

Sekcija: Citogenetika

Moderatori: Bojana Brajenović Milić, Leona Morožin Pohovski

Globalna DNA metilacija i trisomija 21

Ivana Babić Božović¹, Aleksandra Stanković², Maja Živković², Jadranka Vraneković¹, Bojana Brajenović-Milić¹

¹Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

²Laboratorij za radiobiologiju i molekularnu genetiku na Institutu za nuklearne nauke Vinča Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija

Cilj ovog rada bio je utvrditi povezanosti globalne DNA metilacije i nepravilnog razdvajanja kromosoma 21 tijekom oogeneze. Ispitivanje i utjecaj endogenih i egzogenih čimbenika na globalnu DNA metilaciju, kao što su *MTHFR C677T* polimorfizam, starosna dob, indeks tjelesne mase, unos folata putem prehrane, perikonceptijski unos pripravaka folata, uživanje duhanskog dima i alkohola te primjena lijekova.

Ispitanici i metode: U istraživanje je bilo uključeno 94 majki djece s Downovim sindromom (DS) majčinog podrijetla, u kojih je točno određena mejotička dioba u kojoj je došlo do nerazdvajanja kromosoma 21. Kontrolnu skupinu činile su majke zdrave djece i uredne obiteljske i osobne anamneze (N=100). Globalna DNA metilacija analizirana je u limfocitima periferne krvi, kvantifikacijom metilacije LINE-1 pomoću metode MethyLight metode. Genotipizacija *MTHFR C677T* polimorfizma izvedena je metodom PCR-RFLP.

Rezultati: Globalna DNA metilacija u majki djece s DS-om je statistički značajno niža nego u majki zdrave djece (P=0,000), ali se ne razlikuje ovisno o mejotičkoj diobi u kojoj je došlo do nerazdvajanja kromosoma 21 (P=1,000). Kombinacija *MTHFR C677T* genotip/prehrana je statistički značajan prediktor globalne DNA metilacije u majki djece s DS-om (R²=4,5%; P=0,046). Najniže vrijednosti globalne DNA metilacije su imale majke CT+TT genotipa i prehrane siromašne folatima. Doprinos ovog čimbenika na varijabilnost globalne DNA metilacije još je veći u majki kod kojih se dogodilo nerazdvajanje kromosoma tijekom prve mejotičke diobe (R²=6,2%; P=0,036). U majki zdrave djece, starosna dob statistički značajno opisuje 6,2% promjena vrijednosti globalne DNA metilacije (P=0,016). Majke >35 godina imaju statistički značajno niže vrijednosti globalne DNA metilacije u odnosu na mlađe majke (P=0,003). Ostali čimbenici nisu

statistički značajno utjecali na varijabilnost globalne DNA metilacije (P>0,05).

Zaključak: U našem istraživanju utvrđena je globalna DNA hipometilacija u majki djece s DS-om regularnog tipa majčinog podrijetla, što je opisuje kao mogućeg čimbenika rizika za nepravilno razdvajanje kromosoma 21 tijekom oogeneze.

Rekombinacija i *MTHFR C677T* polimorfizam - rizični čimbenici za nerazdvajanje kromosoma 21

Jadranka Vraneković, Ivana Babić Božović, Bojana Brajenović-Milić*

*Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi povezanost *MTHFR C677T* polimorfizma s mejotičkom diobom u kojoj je došlo do nepravilnog razdvajanja kromosoma 21 i brojem rekombinacija u majki djece s Downovim sindromom (DS).

Ispitanici i metode: U istraživanju je sudjelovalo 107 majki djece s trisomijom 21 regularnog tipa, majčinog podrijetla. Za određivanje mejotičke diobe te broja rekombinacija primijenila se metoda PCR-STR. Genotipizacija polimorfizma *MTHFR C677T* izvedena je metodom PCR-RFLP. Za usporedbu učestalosti alela, genotipova i njihovih kombinacija primijenio se χ^2 test. Procjena rizika za nerazdvajanje kromosoma i broja rekombinacija temeljila se na omjeru izgleda i pripadajućeg 95-postotnog raspona pouzdanosti. Statistička značajnost određivana je na razini p<0,05.

Rezultati: Nerazdvajanje kromosoma 21 u prvoj mejotičkoj diobi (MI) utvrđeno je u 86% (92/107), a u drugoj mejotičkoj diobi (MII) u 14% (15/107) majki. Do izostanka rekombinacije došlo je u 79% (73/92) majki kod kojih se nerazdvajanje kromosoma dogodilo u MI diobi, dok se u 16% (15/92) slučajeva dogodila jedna rekombinacija, a dvije u 5% (4/92). U majki s nerazdvajanjem kromosoma u MII diobi, jedna rekombinacija utvrđena je u 67% (10/15), a dvije u 33% (5/15) slučajeva. Statistički značajno veća učestalost kombinacije genotipova *MTHFR C677CT+TT* utvrđena je u majki

kod kojih se nerazdvajanje kromosoma dogodilo u MI diobi u odnosu na majke s nerazdvajanjem kromosoma u MII diobi ($P=0,040$). Učestalosti alela i genotipova *MTHFR* C677T polimorfizma kao i njihovih kombinacija nije se statistički značajno razlikovala između majki kod kojih je izostala rekombinacija i majki kod kojih se dogodila jedna ili više rekombinacija ($P=0,590$). U skupini majki s jednom ili više rekombinacija duž kromosoma 21 utvrđena je statistički značajno veća učestalost kombinacije genotipova *MTHFR* 677CT+TT u majki kod kojih se nerazdvajanje kromosoma dogodilo u MI diobi u odnosu na one s nerazdvajanjem kromosoma u MII diobi ($P=0,037$).

Zaključak: Rezultati ovog istraživanja upućuju na povezanost kombinacije genotipova *MTHFR* 677CT+TT s nerazdvajanjem kromosoma tijekom MI diobe. Značajan utjecaj *MTHFR* C677T polimorfizma na broj rekombinacija kao rizičnim čimbenikom nepravilne segregacije kromosoma 21 nije utvrđen, ali dobiveni rezultati upućuju na opravdanost daljnjih istraživanja.

Probir mikrodelecijskih/ mikroduplicacijskih sindroma tehnikom višestrukog umnožavanja vezanih sonda (MLPA)

Leona Morožin Pohovski, Ingeborg Barišić

Referentni centar Ministarstva zdravlja i socijalne skrbi RH
za praćenje kongenitalnih anomalija, Klinika za pedijatriju,
Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klaićeva 16, Zagreb, Hrvatska

Razvoj novih tehnika molekularne kariotipizacije omogućio je otkriće niza mikrodelecijskih i mikroduplicacijskih sindroma u istim kromosomskim područjima. Metoda višestrukog umnožavanja vezanih sonda (engl. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* - MLPA), tehnika analize kromosoma na mikropostroju (engl. *Chromosome microarray* - CMA) i metoda sekvencioniranja sljedeće generacije (engl. *Next-generation Sequencing* - NGS) su tehnike su koje danas imaju najveću primjenu u genetičkoj dijagnostici mikrodelecijskih/mikroduplicacijskih sindroma (MMS). Učestalost MMS-a u bolesnika s razvojnim zaostajanjem/intelektualnim smetnjama (RZ/IS) s dismorfijom ili kongenitalnim malformacijama ili bez njih iznosi oko 5%. U našem ispitivanju 250-ero bolesnika s RZ/IS-om s dismorfijom ili kongenitalnim malformacijama ili bez njih tehnikom MLPA otkriveno je 17 aberacija (6,8%): sedam del22q11.2 (sindrom DiGeorge) i jedna dup22q11.2, dvije del5q35.3 (sindrom Sotos), dvije del17q21 (sindrom s intelektualnim poteškoćama vezan za gen *KANSL1*), dvije del 15q11.2 (sindrom Prader-Willi/Angelman) te po jedna del7q11.23 (sindrom Williams-Beu-

ren), del 17q11.2 (NF1) i del8q23.3 (sindrom Langer-Giedon). U svih bolesnika aberacije su potvrđene MLPA kompletima za pojedine sindrome. Analizom prometafaznih kromosoma visoke rezolucije u ovim regijama nije utvrđena citogenetički vidljiva promjena koja bi bila uzrok aberacije. Ovo istraživanje je pokazalo da je metoda MLPA vrlo djelotvorna u otkrivanju MMS-a, jer je dobiven visok broj pozitivnih rezultata. Primjena kompleta MLPA za pojedine MMS-e pruža dodatnu mogućnost pobližeg određivanja opsega otkrivene strukturne promjene radi boljeg pružanja dijagnostičkih i prognostičkih informacija za bolesnika. MLPA omogućava brže postavljanje dijagnoze u odnosu na klasične metode, a izbjegava primjenu skupih i vremenski zahtjevnih tehnika za njenu potvrdu. U slučajevima kad skupa tehnologija (CMA i NGS) nije dostupna, MLPA je metoda izbora za probir MMS-a.

Obilježja kompleksne kromosomske preraspodjele – prikaz obitelji sa zahvaćenim kromosomima 1, 10, 11, 13 i 18

Silvija Pušeljić¹, Jasenka Wagner², Feodora Stipoljević³,
Ivana Škrlec², Marija Heffer², Thomas Liehr⁴

¹ Odjel za genetiku i bolesti metabolizma, Klinika za pedijatriju,
² Laboratorij za citogenetiku, Medicinski fakultet, Sveučilišta
J. J. Strossmayer Osijek, ³ Citogenetski laboratorij, Klinička bolnica
„Svet Duh“, Zagreb, ⁴ Institut za humanu genetiku, Sveučilišna
klinika Jena, Jena, Njemačka

Uvod: Kompleksne kromosomske preraspodjele (eng. *complex chromosome rearrangements*-CCR) rijetke su strukturne kromosomske aberacije koje se mogu naći u bolesnika s fenotipskim abnormalnostima ili u fenotipski zdravih ispitanika koji imaju ponavljene pobačaje ili neplodnost.

Prikaz bolesnika: Prikazujemo kliničke i citogenetičke nalaze u 8-godišnjeg dječaka koji je dopunski obrađen zbog psihomotornog zaostajanja, hiperaktivnosti i dismorfije. Kariotip dječaka pokazuje CCR, što uključuje kromosome 1, 10, 11, 18 i 19. Dodatna obrada roditelja pokazuje uredan kariotip oca, ali majka i dječakova sestra imaju sličan CCR. Osim toga, naš bolesnik ima *de novo* recipročnu translokaciju između kromosoma 18 i 19. Kariotipovi majčinih roditelja su uredni. Daljnja obrada obavljena je pomoću različitih FISH probi: *multicolor banding probe sets* (MCB) za kromosome 1, 10, 11, 13, 18 i 19, *whole chromosome paints* (WCP) 1, 10, 11, 13 i 18, subtelomerne sonde 10p, 11q, 18p, 18q i 19p i centromerne sonde (CEP) 10, 11 i 18. Nakon primjene navedenih sonda, bolesnikov je kariotip okarakteriziran kao molekularno citogenetički nebalansiran, a majka i sestra imaju molekularno citogenetički balansirani kariotip.

Konačni kariotip bolesnika:

46,XY,der(1)t(10;11;1)(10pter→10p11.2::11q25→11q23::1p34.3→1qter)mat,der(11)t(1;11)(p34.3;q23)mat,t(18;19)(q23;p13.3)dn.

Konačni kariotip majke:

46,XX,der(1)t(10;11;1)(10pter→10p11.2::11q25→11q23::1p34.3→1qter),der(10)t(10;11)(p11.2;q25),der(11)t(1;11)(p34.3;q23),t(13;18)(q14;11.32).

Konačni kariotip sestre:

46,XX,t(1;11)(p34.3;q23)?mat,t(13;18)(q14;11.32)mat.

Zaključak: Ovaj slučaj CCR-a vrlo je složen sa šest prijelomnih točaka. 11q translocirani segment je podijeljen, s 11q23-q25 te ide na der (1) i 11q25-qter na der (10). U majke der (1) sastoji se od triju kromosomskih segmenata: 1, 10 i 11. Začudo, kći ima dvostruko dvosmjernu razmjenu, t (13;18) potječe od majke, a t (1;11), ne postoji u ovom obliku u majke. To bi se moglo objasniti prisutnošću najmanje dvaju različitih CCR staničnih linija u gonadama. Prema našim spoznajama, ovo je prvi izvještaj o takvom obiteljskom CCR-u, osobito s obzirom na dodatnu *de novo* promjenu i mogućnost gonadnog mozaicizma majke.

Sekcija: Klinička genetika

Moderatori: Ingeborg Barišić, Vida Čulić

Marfanov sindrom i srodni poremećaji s posebnim osvrtom na Loeys-Dietzov sindrom

Sanda Huljev Frković, Kristina Crkvenac Gornik, Ivana Tonković Đurišević, Dalibor Šarić, Morana Mikloš, Ljiljana Letica

Zavod za medicinsku genetiku i Zavod za kardiologiju, Klinika za pedijatriju, KBC Zagreb

Marfanov sindrom je jedan od najčešćih poremećaja iz skupine nasljednih bolesti vezivnog tkiva, koji karakterizira tipičan spektar simptoma u smislu kardiovaskularnih, mišićno-koštanih te oftalmoloških manifestacija bolesti. Postoje i drugi poremećaji s fenotipom sličnim Marfanovom sindromu koji nisu uzrokovani mutacijom gena za fibrilin. Jedan od ovih poremećaja je i Loeys-Dietzov sindrom. Ovaj se sindrom također nasljeđuje autosomno dominantno, no za razliku od Marfanovog sindroma kardiovaskularna bolest može imati znatno agresivniji tijek. Prikazujemo djevojčicu koju od 3. godine života prati kardiolog zbog dilatacije korijena aorte i sumnje na Marfanov sindrom. Rođena je nakon uredne druge trudnoće zdravih roditelja. U dobi od godinu dana učinjena je palatoplastika zbog rascjepa uvule. Zbog teškog valgus deformiteta koljena u dva je navrata obavljena operativna korekcija. Tijekom višekratnih boravaka na klinici učinjena je opsežna obrada, uključujući MR kralježnice, NMR angiografiju mozga, MSCT angiografiju torako-abdominalne aorte, a pratili su je oftalmolog i neurolog. U dobi od 12,5 godina dilatacija početne uzlazne aorte u razi-

ni sinusa Valsalve iznosi 50 mm, uz blagu aortnu insuficijenciju, te prolaps obaju listića mitralne valvule. S obzirom na specifičnosti u fenotipu i statusu koji odstupaju od kliničkih kriterija za Marfanov sindrom kao što su uvula bifida, uredan status očne leće, odsutnost duralne ektazije, tortuoza intrakranijskih segmenata vertebralnih arterija posumnjalo se na to da je riječ o Loeys-Dietzovom sindromu. Isto je potvrđeno analizom gena za TGF beta- receptor obavljenom u inozemnom centru. Glavna osobitost u praćenju ovih bolesnika je veća i ranija sklonost nastanku disekcije aneurizme uzlazne aorte. Djevojčica je nedugo nakon potvrde dijagnoze upućena u inozemni kardiokirurški centar gdje je obavljena operacija kojom je uzlazna aorta zamijenjena provodnikom. Ovaj primjer naše bolesnice pokazuje da je razumijevanje etiologije genetičkih poremećaja važno za praćenje i savjetovanje, ali i za proces i odluke u liječenju naših bolesnika.

Panikulitis u bolesnika s deficitom alfa1-antitripsina

Alenka Gagro¹, Nives Pustišek¹, Jasna Čepin Bogović¹, Alma Rožman², Elizabeta Ozimec³

¹Klinika za dječje bolesti Zagreb, ²Poliklinika za bolesti dišnog sustava, Zagreb, ³Opća bolnica Zabok, Zabok, Hrvatska

Cilj: Panikulitis u djece može nastati u sklopu različitih bolesti kao što su one vezivnog tkiva, limfoproliferativnih poremećaja, infekcija, bolesti gušterače, gihta, kroničnih bolesti bubrega, nedostatka alfa1-antitripsina (AAT) i neželjenih

reakcija na lijekove. Nedostatak AAT-a jedna je od najčešćih nasljednih bolesti bijele rase, nasljeđuje se autosomno recesivno i posljedica je mutacije gena *SERPINA1* smještenog na kromosomu 14 (14q31-32.3). Panikulitis je vrlo rijetko prva manifestacija nedostatka AAT-a i manje od 100 bolesnika opisano je u literaturi.

Metode: U našem radu prikazujemo 14-godišnjeg dječaka s recidivirajućim panikulitisom trupa i ekstremiteta. Obavljene su hematološka, biokemijska i mikrobiološka obrada kao i analiza autoantitijela (antinuklearni čimbenik, autoantitijela na dvostrukouzvijeti DNA i autoantitijela na ekstraktibilne autoantigene) te patohistološka analiza dubokog bioptata kože (PHD). Na osnovi nalaza PHD-a odredili smo serumske koncentracije AAT-a te obavili gensku analizu, najprije u bolesnika, zatim i u ostalih članova obitelji.

Rezultati: Patohistološka analiza bioptata kožne promjene pokazala je septalni panikulitis s infiltratom limfocita i histiocita unutar fibroznih septa i oko venula. Od laboratorijske obrade valja istaći da su svi pristigli testovi bili negativni ili neinformativni za češće uzroke panikulitisa. Koncentracija AAT-a u serumu bila je značajno snižena ($\leq 0,45$ g/L) u dva navrata, neovisno o prisutnosti egzacerbacija panikulitisa (referentne vrijednosti 0,9 do 2,0 g/L). Fenogenotipizacijom u bolesnika dokazana je inačica PiMZ-a. Analiza AAT-a u članova obitelji pokazala je da su otac i starija sestra također heterozigoti PiMZ-a, no samo je otac imao značajno sniženi AAT u serumu. Svi ispitanici, osim oca koji je odbio testiranje, imali su urednu plućnu funkciju.

Zaključci: Budući da se u većini radova panikulitis kao prva manifestacija nedostatka AAT-a opisuje prvenstveno u odraslih (prosječno oko 40. godine života), ovim radom bila nam je namjera pokazati da se u diferencijalnoj dijagnozi panikulitisa u djece također treba razmotriti i nedostatak AAT-a.

Sindrom poplitealnog pterigija – prikaz bolesnice

Mijana Kero, Katja Dumić-Kubat, Ingeborg Barišić

Referentni centar Ministarstva zdravlja RH za praćenje kongenitalnih anomalija, Klinika za pedijatriju Klinike za dječje bolesti Zagreb i Medicinskog fakulteta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Sindrom poplitealnog pterigija je rijetki autosomno – dominantno nasljedni poremećaj obilježen rascjepom usne i/ili nepca, kožnim naborom na stražnoj strani donjih udova koji je posebno izražen u poplitealnim regijama, genitalnim anomalijama, sindaktilijom, anomalijama kože oko noktiju te urednim spoznajnim i tjelesnim razvojem. Pretpostavlja se da je prevalencija ovog poremećaja 1:300 000. Uzrokovan

je mutacijom gena *IRF6* koji kodira interferon regulirajući faktor 6, transkripcijski čimbenik koji sudjeluje u reguliranju prepisivanja gena što su uključeni u razvoj tkiva glave, lica, kože i genitalija. Prikazujemo 7-godišnju djevojčicu kod koje su odmah pri porođaju uočene malformacije usne i nepca (rascjep gornje usne, alveolarnog nastavka, tvrdog i mekog nepca) te spolovila (hipertrofija klitorisa, široko razmaknute, hipoplastične velike labije) i koja je obrađivana i praćena u više ustanova, a napravljeni su joj i višestruki korektivni kirurški zahvati rascjepa usne i nepca. Tek u dobi od 5 godina, prilikom pregleda u Ambulanti za koštane displazije, postavljena joj je dijagnoza sindroma poplitealnog pterigija. Organizirano je multidisciplinsko praćenje stomatologa, maksilofacijalnog kirurga, ortopeda, defektologa/logopeda i genetičara, a obitelj je dobila odgovarajuću genetičku informaciju. Ovaj primjer upućuje na potrebu suradnje svih specijalnosti kako bi se pravodobno postavila dijagnoza i odgovarajuće pratila djeca s rijetkim genetičkim sindromima.

Rijetki oblik distalne artrogripoze tip 2a - Freeman Sheldonov sindrom – prikaz bolesnika

Silvija Pušeljić¹, Ivo Pušeljić², Branka Kristek², Vesna Milas³, Maja Štimac³, Hana Dobrić³

¹ Odjel za genetiku i bolesti metabolizma, Klinika za pedijatriju, ² Zavod za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju, ³ Odjel za intenzivno liječenje nedonoščadi i ugrožene novorođenčadi, Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Osijek

Uvod: Freeman-Sheldonov sindrom (FSS) rijedak je genetski poremećaj karakteriziran tipičnom facijalnom dismorfijom i drugim prirođenim anomalijama - atrofija kore velikog mozga, skolioza, strabizam, kriptorhizam, deformiteti šaka s ulnarnom devijacijom, nenapredovanje na tjelesnoj masi. U etiologiji ovog sindroma, opisanog i kao distalna artrogripoza tip 2A opisano je više mutacija, no uz tipičan FSS pretpostavlja se vjerojatno mutacija gena *MYH3* mapiranog na 17p13.1.

Prikaz bolesnika: Prikazujemo muško dijete u dobi od 13 mjeseci rođeno iz četvrte trudnoće nekonsagvinih roditelja, troje djece zdravo. Očeva sestra ima prirođenu manu prstiju desne ruke sa razvijena samo dva prsta. Trudnoća do 27 tjedana urednog tijeka, kada je zbog akutne hemoragije inducirani porod; RM 1090 g, AS 9/10. Na odjelu neonatalne intenzivne boravi dva mjeseca, mehanički ventiliran. Ima cerebralni poremećaj kretanja, a zbog dismorfije i pridruženih poteškoća dopunski obrađen.

Dob 13 mjeseci, gracilne tjelesne konstitucije, TT 6500 gr (ispod 5c), TV 71,5 cm (ispod 5c) cm, OG 43 cm (ispod 3.c).

Koža sa neurodermičkim promjenama, kosa tanka, rijetka. Neurokranij veći u odnosu na viscerokranij, lice poput maske, uške lošije modelirane, niže položene, blaža otopostaza, oči duboko usađene, blefarofimoza, konvergentni strabizam, epikantus, nos prohodan, dugačak filtrum, usna šupljina čista, kratki frenulum, gotsko nepce, blaža mikroretrognatija, usta mala u položaju kao za "zviždanje". Mamile šire položene, na obje šake pseudokamptodaktilija uz ularnu devijaciju prstiju, brazda 4. prsta obostrano, pupak niže položen, kriptohizam. Neurološki obrazac spastične cerebralne kljenuti. Radiološkom obradom vidljiva dekstrokonveksna torakalna skoloza, te ularna devijacija prstiju šaka uz kamptodaktiliju. CT mozga pokazuje kortikalnu atrofiju i makrogiriju. Karogram je uredan.

Zaključak: Freeman-Sheldonov sindrom (FSS) rijedak je genetički poremećaj koji se javlja sporadično, te nije udružen s kromosomskim abnormalnostima. Nema specifičnog liječenja za FSS, a djeca zahvaćena poremećajem zahtijevaju multidisciplinarni pristup radi rješavanja višestrukih problema. Opisano je više mutacija, no uz tipičan FSS pretpostavlja se vjerojatno mutacija gena *MYH3* mapiranog na 17p13.1.

Prekomjerna labavost zglobova – teško rješiv problem u bolesnika s Downovim sindromom Mogućnosti ortopedskog liječenja dislokacije kuka i patele

Darko Antičević, Ozren Kubat, Igor Šmigovec

Klinika za ortopediju, Medicinski fakultet i KBC Zagreb, Šalata 6-7, Zagreb, Hrvatska

Uvod i cilj: Očekivana životna dob za bolesnike s Downovim sindromom (DS) značajno je produžena zbog poboljšane medicinske skrbi. U približno 20% bolesnika s DS-om pojavljuju se udružene mišićno-koštane poteškoće (nestabilnost zgloba kuka i patele te naglašeni planovalgus). No samo dio tih bolesnika ima tegobe koje valja rješavati kirurškim postupcima. Podatci o etiologiji i načinu liječenja nestabilnih zglobova donjih ekstremiteta u literaturi su kontroverzni. Kao uzroci nestabilnosti zglobova u tih bolesnika obično se navode opća hipotonija i pojačana labavost. Anomalije tip VI. kolagena, čijom sintezom upravljaju geni smješteni na 21. kromosomu, vjerojatno su odgovorne za prekomjernu labavost zglobova. U novije vrijeme neki autori upućuju na to da stupanj migracije, tj. subluksacije kuka, nije u korelaciji sa stupnjem labavosti zglobova.

Metode: Uvidom u medicinsku i radiološku dokumentaciju Klinike za ortopediju u Zagrebu utvrđeni su demografski

podatci o bolesnicima koji su liječeni zbog nestabilnosti zgloba kuka ili patele, vrste operacijskih postupaka i eventualne komplikacije, te končani funkcijski ishodi.

Rezultati: U razdoblju od 2002. do 2012. godine liječeno je 13-ero bolesnika s DS-om (9 muškog i 4 ženskog spola), od kojih sedmero kirurški, a šestero konzervativno. Tegobe najčešće počinju prije desete godine života, ali odluka za operacijsko liječenje obično se donosi u drugom desetljeću života kada tegobe ograničavaju bolesnika u svakodnevnim aktivnostima. U ovoj kohorti bolesnika sedmero ih je liječeno zbog nestabilnosti patele. Troje bolesnika je liječeno stabilizacijskim postupcima na mekim tkivima, a kod jednog bolesnika operacija je ponovljena uz dodatne postupke na kostima. Četvero bolesnika operirano je na zglobu kuka. U dvoje bolesnika obavljena je operacija stabilizacije zbog epifizeolize glave femura. Jedna je bolesnica djelomično uspješno liječena zbog nestabilnosti zgloba kuka operacijama na bedrenoj kosti i zdjelici. U jednog bolesnika je ugrađen umjetni zglob kuka s vrlo dobrim uspjehom.

Zaključak: Iako je riječ o malom broju, valja istaknuti da je uspješnost rutinskih kirurških postupaka u djece s DS-om smanjena u odnosu na ostalu populaciju. Ovaj podatak može poslužiti u budućem liječenju bolesnika s DS-om.

Genetičko savjetovanje

Vida Čulić, Ivana Gunjača

KBC Split, Klinika za dječje bolesti, Odsjek za medicinsku genetiku s laboratorijem za humanu genetiku i genetičkim savjetovalištem, Spinčićeva 1, Split, Hrvatska

Genetička informacija je proces tijekom kojega bolesnici i njihovi srodnici mogu doznati o rizicima i svojstvima nasljedne bolesti. Ona omogućuje praćenje kroničnog bolesnika i pružanje pomoći obiteljskom planiranju, kako bi se poboljšalo njihovo i stanje svih srodnika. Sastoji se od dijagnostičkog postupka, a poslije potpore i praćenja. Po mnogočemu je posebna, vrlo osobna, važna za pojedinca, ali i za cijelu obitelj, trajna je i diskriminacijska, a može imati i sposobnost predskazivanja ljudske sudbine. Glavni postulati su: dobrovoljnost, informiranost, privatnost i povjerljivost genetičkih informacija. Osnovna je komunikacija, a ona je dvo-smjerna proces, ne samo da savjetovatelj daje informaciju nego on mora biti osjetljiv na izražene ili neizrečene strahove i nadanja bolesnika i njegove obitelji. Prije razgovora potrebno je u obitelji informirati se o npr. spontanom pobačajima, mrtvorodenima, nasljednim i kroničnim bolestima, nagloj smrti, osobito u djetinjstvu, donijeti sve relevantne nalaze za dijete, za muškarca i za ženu. Postupak počinje s anamnezom (općom, obiteljskom i socijalnom), kliničkim pregledom, crtanjem obiteljskog stabla, zatim

planiranjem algoritma kliničkih i laboratorijskih pretraga. Katkad je potrebno ispitati i članove obitelji. Obitelj valja upoznati s mogućnošću kontracepcije te metodom i rizikom terapijskog prekida trudnoće, a za to služi etička komisija. Definitivnu odluku prepuštamo obitelji. Optimalno je genetičko savjetovanje provoditi u sklopu multidisciplinarnog tima koji uključuje psihologa, medicinsku sestru s isku-

stvom/obrazovanjem u području genetike uz suradnju s obiteljskim liječnikom ili pedijatrom u primarnoj zdravstvenoj zaštiti, te s udrugama bolesnika. Savjetovanje mora biti sastavni dio svakog genetičkog ispitivanja. Hrvatsko društvo za humanu genetiku smatra da genetičko savjetovanje u Hrvatskoj može provoditi liječnik, supspecijalist medicinske genetike.

Sekcija: Molekularna i biokemijska osnova nasljednih bolesti

Moderatori: Alena Buretić-Tomljanović, Ivona Sansović

Molekularna dijagnostika cistične fibroze

Tanja Matijević Glavan¹, Jasminka Pavelić¹

¹Laboratorij za molekularnu onkologiju, Institut "Ruđer Bošković", Zagreb, Hrvatska

Cistična fibroza je autosomno recesivna nasljedna bolest koja zahvaća brojne organe, osobito pluća i probavni sustav, a u populaciji Zapadne Europe javlja se s učestalošću od 1:1350-4600. Uzrok cistične fibroze su mutacije u genu *CFTR* koje dovode do poremećaja funkcije proteina CFTR, odnosno poremećaja u prijenosu iona klora kroz apikalnu membranu epitelnih stanica. Cistična fibroza može imati vrlo varijabilnu kliničku sliku, koja uključuje kronične infekcije dišnih putova, poremećaje želučano-probavnog sustava, povišenu razinu iona klora u znoju te azoospermiju u muškaraca. Cilj istraživanja bio je utvrditi učestalost mutacija u genu *CFTR* u oboljelih od cistične fibroze, analiziranih u našem laboratoriju u posljednjih 5 godina. Analizirano je 45 uzoraka DNA osoba sa simptomima cistične fibroze putem komercijalno dostupnog kompleta INNO-LIPA *CFTR* (*DNA Line Probe Assay for identification of CFTR gene mutation CFTR 19 i CFTR 17+Tn Update*). U 76% ispitanika nije pronađena niti jedna mutacija. Mutacija u samo jednom alelu nađena je u 16% osoba, a bolest je potvrđena u 8% ispitanika. U zaključku, visoki postotak ispitanika bez mutacija uglavnom je rezultat široke i varijabilne kliničke slike oboljelih od cistične fibroze.

Molekularno-genetička podloga razvoja cerebralne paralize u vrlo nezrele nedonoščadi

Helena Kapitanović Vidak¹, Sanja Kapitanović²

¹Specijalna bolnica za zaštitu djece s neurorazvojnim i motoričkim smetnjama, Zagreb, Hrvatska, ²Laboratorij za personaliziranu medicinu, Institut "Ruđer Bošković", Zagreb, Hrvatska

Cerebralna paraliza je najčešće neurorazvojno odstupanje u djece uzrokovano neprogresivnim oštećenjem mozga u razvoju. Danas se smatra da je prijevremeni porođaj kao posljedica klinički neprepoznate, subkliničke intrauterine infekcije značajan etiološki čimbenik za razvoj cerebralne paralize. Izloženost infekciji u fetusa potiče ekspresiju gena za citokine i sindrom fetalnog upalnog odgovora, dok je odnos između proupalnih i protoupalnih citokina u mozgu fetusa/novorodjenčeta kritičan čimbenik nastanka oštećenja mozga.

Cilj našeg istraživanja bio je utvrditi povezanost polimorfizma gena za citokine IL-6, IL-1beta, IL-18, TNF-alfa, IL-8 i IL-10 s razvojem cerebralne paralize u vrlo nezrele nedonoščadi.

Utvdili smo statistički značajnu povezanost genotipova i varijantnog alela C polimorfizma TNF-alfa -1031 T/C te tri kombinacije genotipova TNF-alfa -1031/-857/-308/-238 s razvojem cerebralne paralize. Također smo utvdili statistički značajnu povezanost kombinacije IL-1beta genotipova -511/+3954 CT, CC s cerebralnom paralizom. Dobivena povezanost bila je značajnija u ženske vrlo nezrele nedonoščadi.

Analizom rezultata kombinacija genotipova TNF-alfa i IL-10 utvdili smo kombinacije genotipova povezane s povećanim rizikom za razvoj cerebralne paralize u njihovih nositelja

te kombinaciju genotipova TNF-alfa i IL-10 koja bi mogla biti zaštitni čimbenik tijekom izloženosti fetusa perinatalnoj infekciji.

Dobiveni rezultati upućuju na ulogu polimorfizama gena *TNF-alfa* i *IL-1beta* u genetskoj podložnosti razvoju cerebralne paralize u vrlo nezrele nedonoščadi te na osobitu važnost genetske regulacije ekspresije gena *TNF-alfa* i *IL-1beta* u ženske vrlo nezrele nedonoščadi. Rezultati potvrđuju i djelovanje citokina kao složene mreže s nizom međudjelovanja koja mogu značajno utjecati na konačne posljedice bioloških učinaka citokina tijekom neuroinflamacije.

Genetička osnova kongenitalne adrenalne hiperplazije u bolesnika u Hrvatskoj

Katja Dumić Kubat

Klinika za pedijatriju, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klaićeva 16, Zagreb, Hrvatska

Kongenitalna adrenalna hiperplazija (KAH) zbog nedostatka 21-OH je autosomno recesivno nasljedna bolest uzrokovana mutacijama gena *CYP21A2*. Analiziran je klinički oblik bolesti i mutacije gena *CYP21A2* u skupini od 93-je nesrodnih bolesnika s klasičnim oblikom KAH-a zbog nedostatka 21-OH (66-ero bolesnika - SW oblik, 27-ero bolesnika - SV oblik) te 193-je članova njihovih uži obitelji. Odnos muških i ženskih bolesnika bio 1,8:1. Od 91-og bolesnika kod kojih su mutacije dokazane na oba alela, složenih heterozigota bilo je 59 (64,8%), a homozigota 32 (35,2%). Delecije i konverzije uočene su na 18,8% (36/186) alela, a mutacije na 79,6% (147/186) alela. Najčešća mutacija bila je I2G (34,9%). Najbolja podudarnost fenotipa i genotipa uočena je među bolesnicima svrstanim u skupinu „null“ (100%), zatim u skupinu A (86%) te u skupinu B (75%). U dvije obitelji braća i sestre s istim genotipom očitovali su se s različitim fenotipovima (jedni kao SW, a drugi kao SV oblik bolesti). Analizom gena *CYP21A2* među članovima 67 ispitanih obitelji dokazano je da jedan otac i jedna majka imaju NK oblik bolesti, a jedan otac i četiri brata SV oblik bolesti. Mjerenjem koncentracije steroida i molekularno genetičkom analizom gena *CYP11B1* otkrivena su i 4 bolesnika s KAH-om zbog nedostatka 11-hidroksilaze (11-OH) u tri obitelji. Svi su bili složeni heterozigoti, a u svakoj od triju obitelji dokazana je po jedna nova, dosad neopisana mutacija gena *CYP11B1* (IVS 7DS+4A→G, c.133delG i R141Q).

Rezultati ovog istraživanja osnova su za formiranje baze podataka o bolesnicima s KAH-om i njihovim obiteljima u RH, a analiza mutacija među bolesnicima i članovima njihovih obitelji pruža mogućnost pouzdanijeg prekonceptijskog

savjetovanja, prenatalne dijagnostike i terapije KAH-a u Hrvatskoj.

Povezanost polimorfizma tata sloga promotorske regije *UGT1A1* gena i žutice u novorođenčadi na prsima - rana prezentacija gilbertovog sindroma

Orjena Žaja¹, Mario Štefanović², Jasna Tumbri³, Zvonko Jurčić¹

¹Klinika za pedijatriju, ²Zavod za kliničku kemiju, ³Klinika za ženske bolesti i porodiljstvo, Zavod za neonatologiju, KBC "Sestre milosrdnice", Zagreb, Hrvatska

Uvod: Laktacijska žutica česta je pojava među inače zdravom, dojenom novorođenčadi i dugi je niz godina predmet zanimanja istraživača. Javlja se u dva oblika; rana žutica obilježena nefiziološkom hiperbilirubinemijom u prvom tjednu života, te u kasnom obliku prolongiranjem fiziološke žutice nakon drugog tjedna. Unatoč dokazu o postojanju inhibitornih čimbenika u majčinom mlijeku, etiopatogeneza poremećaja ostaje nejasna. Otkrićem genskog polimorfizma koji znači podlogu hiperbilirubinemije u osoba s Gilbertovim sindromom, javila se zamisao kako je polimorfizam promotora gena *UGT1A1* uvjet i za razvoj laktacijske žutice. U novorođenčadi koja su nositelji ovog polimorfizma prehrana majčinim mlijekom bila bi provocirajući čimbenik za razvoj intenzivirane hiperbilirubinemije.

Cilj i metode: Osnovni cilj ovog istraživanja bio je utvrditi učestalost polimorfizma TATA sloga promotora gena *UGT1A1* i njegovu povezanost s razinom hiperbilirubinemije i trajanjem žutice u 220-ero dojene novorođenčadi, 57-ero s nefiziološkom hiperbilirubinemijom i 163-je s kasnom laktacijskom žuticom, te 187-ero zdrave djece kontrolne skupine.

Rezultati: Zabilježene su statistički značajne razlike učestalosti varijantnog alela TA7 (*UGT1A1*28*) među skupinama. Najniža učestalost zabilježena je u kontrola (0,351), intermedijarna u novorođenčadi s nefiziološkom hiperbilirubinemijom (0,447), dok je najviša zabilježena među djecom s kasnom laktacijskom žuticom (0,601). Zabilježen je linearni porast učestalosti genotipa TA7/7 ovisno o trajanju žutice, sve do 42,4% među novorođenčadi kod koje je žutica trajala najdulje, prema 26,3% u novorođenčadi s nefiziološkom hiperbilirubinemijom, odnosno 12,8% u kontrola. Razlike su značajne i pri usporedbi učestalosti TA6/7 genotipa. Istraživanje odnosa genotip-fenotip otkriva pozitivnu korelaciju ukupnog serumskog bilirubina i dužine TATA sloga promotora *UGT1A1* u sve tri skupine, bez obzira na spol.

Zaključak: Rezultati ovog istraživanja potvrdili su kako su homozigotna, ali i heterozigotna kombinacija varijantnog alela *UGT1A1*28*, u dojene novorođenčadi rizik za razvoj nefiziološke hiperbilirubinemije i kasne laktacijske žutice, kao i za dulje trajanje poremećaja, što potvrđuje izvorno Odellovo mišljenje o laktacijskoj žutici kao ranoj prezentaciji Gilbertovog sindroma.

Utjecaj deficita polinezasićenih masnih kiselina u membranama eritrocita na oslabljen niacinski odgovor kože u bolesnika sa shizofrenijom i shizoafektivnim poremećajem

Sergej Nadalin¹, Jasminka Giacometti², Suzana Jonovska³, Miljenko Kapović¹, Draško Tomljanović⁴, Alena Buretić-Tomljanović¹

¹ Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, ² Zavod za biotehnologiju, Sveučilište u Rijeci, ³ Psihijatrijska bolnica Rab, Rab, ⁴ Privatna psihijatrijska ordinacija, Rijeka

Cilj: Oslabljena niacinska reakcija kože implicira abnormalno funkcioniranje metaboličke kaskade cPLA2/COX-2 u bolesnika sa shizofrenijom. Polimorfizmi gena metaboličke kaskade cPLA2/COX-2 (BanI u PLA2G4A, rs689466 u PTGS2) pokazali su neznatan učinak na oslabljen volumetrijski niacinski odgovor kože (VNR). Cilj ovog istraživanja bio je ispitati moguću povezanost deficita masnih kiselina perifernih stanica (eritrocita) i oslabljenog VNR-a u bolesnika. Poremećen sastav bioloških membrana, zbog deficita poline-

zasićenih masnih kiselina (PUFA) u bolesnika sa shizofrenijom, dobro je opisan u znanstvenoj literaturi. Rezultati malobrojnih studija koje su istražile povezanost niacinske reakcije i sadržaja masnih kiselina eritrocita su kontradiktorni, a studije su prvenstveno usredotočene na masne kiseline obitelji n-6.

Metode: Analiza masnih kiselina obavljena je na 20-ero bolesnika sa shizofrenijom i shizoafektivnim poremećajem, izabranih sukcesivno među njih 79-ero, na kojima je prethodno provedeno testiranje kožne osjetljivosti na niacin, i 20 kontrola. U određivanju sadržaja masnih kiselina primijenjeni su ukupni lipidi eritrocita, koji su nakon izdvajanja metanolizirani, a metilni esteri masnih kiselina su ekstrahirani pomoću petrol etera i analizirani plinskom kromatografijom. Određena je relativna koncentracija glavnih pojedinačnih i ukupnih zasićenih masnih kiselina (SFA), mononezasićenih masnih kiselina (MUFA) te PUFA obitelji n-3 i n-6, a testirano je i nekoliko indeksa i omjera.

Rezultati: Utvrđeni deficiti pojedinačnih masnih kiselina, poput linolne kiseline ($P < 0,01$), eikozapentaenske kiseline (EPA) ($P < 0,001$), dokozaheksaenske kiseline (DHA) ($P < 0,01$) i adrenične kiseline ($P < 0,05$), kao i deficit PUFA iz obitelji n-3 i n-6 ($P < 0,01$) te ukupnih PUFA ($P < 0,001$), nisu korelirali sa značajno nižim vrijednostima VNR-a u bolesnika. Značajno niži broj dvostrukih veza (DBI) ($P < 0,001$), indeks peroksidacije (PI) ($P < 0,01$) te omjeri EPA/arahidonska kiselina ($P < 0,001$), ukupne PUFA/ukupne SFA ($P < 0,001$) i ukupne PUFA/ukupne MUFA ($P < 0,01$), također nisu pokazali povezanost s oslabljenom reakcijom kože na niacin u oboljelih.

Zaključak: Naši rezultati ne podupiru hipotezu o utjecaju deficita PUFA u membranama eritrocita na oslabljen odgovor kože na niacin u bolesnika sa shizofrenijom i shizoafektivnim poremećajem.

Sekcija: Epidemiologija, populacijska genetika i antropologija

Moderatori: Koraljka Gall Trošelj, Zoran Mitrović

Monogenske neuromuskularne bolesti u RH

Zoran Mitrović

Referentni Centar za neuromuskularne bolesti i kliničku elektromioneurografiju Ministarstva zdravlja RH, Klinika za neurologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Molekularna dijagnostika monogenih neuromuskularnih bolesti odrasle dobi (NMB) u KBC-u Zagreb započinje potkraj posljednjeg desetljeća prošlog stoljeća s uvođenjem genske dijagnostike za progresivnu mišićnu distrofiju (DMD/BMD) i spinalnu mišićnu amiotrofiju (SMA). Prvih godina ovog stoljeća u suradnji s EU centrima počinje dijagnostika najčešće polineuropatije s duplikacijom gena *PMP22* iz skupine Charcot-Marie-Tooth (CMT-1A), te blaže „nasljedne neuropatije s kljenuti zbog pritiska“ (HNPP), s njegovom delecijom. Slijedi dijagnostika učestalijih NMB-a s dinamičkim mutacijama: miotoničke distrofije tip1 (MD1, M.Steinert) i blaže varijante tip 2 (MD2, PROMM), spinocerebelarnih ataksija (SCA) i M. Friedreich. U suradnji s Institutom za miologiju u Parizu, ostvarena je dijagnostika facioskapulohumeralne (FSH) i distrofije Emery-Dreifuss (EDMD), te varijanta pojasne mišićne distrofije s mutacijom kalpaina (LGMD2A) i disferlina (LGMD2B). Uz inozemnu suradnju dijagnosticirane su i obitelji ili bolesnici s X vezanim oblikom CMT-a i mutacijama gena *CONN32*, recesivnom kongenitalnom miotonijom (Becker), spastičkom paraplegijom s mutacijama gena *SPG4* (M. Strumpell) i neopisanom mutacijom gena *SPG11*. Godine 2004., u suradnji s Institutom za biotehnologiju u Antwerpenu, identificiran je novi gen „malog proteina toplinskog šoka“ (*HSPB1/HSP27*), uzročnik polineuropatije CMT2F i distalne motorne neuronopatije HMN, a 2012. godine identificiran je novi gen *HINT1* kod najčešće recesivne polineuropatije udružene s neuromiotonijom (ARAN-NM). U suradnji s metaboličkim laboratorijem KBC-a detektirani su prvi odrasli bolesnici s nedostatkom alfa-glukozidaze (M. Pompe) i heksozaminidaze-A (M. Tay-Sachs). Opisana je bolesnica s multisistemskom mitohondriopatijom i mutacijom gena *POLG1* te bolesnik s miopatijom i neopisanom mitohondrijskom mutacijom gena *tRNA* (Trp). Kod dvije sestre s pojasnom distrofijom i mentalnom retardacijom utvrđena je neopisana mutacija gena *POMT1* uz nedostatak membranskog proteina alfa-distroglikana.

U posljednja dva desetljeća monogeni se NMB sve češće dijagnosticiraju u RH, no nerijetko samo u suradnji s inozem-

nim centrima. Suočeni s nadolazećim terapijskim, dijagnostički se izazov i dalje sastoji od pokušaja prepoznavanja fenotipskih obrazaca, među kojima uz kliničke znakove dominiraju promjene u elektromioneurogramu.

Beckwith Wiedemannov sindrom - europska epidemiološka populacijska studija

Ljubica Boban¹, Ingeborg Barišić¹, Maria Loane², Ester Garne³, Diana Wellesley⁴, Elisa Calzolari⁵, Helen Dolk², EUROCAT Working group

¹ Referentni centar Ministarstva zdravlja za praćenje kongenitalnih anomalija, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klaićeva 16, Zagreb;

² EUROCAT Central Registry, Centre for Maternal, Fetal and Infant Research, University of Ulster, Newtownabbey, United Kingdom;

³ Pediatric Department, Hospital Lillebaelt, Kolding, Denmark;

⁴ University Hospitals Southampton Faculty of Medicine and Wessex Clinical Genetics Service, Princess Anne Hospital,

Southampton, United Kingdom; ⁵ Istituto di Genetica Medica, University of Ferrara, Ferrara, Italy

Cilj: Beckwith Wiedemannov sindrom (BWS) poremećaj je rasta uzrokovan genetičkim i epigenetičkim promjenama na 11p15, a obilježen makrosomijom, makroglosijom, omfalokelom, visceromegalijom, sklonošću razvoju tumora i hipoglikemijom u novorođenačkoj dobi. Cilj ovog rada je odrediti prevalenciju, vrijeme dijagnoze, obilježja trudnoća, zastupljenost anomalija te moguće rizične čimbenike za nastanak BWS-a.

Metode: Primijenjeni su podaci iz 34 registra uključena u EUROCAT (*European Surveillance of Congenital Anomalies*), mrežu registara prirođenih anomalija. Registri primjenjuju istu metodologiju prikupljanja podataka te višestruke izvore informacija. Analizirani su podaci o živorođenima, mrtvorođenima >20 gestacijskog tjedna te o medicinski indiciranim prekidima trudnoće nakon prenatalno dijagnosticirane teže anomalije/anomalija. Analizirano je razdoblje 1980.-2009. godine, a ispitivana populacija obuhvatila je 15 605 385 porođaja.

Rezultati: U promatranom razdoblju zabilježeno je 225 oboljelih, pa je prevalencija BWS-a iznosila 2,5 na 100 000 porođaja. Prenatalni ultrazvuk je učinjen u 190-ero oboljelih, ali je tek u njih 98-ro (51,6%) postavljena sumnja na postojanje sindroma, odnosno malformacije/a u vremenu od

19,2±3,4 (14-22) gestacijskih tjedana. Pri porođaju je dijagnoza postavljena u 26,3% (50/190) bolesnika, u prvom tjednu života u 11,1% (21/190), a kod preostalih većinom tijekom prve godine života. Najveći broj oboljelih su živorođeni (91%; 204/225), rijetko mrtvorodeni (4%; 9/225), a za medicinski indicirani prekid trudnoće roditelji se odlučuju izuzetno rijetko (12,2%; 12/98). Najčešće anomalije bile su omfalokela (48,2%; 80/166), makroglosija (46,4%; 77/166), srčane grješke 16,8% (28/166) i anomalije urinarnog sustava (15,6%; 24/166). U 10/153 (6,4%) prethodno su primijenjene metode potpomognute oplodnje (ART), a u 8/217 (3,6%) bila je riječ o blizanačkim trudnoćama.

Zaključak: BWS je složen razvojni poremećaj s prevalencijom 1 na 40 000 porođaja i visokim udjelom pridruženih anomalija. Iako se najveći broj oboljelih prepoznata prenatalno, prekidi trudnoće uz medicinsku indikaciju su rijetki. Potvrđen je viši rizik nastanka BWS-a u blizanačkim trudnoćama kao i nakon postupaka ART-a.

Neke epidemiološke osobitosti djece s Downovim sindromom u području zapadne Hercegovine (1994.-2013.)

Darinka Šumanović-Glamuzina, Ana Zovko, Ivona Letica, Marjana Jerković-Raguž, Antonija Mustapić

Klinika za dječje bolesti SKB Mostar, Bosna i Hercegovina

Retrospektivno (1994.-2013.) analizirane su neke epidemiološke osobitosti u djece s Downovim sindromom (DS) u području zapadne Hercegovine koja medicinski nadzire Sveučilišna klinička bolnica Mostar. U tom razdoblju rođeno je 13 460 djece, a pojava DS-a zabilježena je u njih 87-ero (59 muške i 28 ženske djece). Prevalencija za to razdoblje je bila 1,2/1000 novorođenih. Roditeljskih parova u dobi iznad 35 godina je 54%. Prosječna dob majki bila je 31 godina, a očeva 39. Regularni tip DS-a nađen je u 86% slučajeva, a translokacijski tip u 4,6%. Od velikih anomalija najčešće su bile pridružene prirođene srčane grješke (u 62% djece), a zatim anomalije probavnog sustava (12%). Umrlo je 10-ero djece (11,5%), najčešće u ranom neonatalnom razdoblju, zbog komplikacija uzrokovanih teškim srčanim grješkama. Posljednjih deset godina zamjećuje se pad stope smrtnosti zbog kvalitetnije zdravstvene skrbi u perinatalnom razdoblju.

Sekcija: Genetika raka

Moderatori: ???????

Mutacije protoonkogenog RET u oboljelih od medularnog karcinoma štitne žlijezde

Koraljka Gall Trošelj¹, Renata Novak Kujundžić¹, Nina Dabelić², Ivana Grbeša¹

¹ Laboratorij za epigenomiku, Institut "Ruđer Bošković", Zagreb, Hrvatska, ² Klinika za onkologiju i nuklearnu medicinu, KBC "Sestre milosrdnice", Zagreb, Hrvatska

Pojavnost medularnog karcinoma štitne žlijezde, neuroendokrinog tumora koji nastaje od parafolikularnih, neuroendokrinih C-stanica, u općoj je populaciji niska (čini samo 5 % svih zloćudnih tumora štitne žlijezde). U 75 % slučajeva se pojavljuje sporadično. Nasljedan je (u sklopu sindroma mul-

tiple endokrine neoplazije tipa 2, MEN 2) u preostalih 25% slučajeva, zbog prisutnosti mutacije u protoonkogenom RET koji kodira nastanak receptora s tirozin kinaznom aktivnošću. Obrazac nasljeđivanja je autosomno dominantan. Za razliku od sporadičnog tumora koji se najčešće prezentira kao solitarni čvor, nasljedni oblik ovog karcinoma je multicentričan i najčešće se javlja u gornjim i srednjim dijelovima štitne žlijezde. Zbog relativno učestale pojave mutacija ovog gena *de novo*, preporuka je da se svakom bolesniku, oboljelom od ovog tumora, napravi molekularno-genetička analiza protoonkogenog RET određivanjem slijeda nukleotida („sekvenciranje“) primjenom genomske DNA-a iz dvojenog iz stanica pune krvi oboljele osobe. S obzirom na veličinu ovog gena (53 282 parova baza; 20 eksona) preporuka je da se na ovaj način analiziraju egzoni u kojima je pri-

sutnost mutacije najčešća (egzoni: 10, 11, 13, 15, 16). Ako se ovom analizom ne dokaže postojanje mutacije, vrlo je vjerojatno da je riječ o sporadičnom tumoru, s obzirom na to da su mutacije izvan ovih područja iznimno rijetke. U suradnji s KBC-om "Sestre milosrdnice", od 1995. godine analiziramo protoonkogen RET u oboljelih od medularnog karcinoma štitne žlijezde i, u trenutku uzimanja krvi, zdravih članova obitelji u kojima je potvrđena prisutnost mutacije protoonkogeneta RET. Predavanjem će se prikazati rezultati ovih analiza kojima smo, između ostalog, otkrili da su u našoj populaciji mutacije u eksonu 13 nerijetko prisutne u oboljelih osoba koje imaju negativnu obiteljsku anamnezu.

Personalizirana medicina u onkologiji

Sanja Kapitanović

Laboratorij za personaliziranu medicinu, Institut "Ruđer Bošković", Zagreb

Personalizirana medicina je ona usmjerena k pojedincu a temelji se na dobrom poznavanju molekularno-genetičke podloge bolesti. Sve do razvoja molekularne medicine, otprilike posljednjih 20-tak godina, klasifikacija tumora temeljila se na njihovim kliničko-patološkim karakteristikama. Napredak u području molekularne medicine doveo je do novih spoznaja o mehanizmima nastanka i napredovanja tumora te omogućio nove pristupe u ranoj dijagnostici, praćenju i liječenju oboljelih. Rezultati istraživanja u području molekularne patologije raka upućuju na to da svaki tumor posjeduje vlastiti genetski otisak koji je rezultat individualnih, za taj tumor specifičnih molekularnih promjena, ali i genetičkih karakteristika oboljele osobe. Baš na tim molekularno-genetičkim biomarkerima temelji se personalizirana medicina u onkologiji.

Ciljevi personalizirane medicine u onkologiji su: identifikacija osoba izloženih povećanom riziku da obole od raka, molekularna dijagnostika raka u početnim, što ranijim stadijima bolesti te što bolji odabir lijeka kako bi se izbjegle rezistencija i neželjene nuspojave, a postigla što bolja učinkovitost antitumorske terapije.

Očekuje se da će rezultati novih istraživanja u području molekularne genetike raka omogućiti precizniju molekularnu stratifikaciju i klasifikaciju zloćudnih tumora radi postizanja prethodno navedenih ciljeva personalizirane medicine u onkologiji. Molekularna klasifikacija neće zamijeniti kliničko-patološku klasifikaciju, već će joj dati jednu novu dimenziju, kako bi se što bolje mogao predvidjeti tijek i ishod tumorske bolesti.

Molekularna genetika raka trebala bi naći direktnu primjenu u svakodnevnoj kliničkoj praksi radi prevencije, što ranijeg dijagnosticiranja te što boljeg praćenja i liječenja oboljelih od zloćudnih tumora.

Uloga citokina u nastanku i napredovanju sporadičnih karcinoma debelog crijeva

Tamara Čačev, Sanja Kapitanović*

**Laboratorij za personaliziranu medicinu, Zavod za molekularnu medicinu, Institut "Ruđer Bošković", Zagreb, Hrvatska*

Rizik obolijevanja od raka kao i napredovanje tumora u velikoj mjeri ovisi o genetičkoj podlozi pojedinca. Prisutnost polimorfničkih mjesta u čovjekovu genomu omogućuje varijabilnost koja utječe na normalne fiziološke mehanizme kao i na patogenezu raka. Citokini djeluju kao geni modifikatori u procesu tumorigeneze s nizom funkcija čija regulacija nije do kraja razjašnjena te je u nekim slučajevima čak i kontradiktorna. Koja će od funkcija prevladati u određenom tipu tumora ovisi prvenstveno o biologiji samog tumora kao i o njegovoj mikrookolini.

U našem istraživanju ispitana je uloga IL-6, IL-8, IL-10, TNF α te VEGF u nastanku i napredovanju sporadičnih karcinoma debelog crijeva. Učestalost ispitivanih SNP polimorfizama gena IL-6, IL-8, TNF α te VEGF bila je podjednaka u skupini oboljelih od sporadičnog karcinoma debelog crijeva kao i u zdravoj populaciji. Opažena je statistički značajna razlika u raspodjeli pojedinih genotipova SNP polimorfizma u genu IL-10, -819C/T te -592C/A, u skupini oboljelih u odnosu na zdravu populaciju. Korelacijom ekspresije mRNA gena IL-6, TNF α te VEGF u tkivu tumora nije dokazana povezanost genotipova ovih polimorfizama s razinom ekspresije mRNA. Dokazana je povezanost ekspresije IL-10 mRNA s genotipom polimorfizama -1082A/G, -819 C/T te -592C/A. Ekspresija IL-10 mRNA je u tkivu tumora bila niža, dok je ekspresija IL-8 mRNA bila viša u odnosu na ekspresiju u pripadajućoj normalnoj sluznici. Ekspresija proteina IL-8 bila je viša u umjereno i slabo diferenciranim tumorima u odnosu na dobro diferencirane tumore. Ekspresija proteina IL-10 bila je viša u dobro i umjereno diferenciranim tumorima u odnosu na slabo diferencirane tumore, dok je u tumorima klasificiranim kao Dukes' C ekspresija IL-10 bila niža u odnosu na tumore klasificirane kao Dukes' A i B. U ispitivanju utjecaja na migraciju i invazivnost stanica trajne stanične linije adenokarcinoma debelog crijeva HT-29 u uvjetima *in vitro*, IL-8 je stimulirao, dok je IL-10 imao slab inhibitorni učinak na invazivnost stanica.

