

Rascjepi usne i nepca s aspekta genetičara

Sanda Huljev Frković*

Rascjepi usne i nepca pripadaju skupini najčešćih prirođenih anomalija. Mogu se javiti izolirano ili u sklopu sindroma. Novorođenče s rascjepom vjerojatno će imati poteškoće s hranjenjem, kasnije su moguće poteškoće sluha, razvoja govora i denticije, nerijetko se javljaju socijalne i psihološke teškoće. Stoga je problematika ovih bolesnika značajna s osobnog i društvenog stajališta, a najbolji uspjesi postižu se timskim pristupom. Bilo da se javljaju kao dio sindroma ili izolirano, identifikacija brojnih gena i genskih lokusa u etiologiji rascjepa predmet je brojnih istraživanja koja se služe različitim genetičkim pristupima. Zahvaljujući razvoju metoda sekvenciranja svih egzona i asocijacijskih studija s obuhvaćenjem cijelog genoma, posljednjih godina postignut je značajan napredak u razjašnjavanju etiologije rascjepa.

Ključne riječi: rascjep usne; rascjep nepca; genetika

UVOD

Orofacijalni rascjepi rezultat su prekida normalnog procesa orofacijalnog razvoja, što dovodi do nastanka jedne od najčešćih malformacija u ljudi: rascjepa usne s rascjepom nepca ili bez njega (engl. *cleft lip ± palate*, CL±P) ili izoliranog rascjepa nepca (engl. *cleft palate*, CP). Ove se strukture razvijaju vrlo rano u embriogenezi, razvoj usne završava sa 6 tjedana, a nepca s oko 13 tjedana (1). CL±P i CP razlikuju se prema embriologiji, etiologiji, genima kandidatima, udruženim anomalijama i riziku ponavljanja. Novorođenče s rascjepom vjerojatno će imati poteškoće pri hranjenju, moguće su poteškoće sluha, razvoja govora i denticije, a nerijetko se javljaju socijalne i psihološke poteškoće. Stoga je problematika ovih bolesnika značajna s osobnog i društvenog stajališta, a najbolji uspjesi u liječenju postižu se timskim pristupom. Dijagnoza rascjepa može se postaviti kvalitetnim prenatalnim ultrazvučnim pregledom, ali se većina rascjepa još i danas otkriva nakon rođenja. Prenatalno postavljena dijagnoza daje prednost u emotivnoj pripremi roditelja za rođenje djeteta s rascjepom, najbolje u suradnji s timom koji se bavi postnatalnim zbrinjavanjem rascjepa (2). Osjetljivost prenatalnog ultrazvučnog pregleda u otkrivanju rascjepa raste kad je rascjep udružen s nekom drugom strukturnom anomalijom. Postoje tzv. mikroforme rascjepa poput submukoznog rascjepa nepca ili uvule bifide, koje i tijekom života mogu biti dugo neotkrivene (3).

Prosječna učestalost orofacijalnih rascjepa iznosi 1 na 700 novorođenčadi (4). Najmanja učestalost je u Africi, najveća u

području Azije te u pripadnika crvene rase. U Republici Hrvatskoj učestalost rascjepa je 1,65/1000 porođaja (EURO-CAT, 2008.-2012.)(5). CL±P češći su od CP-a i javljaju se češće kod muškog spola, dok su CP-i češći u osoba ženskog spola. Izolirani rascjepi nepca ne pokazuju navedenu zemljopisnu ili rasnu raspodjelu (6). Ako gledamo udruženost s drugim anomalijama, rascjepe dijelimo u dvije skupine: nesindromske i sindromske. Većina, oko 70% CL±P-a i 50% CP-a, smatra se nesindromskim. U tim je slučajevima rascjep izolirana anomalija, bez drugih strukturnih poremećaja (7). Razumijevanje etiologije rascjepa u ovih je bolesnika važno ne samo u znanstvene svrhe, već radi poboljšanja prevencije, liječenja i prognoze.

Čimbenike koji su važni u nastanku rascjepa možemo široko podijeliti u okolišne i genetičke. Od okolišnih čimbenika važno je izdvojiti uzimanje lijekova u trudnoći, u prvom redu antiepileptika kao što su fenitoin, valproat, topiramata, te citostatika metotreksata koji djeluje kao antagonist folne kiseline. Premda je relativni rizik pri uzimanju ovih lijekova u trudnoći povišen, apsolutni rizik nastanka rascjepa nakon izloženosti navedenim lijekovima ostaje malen (6). Prema novijim studijama uzimanje kortikosteroida tijekom trud-

* Klinika za pedijatriju, KBC Zagreb, Zavod za medicinsku genetiku, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb

Adresa za dopisivanje:

Sanda Huljev Frković, dr. med., Klinika za pedijatriju, KBC Zagreb, Zavod za medicinsku genetiku, e-mail: sanda.huljev@gmail.com

Primljeno/Received: 31. 1. 2015., Prihvaćeno/Accepted: 30. 3. 2015.

noće ne utječe na nastanak rascjepa (8). Pušenje cigareta i konzumiranje alkohola u trudnoći imaju nedvojbeno rizičan učinak. Teratogeno djelovanje duhana pripisuje se hipoksiji i njegovim sastavnicama, prije svega kadmiju (9,10). Povezanost nastanka rascjepa s prekomjernom tjelesnom masom trudnice te gestacijskim dijabetesom i nedostatkom folata predmet je brojnih studija rezultati kojih nisu uvijek jednoznačni (11, 12). Navedeno se osobito odnosi na smanjeni unos folata. Njihov nedostatak važan je u etiologiji defekata neuralne cijevi i nastanku prirođenih srčanih grješaka, ali još i sad ne postoje čvrsti dokazi o povezanosti nastanka rascjepa i uzimanja folata u perikonceptijskom razdoblju (13). Provedena su i brojna ispitivanja polimorfizama u genu za metiltetrahidrofolat reduktazu koji je važan enzim u metaboličkim putovima folata. Prema rezultatima Butalija i sur. iz 2013. ne postoji udruženost između rascjepa i majčinog ili fetalnog CT-a i TT-a genotipa (14). Nužne su daljnje studije interakcije gena i okolišnih čimbenika.

Mnogi dokazi govore u prilog važnosti genetičkih čimbenika u nastanku rascjepa. Rizik za braću i sestre osobe s nesindromskim rascjepom je oko 30 puta veći nego u općoj populaciji. U monozigotnih blizanaca s rascjepom usne i nepca konkordantnost je 40% do 60%, za razliku od dizigotnih blizanaca u kojih konkordantnost iznosi samo 4%, što također govori u prilog važnosti genetičkih čimbenika (15). Obiteljska pojavnost zamijećena je i prvi put opisana još u 18. stoljeću (16). Genske inačice koje netko nosi mogu biti direktan uzrok nastanka rascjepa ili su genetički čimbenik rizika za njihov nastanak. Danas smatramo da većina slučajeva rascjepa nastaje kao posljedica kombiniranog učinka okolišnih i genetičkih čimbenika rizika u vrijeme prvih tjedna trudnoće. Drugim riječima, uzrok rascjepa slijedi kompleksan, multifaktorijski način nasljeđivanja. Studije kojima je cilj otkrivanje gena važnih u nastanku rascjepa više su fokusirane na CL±P, jer se CP-i češće javljaju u sklopu sindroma. U strategijama istraživanja tijekom desetljeća primijenjeni su različiti genetički pristupi. Kromosomske lokuse na 1q32, 2p13, 3q27-28, 9q21, 14q21-24 i 16q24 s multiplim genima koji se povezuju s nesindromskim CL±P-om među prvima su izdvojili Marazita i sur. u studijama povezanosti, u kojima je primijenjen sveobuhvatniji pristup istraživanju velikog broja gena i inačica (17,18). Uspoređujući ove rezultate s onima kandidatnih studija, valja izdvojiti gen *IRF6* u regiji 1q32.3-q41 koji je mutiran u bolesnika s Van der Woudeovim sindromom (VWS), a njegove se DNA sekvencijske inačice javljaju u bolesnika s nesindromskim CL±P-om (19). Zanimljivo je da oko 15% bolesnika s VWS-om nema drugih simptoma osim rascjepa. Isti gen, odnosno regija, izdvaja se i asocijacijskim studijama s obuhvaćenjem cijelog genoma (engl. *genome wide association studies*, GWAS). Ove se studije provode na velikom broju ispitanika, a baziraju se na analizi velikog broja gena i genetičkih inačica - uspoređuju

njihovu učestalost između dviju skupina, one oboljelih i one kontrolne. Na ovaj način identificiraju se geni, odnosno lokusi s povećanim rizikom nastanka složenih poremećaja poput rascjepa. Osim navedene 1q32.3-q41 regije, izdvajaju se i regije 8q24, 17q22 i 10q25.3 (20). Regija 8q24 osobito je zanimljiva jer pokazuje najveći stupanj statističke značajnosti u svim ovim studijama, najviše u bjelačkoj populaciji i na području Europe (21). Zanimljiva je činjenica da u obiteljima s rascjepima postoji veća učestalost pojavljivanja malignih bolesti, a da se upravo polimorfizmi u jednom nukleotidu (engl. *Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) u ovoj regiji opisuju kod oboljelih od karcinoma prostate, debelog crijeva i dojke (22). Najnovija istraživanja u vidu sekvenciranja nove generacije, posebno metoda sekvenciranja egzoma (engl. *whole exome sequencing*, WES), usmjerena su na identifikaciju uzročnih mutacija i budućnost su istraživanja etiologije rascjepa (23).

Sindromski rascjepi su dio kliničke slike kromosomopatije ili sindroma uzrokovanog mutacijom jednoga gena. Većina njih se javlja vrlo rijetko. CP češće se javlja u sklopu sindroma nego CL±P. Opisano je oko 300 sindroma koji u sklopu kliničke slike imaju rascjep, a za oko 75% poznat je definitivan genetički uzrok (24). Pažljivim pregledom bolesnika s rascjepom potrebno je uočiti postojanje dodatnih anomalija koje mogu upućivati na određeni sindrom. Od kromosomopatija za izdvojiti je trisomiju 13 i trisomiju 18, koje u kliničkoj slici mogu imati i rascjep isto kao i bolesnici s delecijom kratkog kraka 4. kromosoma ili Wolf-Hirschhornovim sindromom. Sindrom mikrodelecije 22q11.2, koji nastaje kao posljedica submikroskopske delecije u području dugoga kraka 22. kromosoma, u kliničkoj slici često ima rascjep nepca ili velofaringealnu insuficijenciju. Naziva se i velokardiofacijalni sindrom, sindrom DiGeorge ili Shprintzenov sindrom, prema različitim fenotipskim izričajima kao i autorima koji su ga opisivali. Danas je uobičajen naziv 22q11.2 mikrodelecijski sindrom, a na molekularnoj razini deletirani odsječak naziva se DiGeorgeova kritična regija. Incidencija navedenog poremećaja je 1:4000 živorođene djece. Javlja se najčešće sporadično, u otprilike 10 % slučajeva delecija se može kao autosomno dominantno svojstvo prenijeti od roditelja. Oko 80 % ovih bolesnika ima prirođenu srčanu grješku (25, 26).

Od monogenskih poremećaja u ovim prikazu izdvojeno je nekoliko, jedan od njih je prije spomenuti Van der Woudeov sindrom. Ovaj autosomno dominantni poremećaj je najčešći oblik sindromskih rascjepa. Čini oko 2% svih slučajeva rascjepa usne s rascjepom nepca ili bez njega, a javlja se s učestalošću od oko 1/34.000 živorođenih. Rascjep kod ovog sindroma obično zahvaća usnu s rascjepom nepca ili bez njega, premda postoje i oblici samo s rascjepom nepca. Razlikuje se od nesindromskih oblika po karakterističnim ja-

micama na donjoj usnici uz prisutan poremećaj rasta zuba. Prenetrantnost je visoka, 97%. Uzrokovan je brojnim mutacijama u genu *IRF6* na lokusu 1q32 (27). Poplitealni pterigijum sindrom, koji je također uzrokovan mutacijama ovoga gena, vrlo je rijedak poremećaj u kojem se osim rascjepa usne s rascjepom nepca ili bez njega javljaju kontraktura donjih udova, abnormalnosti spolovila, sindaktilija prstiju i tipični nabori kože (28).

Sticklerov sindrom je autosomno dominantno nasljedni poremećaj, karakteriziran specifičnim, ravnim licem, miopijom i spondiloepifiznom displazijom. Rascjep nepca ili uvule dio je tipične kliničke slike ili je posrijedi Pierre Robinova sekvenca koja se vidi u ovih bolesnika (29). Treacher Collinsov sindrom ili mandibulofacijalna dizostoza je poremećaj kraniofacijalnog razvoja koji se javlja s učestalošću oko 1 na 50 000 porođaja. Bolesnici imaju karakterističan, simetrično promijenjen oblik lica: malu mandibulu, očne rasporke nagnute prema dolje, kolobom donje vjeđe, obično je prisutna mikrotija, često slab sluh. Rascjep nepca javlja se u 28% slučajeva. Nasljeđuje se autosomno dominantno s varijabilnom penetrantnosti i ekspresijom (30).

Bolesnici s rascjepom usne i nepca zahtijevaju multidisciplinski pristup uz genetičara kao neizostavni dio tima, s obzirom na moguće pojavljivanje u sklopu različitih sindroma, te evaluacije prognoze i rizika ponavljanja. Napretkom tehnologije očekuju se i nove spoznaje u području genetike ovih čestih prirođenih anomalija.

NOVČANA POTPORA/FUNDING

Nema/None

ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

DOPRINOSI AUTORA/DECLARATION OF AUTHORSHIP

Svi autori jednako su doprinijeli izradi rada/*All authors have equally contributed to a manuscript writing*

SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili *the Unified Competing Interest form* na www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./*All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.*

LITERATURA

- Sadler TW. Langmanova medicinska embriologija. 10. izdanje. Školska knjiga; Zagreb; 2009.
- Ensing S, Kleinrouweler CE, Maas SM, Bilardo CM, Van der Horst CMAM, Pajkrt E. Influence of the 20-week anomaly scan on prenatal diagnosis and management of fetal facial clefts. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;44:154-9. doi: 10.1002/uog.13291.
- ten Dam E, van der Heijden P, Korsten-Meijer AG, Goorhuis-Brouwer SM, van der Laan BF. Age of diagnosis and evaluation of consequences of submucous cleft palate. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2013;77:1019-24. doi: 10.1016/j.ijporl.2013.03.036.
- Rahimov F, Jugessur A, Murray JC. Genetics of nonsyndromic orofacial clefts. *Cleft Palate Craniofac J.* 2012;49:73-91. doi: 10.1597/10-178.
- <http://www.eurocat-network.eu/>
- Wilkins-Haug L. Etiology, prenatal diagnosis, obstetrical management, and recurrence of orofacial clefts. www.uptodate.com
- Séto-Salvia N, Stanier P. Genetics of cleft lip and/or cleft palate: Association with other common anomalies. *Eur J Med Genet.* 2014;57:381-93. doi: 10.1016/j.ejmg.2014.04.003.
- Skuladottir H, Wilcox AJ, Ma C, et al. Corticosteroid use and risk of orofacial clefts. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2014;100:499-506. doi: 10.1002/bdra.23248.
- Shaw GM, Wasserman CR, Lammer EJ, et al. Orofacial clefts, parental cigarette smoking, and transforming growth factor-alpha gene variants. *Am J Hum Genet.* 1996;58:551-61.
- Shaw GM, Lammer EJ. Maternal periconceptional alcohol consumption and risk for orofacial clefts. *J Pediatr.* 1999;134:298-303.
- Corea A, Gilboa SM, Besser LM, et al. Diabetes mellitus and birth defects. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;199:237.e1-9. doi: 10.1016/j.ajog.2008.06.028.
- Stott-Miller M, Heike CL, Kratz M, Starr JR. Increased risk of orofacial clefts associated with maternal obesity: case-control study and Monte Carlo-based bias analysis. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2010;24:502-12. doi: 10.1111/j.1365-3016.2010.01142.x.
- De-Regil LM, Fernandez-Gaxiola AC, Dowswell T, Pena-Rosas JP. Effects and safety of periconceptional folate supplementation for preventing birth defects. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;10:CD007950. doi: 10.1002/14651858.CD007950.pub2.
- Butali A, Little J, Chevrier C, et al. Folic acid supplementation use and the MTHFR C677T polymorphism in orofacial clefts etiology: An individual participant data pooled-analysis. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2013;97:509-14. doi: 10.1002/bdra.23133.
- Little J, Bryan E. Congenital anomalies in twins. *Semin Perinatol.* 1986;10:50-64.
- Trew CJ. *Sistens plura exempla palati deficientis.* *Nova Acta Physico Med Acad Caesariae Leopoldinae Carol.* 1757;1:445-7.
- Marazita ML, Murray JC, Lidral AC, et al. Meta-analysis of 13 genome scans reveals multiple cleft lip/palate genes with novel loci on 9q21 and 2q32-35. *Am J Hum Genet.* 2004;75:161-73.
- Marazita ML. The evolution of human genetic studies of cleft lip and cleft palate. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2012;13:263-83. doi: 10.1146/annurev-genom-090711-163729.
- Zuccherro TM, Cooper ME, Maher BS, et al. Interferon regulatory factor 6 (*IRF6*) gene variants and the risk of isolated cleft lip or palate. *N Engl J Med.* 2004;351: 769-80.
- Mangold E, Ludwig KU, Birnbaum S, et al. Genome-wide association study identifies two susceptibility loci for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Nat Genet.* 2010;42:24-6. doi: 10.1038/ng.506.
- Birnbaum S, Ludwig KU, Reutter H, et al. Key susceptibility locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate on chromosome 8q24. *Nat Genet.* 2009;41:473-7. doi: 10.1038/ng.333.
- Dietz A, Pedersen DA, Jaobsen R, Wehby GL, Murray JC, Christensen K. Risk of breast cancer in families with cleft lip and palate. *Ann Epidemiol.* 2012;22:37-42. doi: 10.1016/j.annepidem.2011.09.003.
- Leslie EJ, Marazita ML. Genetics of cleft lip and cleft palate. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2013;163C:246-58. doi: 10.1002/ajmg.c.31381.
- Luijsterburg AJ, Rozendaal AM, Vermeij-Keers C. Classifying commom oral clefts: a new approach after descriptive registration. *Cleft Palate Craniofac J.* 2014;51:381-91. doi: 10.1597/12-088.

25. Ryan AK, Goodship JA, Wilson DI, et al. Spectrum of clinical features associated with interstitial chromosome 22q11 deletions: a European collaborative study. *J Med Genet.* 1997;34:798-804.
26. Grassi MS, Jacob CM, Kulikowski LD, et al. Congenital heart disease as a warning sign for the diagnosis of the 22q11.2 deletion. *Arq Bras Cardiol.* 2014;103:382-90.
27. Rizos M, Spyropoulos MN. Van der Woude syndrome: a review. Cardinal signs, epidemiology, associated features, differential diagnosis, expressivity, genetic counselling and treatment. *Eur J Orthod.* 2004;26:17-24.
28. Leslie EJ, Mancuso JL, Schutte BC, et al. Search for genetic modifiers of *IRF6* and genotype-phenotype correlations in Van der Woude and popliteal pterygium syndromes. *Am J Med Genet A.* 2013;161A:2535-44. doi: 10.1002/ajmg.a.36133.
29. Acke FR, Dhooge IJ, Malfait F, De Leenheer EM. Hearing impairment in Stickler syndrome: a systematic review. *Orphanet J Rare Dis.* 2012;7:84. doi: 10.1186/1750-1172-7-84.
30. Renju R, Varma BR, Kumar SJ, Kumaran P. Mandibulofacial dysostosis (Treacher Collins syndrome): A case report and review of literature. *Contemp Clin Dent.* 2014;4:532-4. doi: 10.4103/0976-237X.142826.

SUMMARY

Cleft lip and cleft palate from the genetic aspect

S. Huljev Frković

Orofacial clefts are one of the most common craniofacial malformations in newborns. They can occur as part of a distinct genetic syndrome, multiple congenital anomaly syndrome or as an isolated malformation. Affected individuals initially face feeding difficulties, and speech, hearing and dental problems later in life. Patients can experience lifelong psychosocial effects from these malformations. The best treatment success is achieved by multidisciplinary team approach. Identification of many genes and loci that contribute to the etiology of these disorders has been the subject of numerous studies using multiple genetic approaches. Significant progress has been made recently due to advances in the sequencing and genotyping technologies, primarily through the use of whole exome sequencing and genome-wide association studies.

Keywords: cleft lip; cleft palate; genetics