową, radiogramami, badaniami ultrasonograficznymi, endoskopowymi, badaniami EKG i EEG. Wykonano badania cytogenetyczne oraz molekularne genów *NIPBL* i *SMC1*. Badania MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) wykonano u 31 pacjentów z brakiem potwierdzenia mutacji punktowej *NIPBL* i *SMC1*. Przy pozytywnym wyniku badania MLPA zastosowano dodatkowo porównawczą hybrydyzację genomową na mikromacierzy (*Array-CGH-Array Comparative Genomic Hybridisation*).

Zidentyfikowano 65 wariantów sekwencyjnych genu *NIPBL*, w tym 40 mutacji punktowych (u 54,05% pacjentów), w tym: 16 (40%) mutacji z przesunięciem ramki odczytu (*frame shift*), 4 (10%) mutacje z przedwczesnym kodonem STOP (*nonsense*), 16 (40%) mutacji zmiany sensu (*missense*), trzy (7,50%) mutacje zlokalizowane w miejscu akceptorowym lub donorowym procesu składania RNA, zaburzające ten proces (*splice-site*), jedną (2,5%) delecję 3 nukleotydów (*in-frame*). U trzech pacjentów stwierdzono delecje obejmujące fragment lub cały allel *NIPBL* oraz fragmenty genów przyległych (rearanżacje genomowe). Badania molekularne rodziców wskazują, że wszystkie ujawnione mutacje były mutacjami *de novo*. U pozostałych 31 pacjentów nie stwierdzono mutacji w genach: *NIPBL* oraz *SMC1*.

Obraz kliniczny polskich pacjentów z zespołem Cornellii de Lange odpowiadał jego typowej charakterystyce. Pacjenci wykazywali: pre- i postnatalną mikrosomię, charakterystyczną dysmorfia twarzą, wady narządowe, upośledzenie rozwoju psychomotorycznego, zaburzenia rozwoju mowy i nietypowy profil zachowań, a jednym z najczęstszych zaburzeń czynnościowych był refluks żołądkowo-przłykowy. Fenotyp dysmorfologiczny zmieniał się z wiekiem zachowując jednak u większości typowe cechy: mikro- i bra-

chycefalię, hirsutyzm, wyraziste brwi z synophrys, długie rzęsy, spłaszczenie nasady nosa, drobne usta, drobne dłonie i stopy, klinodaktylię palca V. Niska masa urodzeniowa, mikrosomia i wady ubytkowe kończyn są niekorzystnymi czynnikami prognostycznymi upośledzenia rozwoju psychomotorycznego i rozwoju mowy, natomiast masa urodzeniowa zbliżona do prawidłowej, koreluje z lepszym rozwojem intelektualnym. Refluks żołądkowo-przełykowy był obecny u ponad 70% pacjentów. Występował częściej u osób z klasyczną postacią choroby i głębokim upośledzeniem rozwoju. Występowanie refluksu żołądkowo-przełykowego predysponowało do stereotypii, samookaleczeń i zachowań autystycznych. Pacjenci z mutacjami punktowymi lub rearanżacjami genu *NIPBL* wykazywali bardziej charakterystyczny i cięższy obraz kliniczny, w porównaniu do pacjentów bez mutacji tego genu, przy czym najcięższy fenotyp prezentowały osoby z mutacjami skracającymi produkt białkowy (*frame shift* i *nonsense*). Metaanaliza zawierająca dane własne w zestawieniu z danymi autorów innych publikacji ujawniła, że spośród porównywanych cech jedynie trzy miały charakter różnicujący osoby M+ i M-. U osób M+ istotnie częściej stwierdzano: niski wzrost poniżej 25 percentyla wg siatek CDLS, niedosłuch lub głuchotę i refluks żołądkowo-przełykowy (GER). Obraz kliniczny różnych typów mutacji *NIPBL*, a także poszczególnych mutacji punktowych jest wysoce niespecyficzny. Nieliczne cechy fenotypowe częściej stwierdzane w niektórych mutacjach punktowych genu *NIPBL* nie są wystarczające dla rozpoznania rodzaju mutacji. Doświadczenia własne wynikające z długotrwałej obserwacji pacjentów z CdLS oraz ich rodzin pozwoliło na opracowanie modelu postępowania diagnostycznego oraz efektywnej wielodyscyplinarnej opieki. Opracowano rekomendacje dotyczące postępowania z pacjentem chorym na CdLS, które zawierają zasady rozpoznawania, podstawy poradnictwa genetycznego, propozycję postępowania terapeutycznego oraz prognozowanie rozwoju.

9. SUMMARY

Cornelia de Lange Syndrome (CdLS; OMIM122470, 300590,610759) is a rare (1:10000–1:30000) genetic multisystem disorder characterized by microsomia and proportional microcephaly, distinctive dysmorphic features, limb, mainly upper, heart, urogenital, ocular congenital malformations, hypoacusis, gastrointestinal complications. The main part of the clinical picture is the mental retardation, lack of normal speech and some of behaviour disorders.

About 25-60% cases of CdLS are caused by point mutations in one of four genes building the cohesin system, mainly in *NIPBL*, and less frequently in *SMC1*, *SMC3* and *HDAC8*. The genotype-phenotype analysis is the crucial for genetic counseling and the strategies of therapy.

The aim of this study has been the clinical and molecular delineation of 74 CdLS patients (35 females; 47.29% and 39 males; 52.71%) from 8 months to 36 years with the clinical CdLS diagnosis, observed for 10 years. All patient's families were the members of CdLS Association- Poland, which supported the patients recruitment and multidisciplinary investigations. The Polish CdLS group is the third in the world according to the number of described patients. The evaluations consisted of family history, pregnancy, perinatal and neonatal period, clinical history, antropometric data, pediatric, gastroenterologic, cardiac, nephrologic, neurologic, endocrinologic, hematologic, otolaryngologic, ophthalmologic and neurologic examinations. The behavioral study has also been conducted. Bone radiology, abdomen ultrasonography, gastrointestinal X-ray, endoscopy, audiometry, Electrocardiography and Electro-encephalography as well as some laboratory investigations were also performed. Karyotype was performed in all cases. The *NIPBL* has been accomplished in all cases, *SMC1* molecular analysis in 31 *NIPBL* negative patients. Extended screening with the use of multiplex ligation-dependent PCR amplification (MLPA) was performed in the 31 *NIPBL* and *SMC1* negative patients.

65 variants of *NIPBL* gene were identified, including 40 *NIPBL* mutations (54.05%), of which: 20 (50%) *truncating* (16 (40%) *frame shift*, 4 (10%) *nonsense*), 16 (40%) *missense*, 3 (7.50%) – *splice-site*, and 1 (2.5%) – *in-frame* cases. Three *NIPBL* rearrangements (4.05%) were also diagnosed. Nearly all (except two with unknown parents) were *de novo*. Nine patients (22.50%) shared the previously noted mutations. The remaining 31 patients were *NIPBL* and *SMC1* negative.

According to clinical criteria the typical phenotype was diagnosed in all patients. The patients demonstrated: pre- and postnatal microsomia, dysmorphic face, congenital malformations, psychomotor retardation, speech disorders and atypical behavior profile. Gastro-esophageal reflux was one of the most common disorders.

The dysmorphic phenotype changed with age, but the micro- brachycephaly, hirsutism, brow hypertrichosis with synophrys, long eyelashes, wide nostrils, thin lips, small hands and feet and Vth finger clinodactyly remained in most cases.

The low birth weight, postnatal microsomia, severe upper limb defects predisposed to severe mental retardation and lack of speech. The nearly normal birth weight predicted better psychomotor development. The gastrointestinal reflux (GER) was evident in more than 70%, more often in CdLS individuals with classic type of disease and severe retardation and predisposed to stereotypies, autoaggression and autistic behaviour.

The patients with *NIPBL* point mutations and rearrangements were more severely affected in comparison to mutation negative individuals. The patients with *truncating* (*frame shift* and *nonsense*) mutations presented the most severe phenotype. The analyses of combined data from this and the previous studies revealed that only growth <25 percentile for CdLS, hypoacusis and gastro esophageal reflux showed significant differences between patients with and without mutations.

The clinical picture, according to the type of mutation and particular point mutation is highly unspecific. Few phenotype features more often observed in some point mutation are insufficient to recognize the type of mutation.

Own experience based on long-term observations of CdLS individuals and families as well as literature study provide a description of multidisciplinary system of recognition, genetic counseling, therapeutic strategies and follow-up.

10. ANEKS

10.1. Tabele kliniczne

Uwaga: oznaczenia dwujęzyczne opracowano w tabelach oznaczonych A np. 2.2.A

- A. Mutacje zmiany ramki odczytu
- B. Mutacje *missense i in frame*
- C. Mutacje typu *splice-site* i rearanżacje
- D. Brak mutacji, fenotyp klasyczny
- E. Brak mutacji, fenotyp łagodny
- F. Mutacje *silent*

Tabela 2.1. Fenotyp pacjentów CdLS

Tabela 2.1.A

	Nr pacjenta*																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Typ mutacji	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	N	N	N
Inicjały	RC	KK	WR	AB	MŁ	PL	MW	KL	JC	MD	HP	MW	OZ	KB	JM	AW	PS	JK	WC	AF
Wzrost < 25 dla CdLS		+					+					+	+		+					+
Wzrost 25–75 dla CdLS	+		+	+	+	+			+	+	+			+		+	+	+	+	
Wzrost >75 dla CdLS								+												
Małogłowie	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nadmierne owłosienie	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Niska linia owłosienia	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+
Brachycefalia		+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Splaszczony wymiar osiowy		+			+		+		+		+		+	+	+	+		–		
„Pędzelkowate” brwi	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+
Bujne brwi		+		+	+		+	+	+		+		+	+	+	+		+	+	+
Synophrys		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
Długie rzęsy	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Szeroko rozstawione nozdrza		+			+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+
Wydatny grzbiet nosa		+	+	+		+	+		+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
Długa rynienka nosowa			+		+	+	+		+	+	+				+	+	+	+	+	
Plaska rynienka nosowa	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+
Cienkie wargi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Micrognathia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
Nisko osadzone uszy	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+		+	+	+	+
Podniebienie gotyczne	+	+	+	+	+	+	+	+	+				+			+	+		+	
Rozszczep podniebienia				+				+		+	+	+		+	+			+		+
Wada zgryzu	+				+		+		+					+	+	+				
Cryptorchidism		+		+		+		+	+	+	+				+		+	+		
Brak redukcji kończyn	+		+		+	+	+	+					+	+	+	+		+	+	
Umiarkowana redukcja kończyn *									+	+										
Znaczna redukcja kończyn		+		+							+	+					+			+
Wady kostne kończyn dolnych		+		+			+		+			+	+		+	+	+			+
Wada serca		+	+	+					+	+		+					+	+	+	
Opadanie powiek									+	+			+	+	+			+		+
Wady wzroku		+	+	+			+		+					+	+		+	+	+	+
Wady nerek i dróg moczowych							+	+	+		+		+	+				+		
Niedosłuch	+	+	+	+		+		+	+	+	+		+	+	+		+		+	+
Trombocytopenia														+					+	

Tabela 2.1.B

[illegible]

Tabela 2.1.C

	Nr pacjenta*					
	38	39	40	41	42	43
Typ mutacji	SS	SS	SS	Del	Del	Del
Inicjały	AO	JR	MG	AT	AK	MP
Postnatalny wzrost <25 dla CdLS		+				
Wzrost 25-75 dla CdLS			+	+	+	+
Wzrost >75 dla CdLS	+					
Małogłowie		+		+	+	+
Nadmierne owłosienie	+	+			+	+
Niska linia owłosienia	+	+	+			
Brachycefalia	+	+		+	+	+
Splaszczony wymiar osiowy			+	+	+	+
„Pędzelkowate” brwi		+	+	+		+
Bujne brwi	+			+	+	+
Synophrys	+	+		+	+	+
Długie rzęsy	+	+	+	+	+	+
Szeroko rozstawione nozdrza	+	+	+	+	+	+
Wydutny grzbiet nosa	+	+		+		+
Długa rynienka nosowa	+	+	+		+	+
Płaska rynienka nosowa	+	+		+	+	+
Cienkie wargi	+	+	+	+	+	+
Micrognathia	+			+	+	+
Nisko osadzone uszy	+	+		+	+	+
Podniebienie gotyckie	+		+	+	+	+
Rozszczep podniebienia		+			+	+
Wada zgryzu	+		+		+	+
Cryptorchidism		+	+			
Brak redukcji kończyn	+		+	+	+	+
Umiarkowana redukcja kończyn *						
Znaczna redukcja kończyn		+				
Wady kostne kończyn dolnych	+	+				
Wada serca						
Opadanie powiek		0			+	
Wady wzroku					+	+
Wady nerek i dróg moczowych				+	+	+
Niedosłuch					+	+
Trombocytopenia						

Tabela 2.1.D

[illegible]

Tabela 2.1.E

[illegible]

Tabela 2.1.F

	Nr pacjenta*					
	69	70	71	72	73	74
Typ mutacji	S	S	S	S	S	S
Inicjały	RS	MS	LI	ŽG	PS	SG
Postnatalny wzrost <25 dla CdLS						
Wzrost 25-75 dla CdLS	+	+	+	+	+	+
Wzrost >75 dla CdLS						
Małogłowie	+	+	+	+	+	
Hirsutizm	+	+	+	+	+	+
Niska linia owłosienia	+	+	+	+	+	
Brachycefalia	+		+		+	+
Splaszczony wymiar osiowy	+			+	+	
„Pędzelkowate” brwi					+	
Bujne brwi	+	+	+	+	+	+
Synophrys	+	+	+	+	+	+
Długie rzęsy	+	+	+	+	+	+
Szeroko rozstawione nozdrza		+	+	+		+
Wydatny grzbiet nosa	+		+	+		
Długa rynienka nosowa		+			+	+
Płaska rynienka nosowa			+	+	+	+
Cienkie wargi	+	+	+	+	+	+
Micrognatia	+	+	+	+	+	+
Nisko osadzone uszy	+	+	+	+	+	+
Podniebienie gotyckie	+	+	+		+	+
Rozszczep podniebienia				+		
Wada zgryzu	+			+	+	
Cryptorchism	+	+				
Brak redukcji kończyn	+	+	+	+	+	+
Umiarkowana redukcja kończyn*						
Znaczna redukcja kończyn						
Wady kostne kończyn dolnych					+	
Wada serca				+		
Opadanie powiek					+	+
Wady wzroku	+	+	+		+	
Wady berek i dróg moczowych		+				
Niedosłuch	+	+	+			+
Trombocytopenia				+		+

*Mutacje występujących u poszczególnych pacjentów:

1. c.269delG,
2. c.415-416insTTA,T
3. c.1445_1448 delGAGA
- 4 c.2296delA
5. c.2322_2323delAG
6. c.2485-2486dupTG
7. c.2920_2921delAA
8. c.3060delAGAG
9. c.3525dupA
10. c.4450delC
11. c.5207_5222del16,
12. c.6409_6412delAAAC
13. 6874dupT
14. 7439-7440delAG
15. c.7559delA
16. c.7950dupT
17. c.1012_1016delCAGAG
- 18 c.5167A>C
- 19 c.6475G>T
- 20 c.7096C>T
- 21 c.209A>T
- 22 c.535G>T
- 23 c.747A>G
- 24 c.1051C>A
- 25 c.1071A>C
- 26 c.2603G>A
- 27 c.3619G>A
- 28 c.4015T>C
- 29 c.4306A>C
- 30 c.4321G>T
- 31 c.4873G>T
- 32 c.4909A>C
- 33 c.5164A>C
- 34 c.6892C>T
35. c.6935G>T
36. c.7297G>T
37. c.6653-6655delATA
38. c.3855_1delG
39. 5575-2delA
40. c.5863 1G>C
41. del35-47
42. del all
43. del all,
69. c.300G>A
70. c.2955A>G.
71. c.3845T>C,,
72. c.3924G>A,
73. c.5052A>C.
74. c 7831G>A

Tabela 2.2.B

	Nr pacjenta																
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
Typ zespołu	K	M	K	M	K	K	K	K	K	M	M	K	K	K	K	K	M
Typ mutacji	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	IF
Inicjały	WK	SW	AI	TG	MG	NV	NM	al.	WS	PG	PW	AK	AD	PG	WW	TS	AG
Ekson	3	6	7	9	9	10	14	17	19	20	24	24	26	40	40	40	39
Punktacja	22	21	23	19	26	24	>22	29	23	15	18	23	25		31	30	19
Płeć	Z	M	Z	M	Z	Z	Z	Z	Z	Z	M	M	Z	M	M	Z	M
Wiek (lata)	10	16	30	6	11	4	1,8	24	15	16	10	15	5,5	0,8	4	4	9
Wiek matki (lata)	22	24	21	20	30	22	29	28	34	19	29	30	23	29	31	24	27
Nieprowadzenia rozrodu	0	0	1(7)	1(6)	0	0	1(6)	2(6,8)	1(8)	0	0	0	0	0	1(6)	1(6)	0
Rodzeństwo	1	1	3	1	3	0	2	3	3	0	4	0	3	0	0	2	2
Przebieg ciąży	*	N	N	N	*	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	EPH	N
USG prenatalne	hyp	-		-	N	-	N	hyp	0	hyp	Bl	hyp	hyp	hyp	hyp	hyp	-
Hbd	37	38	39	34	34	32	33	40	38	39	37	39	28	38	34	30	40
Rodzaj porodu	N	N	C	C	N	N	C	N	N	C	N	N	N	N	C	C	N
Masa urodzeniowa (g)	2200	1700	1700	1100	1900	900	1800	1500	2100	2200	1900	2700	860	1800	900	1100	3000
Wzrost urodzeniowy (cm)	51	49	46	42	47	37	43	43	49	47	45	49	30	46	30	37	49
Obwód głowy urodzeniowy (cm)	29	29	31	28	31	26	33	28	30	29	29	31	24	28	27	27	31
Test Apgar w 1 min	9	8	10	5	10	2	2	8	6	9	8	9	6	9	8	9	8
Hipertonia	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bezdech	-	-	-	-	-	***+	***+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+
Zaburzenia ssania	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Rozpoznanie (lata)	2	10	ur.	1	0,2	1	ur	0,3	ur.	3	8	ur.	2,5	ur.	ur.	ur.	ur.

Tabela 2.2.C

	Nr pacjenta							
	38	39	40	41	42	43		
Typ zespołu	M	K	M	K	K	K		
Typ mutacji	ISS	SS	SS	Del 35-47	allel	allel		
Inicjały	AO	JR	MG	AT	AK	MP		
Ekson	16	30	33					
Punktacja	18	24	21	27				
Płeć	Ż	M	M	Ż	Ż	Ż		
Wiek (lata)	17	4	11	19	2	3		
Wiek matki (lata)	28	23	30	25	26	36		
Nieprowadzenia rozrodu	0	0	1(6)	1(6)	2(8,6)	0		
Rodzeństwo	1	2	0	1	0	0		
Przebieg ciąży	N	N	EPH	N	N	N		
USG prenatalne	-	hyp	hyp	N	N	N		
Hbd	37	37	33	38	35	38		
Rodzaj porodu	N	C	N	N	CC	CC		
Masa urodzeniowa (g)	2300	1100	900	1900	1800	2100		
Wzrost urodzeniowy (cm)	54	43	34	42	46	47		
Obwód głowy urodzeniowy (cm)	30	27	27	27	27	30		
Test Apgar w 1 min	1-	***2	5	8	7	8		
Hipertonia	+	+	+	+	+	+		
Bezdechy	+	+	+	-	+	-		
Zaburzenia ssania	+	+	+	-	+	-		
Rozpoznanie (lata)	ur.	ur.	8	ur.	ur.	ur.		

Tabela 2.2.E

	Nr pacjenta															
	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68
Typ zespołu	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
Typ mutacji																
Inicjały	JN	AK	DK	JM	AK	KK	KP	MC	JS	PM	SK	AK	RD	PG	ZM	PS
Ekson																
Punktacja	17	18	19	18	16	20	18	19	15	16	16	18	16	18	18	19
Płeć	M	Z	M	Ż	M	M	M	M	Z	Z	M	M	M	M	M	M
Wiek (lata)	19	10	14	23	15	11	6	12	18	8	18	6	8	24	36	11
Wiek matki (lata)	32	24	27	29	32	30	31	37	30	28	21	23	33	19	35	21
Nieprowadzenia rozrodu	0	0	0	PM	0	1(8)	0	0	0	1(10)	1(6)	2(6,8)	PM	1(6)	1(8)	0
Rodzeństwo	0	1	0	0	1	1	1	3	1	0	0	0	1	0	1	1
Przebieg ciąży	N	N	N	N	N	N	N	N	**	**	N	N	N	N	0	N
USG prenatalne	0	N	Hyp	0	hyp	N	N	hyp	hyp	hyp	Hyp	N	N	0	N	N
Hbd	40	39	39	40	38	38	38	37	37	36	40	40	38	38	39	35
Rodzaj porodu	N	N	N	N	N	N	CC	N	CC	CC	N	CC	N	CC		N
Masa urodzeniowa (g)	3000	2800	1900	2800	2700	2300	2500	2700	2700	2100	2600	1900	2700	2000	2900	2100
Wzrost urodzeniowy (cm)	53	50	49	50	51	51	49	52	52	48	52	53	52	48	53	46
Obwód głowy urodzeniowy (cm)	33	33	30	31	30	32	31	31	33	39	31	33	33	30	10	28
Test Apgar w 1 min	10	10	10	10	10	10	10	10	10	7	10	6	7	10	10	8
Hipertonia	+	N	+	+	obn	N	N	+	+	+	N	+	obn	obn	-	+
Bezdech	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Zaburzenia ssania	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Rozpoznanie (lata)	ur.	ur.	6	2	ur.	ur.	2	5	4	ur.	2	ur.	2	1	ur.	ur.

Tabela 2.2.F

	Nr pacjenta					
	69	70	71	72	73	74
Typ zespołu	M	M	M	K	K	M
Typ mutacji	S	S	S	S	S	S
Inicjały	RS	MS	LI	ŽG	PS	SG
Ekson	4	10	16	17	26	45
Punktacja	21	15	20	26	22	16
Płeć	M	M	Z	Ž	Ž	Ž
Wiek (lata)	22	10	10	8	14	19
Wiek matki (lata)	32	30	29	32	32	42
Nieprowadzenia rozrodu			in vitr		1(12)	0
Rodzeństwo	1		1		1	2
Przebieg ciąży	N	N	N	N	N	N
USG prenatalne	0	N	N	hyp	N	0
Hbd	38	39	38	38	42	43
Rodzaj porodu	N	CC	N	N	CC	CC
Masa urodzeniowa (g)	2200	2700	3800	2100	2500	2200
Wzrost urodzeniowy (cm)	48	52	52	46	52	47
Obwód głowy urodzeniowy (cm)	29	32	33	29	33	33
Test Apgar w 1 min	8	8	3	5	9	7
Hipertonia	+	+	Obn	+	+	Obn
Bezdech	0		1	0	-	-
Zaburzenia ssania	1	1	1	1	+	+
Rozpoznanie (lata)	3	3	3	2	ur.	5

* krwawienie w pierwszym trymestrze ciąży
 ** małowodzie
 *** resuscytacja po urodzeniu
 PM – poród martwy
 hyp – hipotrofia wewnątrzmaciczna
 obn – obniżone napięcie mięśniowe
 bl – ciąża bliźniacza
 ur. – rozpoznanie po urodzeniu

Tabela 2.3.B

	Nr pacjenta																
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
Typ mutacji	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
Inicjały	WK	SW	AI	TG	MG	NV	NM	AL	WS	PG	PW	AK	AD	PG	WW	TS	AG
Sonda dożołądkowa (tygodnie)		3	12		6								2		3		
Ulewianie, wymioty				+	+						+		+	+	+	+	+
Nietypowe objawy GERD					+				+					+	+	+	+
Refluks żołądkowo-przełykowy					+				+		+		+	+	+	+	+
Wykrycie GER (lata)			1		6				2		5		3	0,1	1	0,7	2
Przełyk Barretta																	
Leczenie zachowawcze					+				+		+		+	+	+	+	+
Zabieg antyrefluksowy															+		
Zaparcia	+	+	+		+										+	+	+
Niedrożność														+++			

[illegible]

Tabela 2.3.F

	Nr pacjenta					
	69	70	71	72	73	74
Typ mutacji	S	S	S	S	S	S
Inicjały	RS	MS	LI	ŻG	PS	SG
Sonda dożołądkowa (tygodnie)						
Ulewianie, wymioty	+		+	+	+	
Nietypowe objawy GERD						+
Refluks żołądkowo-przełykowy	+		+	+		+
Wykrycie GER (lata)	3		1	2		13
Przełyk Barretta						
Leczenie zachowawcze	+		+			
Zabieg antyrefluksowy						
Zaparcia	+					+
Niedrożność						

Tabela 2.4. Wady kostne u pacjentów z CdLS

Tabela 2.4.A

	Nr pacjenta																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Typ mutacji	F	F	F	F	F	F	F		F	F	F	F	F	F	F	F	F	N	N	N
Inicjały	RC	KK	WR	AB	ML	PL	MW	KL	JC	MD	HP	MW	OZ	KB	JM	AW	PS	JK	WC	AF
Małe dłonie i stopy	+	+	+		+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Brak kości łokciowej i/lub promieniowej	+	+		+																
Hipoplazja kości łokciowej i/lub promieniowej																				
Hipoplazja kości nadgaraska		+								+							+			+
Ograniczenie ruchomości w st. łokciowym	+		+		+		+	+	+	+	+	+			+	+	+		+	
Hipoplazja kości śródreża							+		+	+		+			+	+	+			
Hipoplazja paliczków					+									+	+					
Klinodactylia V palca	+		+		+	+	+		+	+	+	+	+	+	+			+		
Ectrodactylia		+		+							+	+					+			+
Dysplazja st. biodrowych				+			+					+	+		+	+				
Stopy końska-szpotałe		+		+			+		+											
Syndaktylia palców stóp						+	+					+	+				+			
Skolioza	+	+			+		+		+				+	+	+	+		+	+	+

Tabela 2.4.B

	Nr pacjenta																
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
Typ mutacji	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
Inicjały	WK	SW	AI	TG	MG	NV	NM	AL	WS	PG	PW	AK	AD	PG	WW	TS	Ag
Małe dłonie i stopy	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
Brak kości łokciowej i/lub promieniowej																	
Hipoplazja kości łokciowej i/lub promieniowej																+	
Hipoplazja kości nadgarstka								+	+								
Ograniczenie ruchomości w st. łokciowym	+	+	+		+			+	+	+	+		+	+		+	+
Hipoplazja kości śródreża										+				+			
Hipoplazja paliczków								+			+	+	+				
Klinodactylia V palca	+	+	+		+	+		+		+			+		+		
Ectrodactylia														+			
Dysplazja st. biodrowych																	
Stopy końska-szpotałe						+						+					
Syndaktylia palców stóp				+	+			+							+	+	
Skolioza	+	+	+					+	+	+		+					+

Tabela. 2.4.C

	Nr pacjenta					
	38	39	40	41	42	43
Typ mutacji	SS	SS	SS	del	del	del
Inicjały	AO	JR	MG	AT	AK	MP
Małe dłonie i stopy	+		+	+	+	+
Brak kości łokciowej i/lub promieniowej		+				
Hipoplasja kości łokciowej i/lub promieniowej						
Hipoplasja kości nadgarstka						
Ograniczenie ruchomości w st. łokciowym	+	+	+	+	+	+
Hipoplasja kości śródreża		+			+	
Hipoplasja paliczków						
Klinodactylia V palca	+			+	+	+
Ectrodactylia		+				
Dysplazja st. biodrowych	+	+				+
Stopy końska-szpotałe		+				
Syndaktylia palców stóp		+				+
Skolioza	+		+			

Tabela 2.4.D

	Nr pacjenta									
	44	45	46	47	48	49	50	51	52	
Typ mutacji										
Inicjały	JB	PF	MF	US	MT	DS	LZ	MG	KL	
Małe dłonie i stopy		+			+					
Brak kości łokciowej i/lub promieniowej	+		+				+		+	
Hipoplasja kości łokciowej i/lub promieniowej										
Hipoplasja kości nadgarstka			+							
Ograniczenie ruchomości w st. łokciowym				+				+		
Hipoplasja kości śródreża								+		
Hipoplasja paliczków										
Klinodactylia V palca		+						+		
Ectrodactylia	+	+	+	+			+		+	
Dysplazja st. biodrowych	+	+		+						
Stopy końska-szpotałe				+						
Syndaktylia palców stóp		+						+		
Skolioza				+		+	+			

Tabela 2.4.E

	Nr pacjenta															
	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68
Typ mutacji																
Inicjały	JN	AK	DK	JM	AK	KK	KP	MC	JS	PM	SK	AK	RD	PG	ZM	PS
Małe dłonie i stopy	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Brak kości łokciowej i/lub promieniowej																+
Hipoplasja kości łokciowej i/lub promieniowej	+															
Hipoplasja kości nadgarstka																
Ograniczenie ruchomości w st. łokciowym		+		+		+		+	+	+		+	+	+		
Hipoplasja kości śródreża		+														
Hipoplasja paliczków																
Klinodactylia V palca				+		+		+	+	+		+		+		
Ectrodactylia																+
Dysplazja st. biodrowych				+									+			
Stopy końska-szpotałe																
Syndaktylia palców stóp								+								
Skolioza	+	+	+	+	+	+	+		+		+	+		+	+	+

Tabela 2.4.F

	Nr pacjenta					
	69	70	71	72	73	74
Typ mutacji	S	S	S	S	S	S
Inicjały	RS	MS	LI	ZG	PS	SG
Małe dłonie i stopy	+	+	+	+	+	+
Brak kości łokciowej i/lub promieniowej						
Hipoplasja kości łokciowej i/lub promieniowej						
Hipoplasja kości nadgarstka						
Ograniczenie ruchomości w st. łokciowym	+		+	+	+	+
Hipoplasja kości śródreża						
Hipoplasja paliczków			+			
Klinodactylia V palca				+	+	+
Ectrodactylia						
Dysplazja st. biodrowych						
Stopy końska-szpotałe						
Syndaktylia palców stóp						
Skolioza	+				+	

Tabela 2.5. Wady serca i układu moczowo-płciowego u pacjentów CdLS

Tabela 2.5.A

	Nr pacjenta																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Typ mutacji	F	F	F		F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	N	N	N
Inicjały	RC	KK	WR	AB	ML	PL	KL	MW	JC	MD	HP	MW	OZ	KB	JM	AW	PS	JK	WC	AF
Zwężenie aorty (AS)																				
Zwężenie tt płucnej (PS)			+															+		
Przewód tętniczy (PDA)		+										+								
Otwór międzykomorowy (VSD)			+																	
Otwór międzyprzedsionkowy (ASD)																	+		+	
Niedomykalność zastawki (AI/M)																				
Wspólny kanał przedsionkowo-komorowy (AVC)																				
ASD + VSD + PS				+																
Torbiele nerkowe								+			+							+		
Refluks pęcherzowo-moczowodowy												+								
Male nerki						+			+			+	+							

Tabela 2.5.B

	Nr pacjenta																
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
Typ mutacji	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	IF
Inicjały	WK	SW	AI	TG	MG	NV	NM	AL	WS	PG	PW	AK	AD	PG	WW	TS	Ag
Zwężenie aorty (AS)			+														
Zwężenie tt płucnej (PS)																+	
Przewód tętniczy (PDA)											+						
Otwór międzykomorowy (VSD)																	
Otwór międzyprzedsionkowy (ASD)													+				
Niedomykalność zastawki (AI/M)								+		+							
Wspólny kanał przedsionkowo-komorowy (AVC)					+												
ASD + VSD + PS																	
Torbiele nerkowe															+		
Refluks pęcherzowo-moczowodowy												+		+			
Małe nerki / zatarta struktura									+							+	

Tabela 2.5.C

	Nr pacjenta					
	38	39	40	41	42	43
Typ mutacji	SS	SS	SS	Del	Del	Del
Inicjały	AO	JR	MG	AT	AK	MP
Zwężenie aorty (AS)						
Zwężenie tt płucnej (PS)						
Przewód tętniczy (PDA)						
Otwór międzykomorowy (VSD)						
Otwór międzyprzedsionkowy (ASD)						
Niedomykalność zastawki (AI/M)						
Wspólny kanał przedsionkowo-komorowy (AVC)						
ASD + VSD + PS						
Torbiele nerkowe						
Refluks pęcherzowo-moczowodowy						
Małe nerki / zatarta struktura				+	+	+

Tabela 2.5.D

	Nr pacjenta								
	44	45	46	47	48	49	50	51	52
Typ mutacji									
Inicjały	JB	PF	MF	US	MT	DS	LZ	MG	KL
Zwężenie aorty (AS)									
Zwężenie tt płucnej (PS)									
Przewód tętniczy (PDA)									
Otwór międzykomorowy (VSD)									
Otwór międzyprzedsionkowy (ASD)		+							
Niedomykalność zastawki (AI/M)									
Wspólny kanał przedsionkowo-komorowy (AVC)									
ASD + VSD + PS									+
Torbiele nerkowe							+		+
Refluks pęcherzowo-moczowodowy					+				
Małe nerki / zatarta struktura		+			+				+

Tabela 2.5.F

	Nr pacjenta					
	69	70	71	72	73	74
Typ mutacji	S	S	S	S	S	S
Inicjały	RS	MS	LI	ŻG	PS	SG
Zwężenie aorty (AS)						
Zwężenie tt płucnej (PS)						
Przewód tętniczy (PDA)						
Otwór międzykomorowy (VSD)						
Otwór międzyprzedsionkowy (ASD)			+			
Niedomykalność zastawki (AI/M)						
Wspólny kanał przedsionkowo-komorowy (AVC)						
ASD + VSD + PS						
Torbiele nerkowe						+
Refluks pęcherzowo-moczowodowy		+				
Małe nerki / zatarta struktura						

Tabela 2.6. Rozwój psychomotoryczny i zachowania pacjentów

Tabela 2.6.A

	Nr pacjenta																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Typ mutacji	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	N	N	N
Inicjały	RC	KK	WR	AB	ML	PL	MW	KL	JC	MD	HP	MW	OZ	KB	JM	AW	PS	JK	WC	AF
Opóźnienie rozwoju	+++	+++	NZ	NZ	+++	NZ	+++	NZ	+++	+++	NZ	NZ	+++	+++	+++	++	NZ	+++	++	+++
Brak mowy	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+		+			+
Wymawia proste słowa									+							+		+	+	
Wymawia zdania																				
Samookaleczenia	+		+		+	+	+		+			-	+	+	+	+				+
Nadaktywność			+		+		+						+	+		+		+		+
<i>Stereotype</i>	+	+		+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Zachowanie pseudoutystyczne	+	+			+		+		+	+			+	+	+	+		+		+
Drgawki / padaczka	-	-											+	+	+					+
Siadanie (miesiące)	18	22	12	0	12	0	30	24	30	0	0	30	30	24	36	18	22	8	36	36
Chodzenie (miesiące)	36	0	0	0	48	0	0	0	42	0	0	0	0	0	0	36	0	36	0	0
Pierwsze słowa (miesiące)	0	0	0	0	0	0	0	0	48	0	0	0	0	0	0	36	0	36	36	0

NZ – nie znamienne pacjenci poniżej czwartego roku życia

+ łagodne opóźnienie rozwoju ++ umiarkowane opóźnienie rozwoju +++ znaczne opóźnienie rozwoju

Tabela 2.6.B

	Nr pacjenta																	
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	
Typ mutacji	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	IF	
Inicjały	WK	SW	AI	TG	MG	NV	NM	AL	WS	PG	PW	AK	AD	PG	WW	TS	Ag	
Opóźnienie rozwoju	++	++	+++	+	++	+++	NZ	+++	+++	+	++	+++	+++	NZ	+++	++	++	
Brak mowy			+			+	+	+				+	+	+	+			
Wymawia proste słowa	+				+				+							+	+	
Wymawia zdania		+		+						+								
Samookaleczenia	+		+		+	+	+	+	+		+		+		+	+		
Nadaktywność	+		+	+		+	+		+		+		+		+	+	+	
<i>Stereotypy</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+		+		
Zachowanie pseudoautystyczne	+		+		+		+	+	+	+			+					
Drgawki / padaczka						+	+	+	+						+			
Siadanie (miesiące)	30	22	12	12	30	20		36	36	9	12	24	36		36	12	18	
Chodzenie (miesiące)	42	36	48	22	96	42			48	11	18	36				24	36	
Pierwsze słowa (miesiące)	48	36		36	96				36	24	36					38	48	

Tabela 2.6.C

	Nr pacjenta					
	38	39	40	41	42	43
Typ mutacji	SS	SS	SS	Del	Del	Del
Inicjały	AO	JR	MG	AT	AK	MP
Opóźnienie rozwoju	+	+++	++	+++	NZ	NZ
Brak mowy		+	+	+	+	+
Wymawia proste słowa						
Wymawia zdania	+					
Samookaleczenia				+		
Nadaktywność			+	+		
<i>Stereotype</i>		+		+	+	+
Zachowanie pseudoautystyczne		+	+	+		
Drgawki / padaczka						
Siadanie (miesiące)	18	0	17	30	0	0
Chodzenie (miesiące)	18	0	36	0	0	0
Pierwsze słowa (miesiące)	24	0		0	0	0

Tabela 2.6.D

	Nr pacjenta										
	44	45	46	47	48	49	50	51	52		
Typ mutacji											
Inicjały	JB	PF	MF	US	MT	DS	LZ	MG	KL		
Opóźnienie rozwoju	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
Brak mowy	+	+	+				+	+	+		
Wymawia proste słowa				+	+	+					
Wymawia zdania											
Samookaleczenia	+			+		+					
Nadaktywność	+		+	+	+		+	+	+		
<i>Stereotypy</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Zachowanie pseudoautystyczne	+	+	+	+		+	+	+	+		
Drgawki / padaczka		+		+							
Siadanie (miesiące)	36	14	20	24	12	12	60	15	36		
Chodzenie (miesiące)	72	48	60	94	24	60	84	36	0		
Pierwsze słowa (miesiące)	0	0	0	0	36	108	0	0	0		

Tabela 2.6.E

	Nr pacjenta															
	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68
Typ mutacji																
Inicjały	JN	AK	DK	JM	AK	KK	KP	MC	JS	PM	SK	AK	RD	PG	ZM	PS
Opóźnienie rozwoju	+	+	+	++	+	++	+	++	++	++	+	+	++	++	+++	++
Brak mowy								+				+			+	
Wynawia proste słowa		+				+				+			+			+
Wynawia zdania	+		+	+	+		+		+		+			+		
Samookaleczenia		+		+				+	+		+		+	+		
Nadaktywność	+	+	+	+				+	+		+	+			+	
<i>Stereotype</i>		+		+	+	+		+					+		+	-
Zachowanie pseudoautystyczne				+				+					+		+	
Drgawki / padaczka		+				+		+						+	+	
Siadanie (miesiące)	24	12	6	8	8	14	12	12	18	9	10	10	13	8	7	12
Chodzenie (miesiące)	42	24	18	24	18	24	16	24	36	14	18	48	30	24	30	24
Pierwsze słowa (miesiące)	36	60	48	36	24	28	24	0	48	36	36	0	24	36	0	94

Tabela 2.6.F

	Nr pacjenta					
	69	70	71	72	73	74
Typ mutacji	S	S	S	S	S	S
Inicjały	RS	MS	LI	ŻG	PS	SG
Opóźnienie rozwoju	++	++	++	++	+++	+
Brak mowy	+		+	+		
Wymawia proste słowa		+			+	
Wymawia zdania						+
Samookaleczenia	+			+	+	
Nadaktywność		+			+	
<i>Stereotypy</i>	+		+	+	+	
Zachowanie pseudoautystyczne	+		+			
Drgawki / padaczka						
Siadanie (miesiące)	18	13	18	28	30	8
Chodzenie (miesiące)	24	28	36	42	48	15
Pierwsze słowa (miesiące)	0	48	0		24	24

10.2. Stowarzyszenie Cornelia de Lange – Polska i jego rola w zainicjowaniu kompleksowych ogólnopolskich badań osób z CdLS

Ruch rodziców na rzecz pomocy osobom z CdLS i ich rodzinom rozpoczął się w USA i skutkowało założeniem fundacji mającej już ponad dwudziestoletnią tradycję. Z czasem podobne stowarzyszenia zaczęły powstawać w innych krajach, obejmując opieką około 3500 chorych z CdLS na całym świecie. Od początku społeczne organizacje działające na rzecz osób z CdLS uzyskały wsparcie merytoryczne specjalistów wielu dziedzin medycyny, psychologii i pedagogiki, zrzeszonych obecnie w międzynarodowej radzie naukowej – SAC (Scientific Advisory Council). W Polsce Stowarzyszenie Cornelia de Lange Syndrome – Polska zostało zarejestrowane w roku 2002 z siedzibą w Żninie, a jego prezesem jest od założenia Wiesław Wnuk. Celem Stowarzyszenia jest rozpowszechnianie wiedzy o CdLS oraz wszechstronna pomoc rodzinom osób u których zespół rozpoznano. Stowarzyszenie w okresie kilku lat zintegrowało społeczność rodziców i opiekunów z tym zespołem. Aktywna działalność edukacyjna i promocyjna Stowarzyszenia przyczyniła się do znaczącego zwiększenia liczby rejestrowanych zgłoszeń w ostatnim dziesięcioleciu a prowadzony przez Stowarzyszenie rejestr zgłoszeń osób z podejrzeniem CdLS znacząco poszerzył możliwość rekrutacji chorych do badań diagnostycznych. W ostatnich pięciu latach (2007–2011), w trakcie których Stowarzyszenie nawiązało współpracę z Polskim Rejestrem Wrodzonych Wad Rozwojowych (PRWWR), a także umieściło informację o zespole na stronie internetowej Rejestru oraz zaprezentowało problematykę zespołu w szeroko dostępnych mediach, liczba zgłoszonych przypadków urodzeń noworodków z CdLS znacząco wzrosła. Od roku 2002 do Stowarzyszenia zgłoszono 165 osób z podejrzeniem CdLS z terenu całej Polski. Zgłoszenie nowej osoby obligatoryjnie skutkowało kontaktem rodziny z lekarzem Stowarzyszenia (autorem pracy). Stowarzyszenie posiada stronę internetową jak również strony na portalach społecznościowych. W odbywających się co dwa lata kolejnych zjazdach światowych CdLS zawsze brały udział rodziny ze Stowarzyszenia CdLS-Polska. Od roku 2002 przy Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny – GUMed) zaczął działać wielospecjalistyczny zespół zajmujący się pacjentami z CdLS z terenu całego kraju. Skład zespołu badawczego przedstawiono w rozdziale dotyczącym metodyki badań. Z zaproponowanego systemu badań i konsultacji skorzystało 82 rodziny, część z nich kilkakrotnie. Jako zasadę przyjęto dalsze telefoniczne i internetowe utrzymywanie kontaktu z rodzinami oraz lekarzami pierwszego kontaktu. W kolejnych corocznych spotkaniach w Żninie w latach 2002–2011 wzięło udział 79 rodzin osób z CdLS. W spotkaniach uczestniczyli specjaliści z wielu ośrodków w Polsce i specjaliści zagraniczni. Z pomocy Stowarzyszenia skorzystało ponadto kilka rodzin, w których dzieci zmarły wkrótce po urodzeniu, a klinicznie postawiono rozpoznanie CdLS. Poniższa praca jest efektem wieloletniego doświadczenia zdobytego w pracy z osobami z zespołem Cornelia de Lange oraz ich rodzinami zrzeszonymi w Stowarzyszeniu Cornelia de Lange Polska.