

Diagnosticul diferențial al bolilor cromozomiale la copii

Differential diagnosis of chromosomal pathologies in children

Mariana Sprincean^{1,2}, Svetlana Hadjiu^{1,2}, Stela Racoviță¹, Elena Halabudenco², Tatiana Samoilenko², Ana Mishina², V. Egorov^{1,2}, Nadejda Lupușor^{1,2}, Corina Griu¹, Ludmila Feghiu¹, Ludmila Cuzneț¹, Cornelia Călcii^{1,2}, Ninel Revenco^{1,2}

REZUMAT

Introducere: Una dintre problemele actuale ale medicinei contemporane este diagnosticarea precoce a bolilor genetice și anume a anomaliilor cromozomiale la copii. La ora actuală în lume există un număr mare de copii cu patologii ereditare, inclusiv anomalii cromozomiale, iar incidența acestora rămâne a fi constantă și chiar cu o tendință de creștere pe parcursul ultimelor decenii. Diagnosticul diferențial al anomaliilor cromozomiale reprezintă o etapă ce precede stabilirea diagnosticului definitiv efectuat în timp util și se bazează în principal pe particularitățile clinice specifice fiecărei patologii și testele genetice. Cercetările citogenetice și moleculare au o mare valoare în diagnosticul anomaliilor cromozomiale la copii. În ultimii ani, au fost implementate noi metode citogenetice și molecular-citogenetice, care au extins în mod semnificativ posibilitățile de diagnostic ale anomaliilor cromozomiale la copii.

Scopul lucrării de față constă în evidențierea rolului consultului medico-genetic și metodelor citogenetice și molecular-genetice în diagnosticul diferențial al bolilor cromozomiale la copii. **Materiale și metode:** În procesul investigației s-a recurs la consultul medico-genetic, care a avut drept scop identificarea grupului-țintă – 3233 copii de vârstă pediatrică cu suspiciune de anomalii cromozomiale, trimiși spre examinare în CSRGM din cadrul Institutului Mamei și Copilului, în perioada 2015-2019. Diagnosticul postnatal citogenetic – cariotiparea, a fost efectuat la toți copiii. Dintre aceștia, 459 de copii au fost diagnosticați cu anomalii cromozomiale. **Rezultate:** Metodele de diagnostic postnatal citogenetic au permis depistarea patologiilor cromozomiale la copii începând cu cele mai timpurii etape de dezvoltare ontogenetică. Vârsta copiilor incluși în studiu a fost cuprinsă între cea de nou-născut până la 18 ani. În 459 cazuri la copii au fost diagnosticate anomalii cromozomiale (AC). Printre cele mai frecvente au fost aneuploidiile, printre care trisomiile autosomale, sindroamele: Down – 250 cazuri (54,5%, 95_{CI} 52,18-56,82), Edwards – 7 cazuri (1,5%, 95_{CI} 0,93-2,07). Printre anomaliile gonosomale diagnosticate: sindromul Turner – 45 cazuri (9,8%, 95_{CI} 8,41-11,19), sindromul Klinefelter – 33 (7,2%, 95_{CI} 5,99-8,41). De asemenea, alte sindroame genetice 21 (4,6%, 95_{CI} 3,62-5,58) și 103 (22,4%, 95_{CI} 20,45-24,35) cazuri cu AC structurale. Din lotul total de 3233 copii investigați prin cariotipare, 586 (18,1%, 95_{CI} 17,42-18,78) au prezentat polimorfism citogenetic. **Concluzii:** Diagnosticul diferențial al anomaliilor cromozomiale reprezintă o etapă principală în stabilirea diagnosticului definitiv. Analiza evaluărilor citogenetice și molecular-genetice necesare diagnosticării diferitor AC numerice și structurale la copii este actuală și de o mare valoare. Copiii cu suspiciune la AC menționate sunt un exemplu de cercetare multilaterală și specifică, necesar pentru stabilirea unui diagnostic diferențial corect. Metodele cercetărilor genetice joacă un rol important în determinarea etiologiei bolilor genetice, iar corelarea particularităților clinice specifice fiecărei patologii cu rezultatele testelor genetice permit diagnosticarea corectă și timpurie a diferitor anomalii cromozomiale numerice și structurale.

Cuvinte cheie: diagnostic diferențial, boli genetice, anomalii cromozomiale, copii

SUMMARY

Introduction. One of the current problems of contemporary medicine is the early diagnosis of genetic diseases, namely chromosomal abnormalities in children. Today there are a large number of children with hereditary pathologies, including chromosomal abnormalities, and their incidence remains constant and even tends to increase over the past decades. Differential diagnosis of chromosomal abnormalities is a step to the definitive and timely diagnosis and is based mainly on the specific clinical features of individual pathology and genetic testing. Cytogenetic and molecular research has a high value in the diagnosis of chromosomal abnormalities in children. In recent years, new cytogenetic and molecular-cytogenetic methods have recently come into practice, which have significantly increased the opportunities in diagnosing of chromosomal abnormalities in children. **Aim** of the presented study was to highlight the role of medical-genetic counseling and cytogenetic and molecular-genetic methods in the differential diagnosis of chromosomal diseases in children. **Materials and methods:** In the investigation process, the medical-genetic counseling was used, aimed to identify the target group of 3233 children of pediatric age suspected of chromosomal abnormalities, addressed for examination to the Centre of Reproductive Health and Medical Genetics (CRHMG) of the Institute of Mother and Child during the period from 2015 to 2019. Postnatal cytogenetic diagnosis, i. e., karyotyping, was performed in all children. Of these, 459 children were diagnosed with chromosomal abnormalities. **Results:** Cytogenetic postnatal diagnostic methods allowed the detection of chromosomal pathologies in children from the earliest stages of intrauterine development. The age of the children included in the study ranged from that

¹ Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "N. Testemițanu", Chișinău, Republica Moldova

² Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Republica Moldova

³ Centrul Național de Epileptologie, Chișinău, Republica Moldova

¹ State University of Medicine and Pharmacy "N. Testemițanu", Chisinau, Republic of Moldova

² Mother and Child Institute, Chisinau, Republic of Moldova

³ National Center of Epileptology, Chisinau, Republic of Moldova

Adresa de corespondență:

Mariana Sprincean, e-mail: mariana.sprincean@usmf.md

Corresponding Author:

Mariana Sprincean, e-mail: mariana.sprincean@usmf.md

of newborn to 18 years of age. Chromosomal abnormalities (CA) were diagnosed in 459 children. Among the most common were aneuploidies, i. e., the cases of autosomal trisomy, namely, Down syndrome in 250 cases (54,5%, 95_{CI} 52,18-56,82) and Edwards syndrome in 7 cases (1,5%, 95_{CI} 0,93-2,07). Among the diagnosed gonosomal abnormalities were Turner syndrome in 45 cases (9,8%, 95_{CI} 8,41-11,19) and Klinefelter syndrome in 33 cases (7,2%, 95_{CI} 5,99-8,41). Also were diagnosed other cases of chromosomal syndromes in 21 cases (4,6%, 95_{CI} 3,62-5,58) and 103 cases of structural CA (22,4%, 95_{CI} 20,45-24,35). Of the total group of 3233 children investigated by karyotyping, in 586 cases (18,1%, 95_{CI} 17,42-18,78) were diagnosed cytogenetic polymorphisms. **Conclusions:** Differential diagnosis of chromosomal abnormalities is an important step in the definitive diagnosing. The analysis of results of cytogenetic and molecular-genetic investigations is necessary for the diagnosis of different numerical and structural CA in children having current importance and of great value. Children suspected to the CA are need in comprehensive and specific investigations, which are necessary to carry out a precise differential diagnosis. The methods of genetic investigations play an important role in determining the etiology of genetic diseases, and the correlation of clinical features specific to individual pathology with the results of genetic testing allow correct and early diagnosis of various numerical and structural chromosomal abnormalities.

Keywords: differential diagnosis, genetic diseases, chromosomal abnormalities, children

Problematika diagnosticului timpuriu și a diagnosticului diferențial al anomaliilor cromozomiale (AC) la copii este una foarte complexă și actuală la etapa de azi a dezvoltării științei medicale și geneticii. Aceasta este determinată de frecvența înaltă a AC și a bolilor ereditare la nou-născuți și copii de vârstă pediatrică. Potrivit datelor Organizației Mondiale a Sănătății anual se nasc circa 7,5 mln. de nou-născuți cu grave malformații congenitale, anomalii cromozomiale și boli genetice [1]. Pe parcursul ultimilor ani în Republica Moldova incidența copiilor născuți cu boli cromozomiale înregistrează o tendință de creștere. Conform datelor Registrului Național al Malformațiilor Congenitale (CNSRGM), incidența malformațiilor congenitale și a anomaliilor cromozomiale la 1000 de copii nou-născuți în perioada 2005-2009 a înregistrat o medie de 17,8, iar în anii 2016-2019 – o medie de 18,2 [2]. Impactul major al frecvenței acestor stări patologice la copii se explică prin faptul că influența anumitor factori teratogeni și mutageni pe parcursul perioadelor precece ale ontogenezei generează apariția modificărilor genotipice și fenotipice la fetuși.

Ridicarea nivelului general de cultură medicală a populației și de cunoștințe al acesteia cu privire la existența bolilor genetice și anume a anomaliilor cromozomiale însoțite de deficiențe în dezvoltarea copilului, mentale, fizice și sociale, precum și dauna majoră pe care o cauzează aceste afecțiuni atât pentru copii, familiile acestor copii, cât și pentru întreaga societate contemporană impune anumite cerințe și obligații față de specialiștii din domeniile medicale, cel psihopedagogic și în special al geneticii de a informa societatea despre pericolul major al acestor maladii [1]. Un rol important în acest proces de informare, propagare a metodelor eficiente de ameliorare, profilaxie și de lucru cu populația revine medicului genetician, în cadrul consultului genetic [3]. Însă, la etapa actuală de dezvoltare a științei, teoriei și

practicii medicale în genere, dar mai ales a celei ce ține de genetica medicală, tot mai mult se dovedește viabilă și de succes sinteza și conlucrarea mai multor domenii precum: medicina (genetică medicală, obstetrică, pediatria, neurologia etc.), psihologia medicală și cea corecțională, psihogenetica și altele, cu scopul de a contribui decisiv și hotărâtor la procesul de recuperare și corecție a pacienților cu afecțiuni genetice.

Consultul medico-genetic reprezintă un tip de asistență medicală specializată și este cea mai răspândită metodă de profilaxie a patologiilor ereditare. În sistemul de preîntâmpinare a maladiilor ereditare, consultul medico-genetic este considerat veriga principală, pilonul ce unește strâns diferite aspecte din domeniile medicale, genetice, psihologice, pedagogice și sociale. Consultul medico-genetic are ca scop: stabilirea corectă a diagnosticului clinic definitiv, prognosticul vital al probandului și cel pentru urmașii familiei respective, calcularea gradului de risc genetic; explicarea acestui fenomen (prezența afecțiunii, consecințele și modul de transmitere a bolii) familiei și rudelor apropiate, planificarea nașterii unui copil sănătos; oferirea familiei subiecților din grupul de risc, cuplurilor care au venit după un sfat psiho-genetic informația necesară despre afecțiunile ereditare și resursele de ameliorare a patologiilor ereditare, metodele de profilaxie, despre evoluția bolii [2].

Organizarea asistenței medico-genetice a familiilor cu copii născuți cu anomalii cromozomiale reprezintă una dintre problemele actuale ale ocrotirii sănătății. Actualitatea acestei probleme este determinată de frecvența înaltă a acestor stări patologice, dificultăților în diagnosticul diferențial al numărului mare de boli genetice, în special anomalii cromozomiale. Metodele cercetărilor citogenetice joacă un rol foarte important în determinarea etiologiei bolilor genetice. Potrivit unor rapoarte recente, anomaliile cromozomiale în rândul pacienților cu întârziere în dezvoltare și retard

mental se găsesc în frecvența medie de 4 - 34% [4]. Actualmente au apărut noi metode de cercetare citogenetică și molecular-genetică, care evident largesc spectrul posibilităților contemporane de diagnostic. Către aceste metode se referă metoda-FISH bazat pe hibridizarea ADN-ului cu sonde fluorescente etichetate pe diferite porțiuni ale genomului [4]; hibridizarea genomică comparativă; metoda cariotipării spectrale; cercetarea pramerilor *in situ* [1,5] ș.a. Datorită diversității metodelor citogenetică contemporane în literatura de specialitate se discută aprins aspectele privind alegerea analizei citogenetică și molecular-genetică pentru stabilirea diagnosticului diferențiat al anomaliilor cromozomiale. În cazul suspectării unui sindrom genetic cromozomial, determinat de anomalii structurale, este necesar efectuarea unor cercetări molecular-citogenetică mai sensibile.

Ținând cond de aceste argumente, **scopul studiului** de față constă în evidențierea rolului consultului medico-genetic și metodelor citogenetică și molecular-genetică în diagnosticul diferențial al bolilor cromozomiale la copii.

În vederea atingerii scopului definit, au fost formulate următoarele **obiective**:

1. Diagnosticarea cât mai timpurie a subiecților cu anomalii cromozomiale începând cu cele mai precoce perioade ontogenetice de dezvoltare;
2. Identificarea diversității formelor citogenetică în anomalii cromozomiale și corelațiilor acestora cu manifestările fenotipice;
3. Diagnosticul diferențial al bolilor cromozomiale la copii;
4. Elaborarea algoritmului genetic pentru evaluarea pacienților cu anomalii cromozomiale în vederea optimizării metodelor de profilaxie și diagnostic genetic.

MATERIAL ȘI METODĂ

Studiul a constat din analiza prospectivă a unui eșantion de 3233 de copii cu suspexie la anomalii cromozomiale cu dismorfisme craniofaciale, hipostatură, retard fizic și mintal în cadrul consultului medico-genetic de la Institutului Mamei și Copilului, în perioada 2015-2019. Diagnosticul postnatal citogenetic – cariotiparea, a fost efectuat la toți copiii. În lotul de studiu au fost incluși 459 de copii cu anomalii cromozomiale în vârstă de până la 18 ani diagnosticați clinic și confirmați citogenetic prin cariotipare standard. Pentru diagnosticarea cât mai timpurie a

subiecților cu anomalii cromozomiale și evaluarea acestora pe parcursul etapelor de dezvoltare a fost elaborată și utilizată *Fișa de evaluare și diagnostic genetic* care a facilitat procesul investigațional. Aceasta a inclus date privind evaluarea medico-genetică, anamneza heredocolaterală, furnizate, în mare parte, de către mame și/sau alți membri ai familiei copiilor. În timpul consultului medico-genetic al subiecților cu suspexie de anomalie cromozomială a fost colectată informația necesară din datele anamnestică care a permis alcătuirea pedigree-ului, arborelui genealogic al fiecărei familii. În baza datelor anamnestică, datelor de laborator, rezultatelor testelor genetice (analiza citogenetică și testul Barr) a fost stabilit diagnosticul definitiv la copiii din lotul de studiu. Analiza citogenetică, care a inclus studiul cariotipului din culturile limfocitelor sângelui periferic, a determinat cinci variante citogenetică de bază ale anomaliilor cromozomiale.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultate: Metodele de diagnostic postnatal citogenetică au permis depistarea patologiilor cromozomiale la copii începând cu cele mai timpurii etape de dezvoltare ontogenetică. Vârsta copiilor incluși în studiu a fost cuprinsă între cea de nou-născut până la 18 ani. În 459 cazuri la copii au fost diagnosticate anomalii cromozomiale (AC). Printre cele mai frecvente au fost aneuploidiile, printre care trisomiile autosomale, sindroamele: Down – 250 cazuri (54,5%, 95_{CI} 52,18-56,82), Edwards – 7 cazuri (1,5%, 95_{CI} 0,93-2,07). Printre anomaliile gonosomale diagnosticate: sindromul Turner – 45 cazuri (9,8%, 95_{CI} 8,41-11,19), sindromul Klinefelter – 33 (7,2%, 95_{CI} 5,99-8,41). De asemenea, alte sindroame genetice 21 (4,6%, 95_{CI} 3,62-5,58) și 103 (22,4%, 95_{CI} 20,45-24,35) cazuri cu AC structurale (tabelul I).

Tabel I. Diagnosticul citogenetic post-natal

Anomalia cromozomială	2015	2016	2017	2018	2019
I. Patologii numerice inclusiv:	64	73	85	71	63
1. Maladia Down	46	50	59	52	43
2 Sdr. Turner	7	12	10	6	10
3.Sdr.Klinefelter	9	6	9	4	5
4. Sdr. Edwards		1	1	4	1
5. Alte sindroame	2	4	6	5	4
II. Anomalii structurale	16	24	19	30	14
III. Polimorfism cito-genetic	80	74	169	133	130
Total investigații citogenetică efectuate	599	657	701	703	573

Din lotul total de 3233 copii investigați prin cariotipare, 586 (18,1%, 95_{CI} 17,42-18,78) au prezentat polimorfism citogenetic, iar 2188 (67,7±0,82%) (95_{CI} 66,88-68,52) au prezentat cariotip normal 46,XX sau 46,XY (Figura 1).

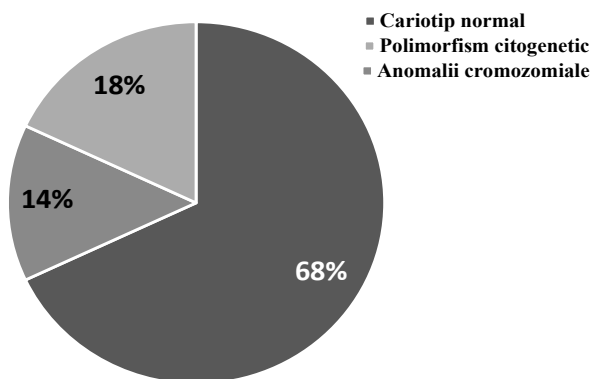


Fig. 1. Frecvența copiilor cu anomalii cromozomiale, anii 2015-2019

Anomaliile cromozomiale la copii au fost identificate în cadrul consultului medico-genetic și s-au bazat pe rezultatele evaluării clinico-genetice, ale testelor citogenetice și investigațiilor de laborator. Astfel, prezentăm cariotipurile a doi copii care prezentau anomalii cromozomiale (Fig. 2 și 3).

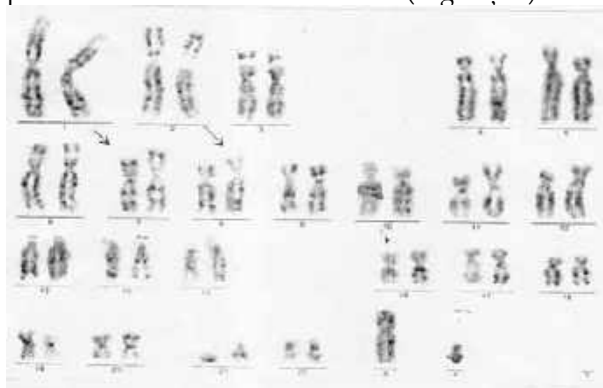


Fig. 2. Cariotip 46,XY,t(8;7)(8qter::7q336→qter)

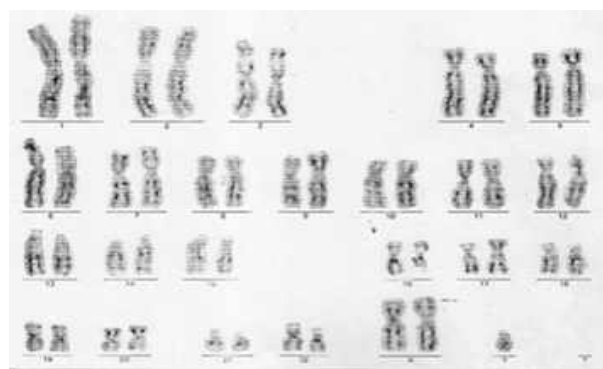


Fig. 3. Cariotip 47,XXY, Sindromul Klinefelter forma clasică la copil, 14 ani

Din totalitatea preocupărilor majore ale cercetătorilor, savanților din domeniul geneticii medicale menționăm multiple aspecte dintre care se evidențiază problematica diagnosticării cât mai timpurii și profilaxia maladiilor genetice, inclusiv a anomaliilor cromozomiale numerice și structurale. Astfel că maladiile genetice reprezintă o preocupare importantă permanentă pentru geneticienii contemporani și una dintre problemele prioritare din domeniul medicinei. În acest context, profilaxia și diagnosticarea anomaliilor cromozomiale, prin intermediul biotehnologiilor moderne, trebuie să devină preocuparea majoră nu doar a specialiștilor din domeniul geneticii medicale, sau a medicilor, fie pediatri, ginecologi, neurologi, cardiologi, ecografiști, alergologi, biologi sau psihologi, ci, de asemenea, trebuie să-și facă loc printre prioritățile de investigație a întregului spectru al universului științific.

Metodele de diagnostic postnatal citogenetic și molecular-citogenetic permit depistarea patologiilor cromozomiale la copii începând cu cele mai precoce etape de dezvoltare ontogenetică. Actualmente biotehnologiile moderne ca fenomen specific etapei contemporane de dezvoltare a științei în genere, dar și ca exponent al dezvoltării vertiginoase a progresului tehnico-științific, în mod special, lasă o amprentă adâncă în conștiința umană prin multiplele referințe și mize cu o încărcătură și implicație profundă în domeniul percepției tradiționale a sferei medicale. Primele dereglări microstructurale ale cromozomilor, asociate cu un sindrom particular, au fost descoperite în 1989 de către E. Baker și E. Buhler ș.a. [2]. Acești autori au raportat despre deleția terminală a segmentului 8q24 a fetei cu manifestări clinice ale sindromului Langer-Ghideon.

În acest moment sunt descrise peste 20 de sindroame microdeleționale, determinate de deleții terminale și interstițiale a diferitor cromozomi (sindr. Rubinștein-Teibi, Miler-Dicher, Williams, Langer-Ghideon, Prader-Willi, Angelman, Alalgil, Di George, Rasel-Silver ș.a.) [5]. Microdelețiile și microduplicațiile de obicei afectează un număr de gene strâns legate între ele, doza cărora ca rezultat al acestor restructurări variază considerabil. În a. 1986, R. Schmickel a propus să denumească boala cauzată de schimbările dozajului de gene situate din apropiere, ca urmare a microdelețiilor și microduplicațiilor prin termenul „sindromul genei învecinate” (contiguous gene syndrome). În literatura

de specialitate sunt descrise cazurile acestor patologii, determinate nu doar de deleții și duplicațiile segmentelor cromozomiale, dar și fără acestea. Sindroamele respective sunt în mod special sporadice. Se subliniază că mărirea implicării restructurării cromozomiale este legată de o afecțiune gravă.

Numeroasele rapoarte din ultimii ani, sugerează un rol important al reanajamentelor subtelomerice în geneza anomaliilor cromozomiale structurale submicroscopice. Este dovedit faptul că regiunile subtelomerice ale cromozomilor saturate cu gene, și mutațiile lor, cauzează retardul mental. La ora actuală analiza restructurărilor subtelomerice, efectuate prin metode diferite, a fost efectuat în mai multe probe de pacienți cu retard mental. Practic anomaliile subtelomerice submicroscopice au fost depistate la 6,5 – 7,4% de copii cu deficiență mentală moderată și gravă și la 10,3% de copii cu deficiență mentală ușoară [6]. Datorită acestor cercetări au fost descrise următoarele forme de patologii:

- deleția terminală submicroscopică 8pter, legată de translocația t(8;20), care duc la retard mental și tulburări de comportament;

- deleția terminală a cromozomului 5p la pacienții cu manifestări fenotipice ale sindromului Lujan-Fryns [2]; translocația în tandem 22/15 cu deleția segmentului 22q13.3 și păstrarea regiunii organizării nucleare a cromozomului la pacienții cu retard în dezvoltarea psihomotorie și verbală și hipotonie, fără câteva particularități dismorfologice;

- deleția regiunii 22q13 la pacienții cu retard în dezvoltarea psihomotorie și limbaj, hipotonie și anomalii minore neînsemnate;

- deleția 16p, apărută de novo, asociată cu deficiență mentală moderată și gravă, hipotonie și anomalii nespecifice;

- deleția subtelomerică drept consecință a translocației echilibrate familiare t(3;16) (q29; p13.3), segregate în două generații; - deleția raionului 1p36.3 (a fost efectuată o analiză genomică complexă a hărților lincate) [6].

În afară de retardul mental, anomaliile cromozomiale pot fi asociate cu hipotonie, anomalie de creștere, aspect fenotipic caracteristic (frunte proeminentă, ochii adânc amplasați, hipertelorism, rădăcina nasului aplatizată, hipoplazia porțiunii medii a feței și mandibulă proeminentă), cardiomiopatie, dilatarea ventriculilor cerebrali, hipoplaziei corpului calos, leucodistrofiei [7].

Asemenea cazuri încă o dată confirmă importanța depistării microdelețiilor subtelomerice în cazurile sporadice și formelor ereditare de retard mental. Este evident că datorită greutăților tehnice și prețului înalt al cercetării porțiunilor subtelomerice inițial este necesară culegerea minuțioasă a datelor clinice ale pacienților examinați. Cu acest scop Biesscker L.G. a cercetat 29 de pacienți cu anomalia subtelomerică cunoscută și au apreciat datele lor clinice, anamneza familială, anamneza obstetricală, dismorfismele faciale și malformațiile congenitale [4]. Grupul de control a cuprins 110 copii cu deficiență mentală ereditară de etiologie neidentificată, dar fără mutații subtelomerice submicroscopice. În baza acestor cercetări au fost elaborate indicații pentru îndreptarea pacienților pentru cercetarea restructurărilor (mutațiilor) subtelomerice submicroscopice [9].

Pentru creșterea eficacității diagnosticării dereglărilor subtelomerice este necesară determinarea manifestărilor clinice caracteristice și utilizarea metodelor de cercetare a genomului [4]. În ultimul timp au apărut metode noi care permit modificarea numărului de copii cu ajutorul hibridizării cu un set specific de probe pe porțiunile terminale a cromozomilor. C. Sismani și coaut. au relatat de așa numita metodă MAPH (Multiplex Amplifiable Probe Hybridisation), utilizată de ei pentru screeningul cu scop de depistare a restructurărilor subtelomerice. Această metodă reprezintă una dintre metodele efective, ce permite recomandarea ei pentru screeningul restructurărilor subtelomerice la copiii cu retard mental. O problemă aparte pentru consultul medico-genetic o reprezintă pacienții cu suspiciune a sindromului X-fragil [8], ce trebuie diferențiate de diferite forme de anomalii cromozomiale însoțite de retard mental, care sunt întâlnite în populație cu frecvența medie de 0,15%. În ultimii ani pe cromozomul X au fost identificate mai multe gene, responsabile de deficiența mentală nespecifică: mutații în gena TM4SF2 interleukin-1 grupului de receptori IL1RA în gena VCX-A (deficiența mentală este determinată de deleția raionului Xp22.3, unde este localizată această genă); mutația genei ARX și genei L1CAM în hidrocefalia X-lincată [6]. Sunt descrise diverse sindroame genetice (ex Prader-Willi, Angelman) în cadrul cărora se regăsesc așa manifestări clinice, precum crize epileptice, hipogenitalism, microcefalie și obezitate. Gena care determină această stare, este localizată în regiunea Xp21.1 – p22.13.

Una dintre cele mai răspândite forme de retard mintal de cauză genetică este sindromul Martin-Bell, sau sindromul X-fragil (FRA-X). Este cunoscut că frecvența sindromului Martin-Bell în populația generală a băieților constituie 0,05 – 0,025%, iar printre pacienții cu retard mintal de sex masculin frecvența lor oscilează, potrivit diferitor date de la 1,6 până la 22% [2].

Posibilități noi de diagnosticare ale sindromului Martin-Bell au apărut cu dezvoltarea metodelor de cercetare molecular-genetice. S-a dovedit că, cauza apariției sindromului este expansiunea repetărilor trinucleotidice CGG în genele FMR1 și FMR2 [14]. Mai multe relatări confirmă experiența generală clinică despre necesitatea analizei cromozomiale la pacienții cu deficiență mentală nespecifică, nesindromală pentru diagnosticarea aneuploidiilor după cromatina sexuală și FRA-X. Potrivit lucrărilor lui A. Battaglia și coaut. [3] la 10,2% dintre copii cu retard în dezvoltarea mintală a fost diagnosticată aneuploidia, iar la 5,1% a fost diagnosticată FRA-X. M. Khalifa și coaut. [9] examinând 1205 pacienți cu deficiență mentală au diagnosticat printre aceștia 8 băieți cu sindromul Klinefelter și 3 băieți cu sindromul FRA-X. În 1999 pentru prima dată a fost descrisă, iar ulterior confirmată prin alte metode de cercetare mutații în gena metil-CpG lincată de proteina 2 (MECP2), ce cauzează sindromul Rett [9]. Se considera că la bărbați sindromul Rett se întâlnește foarte rar, deoarece mutațiile în gena MECP2 de obicei sunt letale în starea homozigotă. Deși în ultimul timp au apărut mai multe relatări despre faptul că mutațiile în gena MECP2 nu întotdeauna sunt letale, dar pot să apară la pacienții cu retard mintal, uneori în asociere cu fenotipul similar sindromului Angelman. C. Schanen a propus, că bărbații care au asocierea mutației în gena MECP2 și sindromul Klinefelter, probabil, au sindromul asemănător Rett [10]. Interesante sunt relatările, că bărbații cu deficiență mentală nespecifică fără un fenotip caracteristic pot avea microdeleții în gena MECP2 [11]. În 176 de familii europene a fost efectuat screeningul la mutațiile în raionul genei MECP2 la bărbații cu suspexie la deficiența mintală X-lincată. Mutațiile au fost depistate doar într-o familie la 3 bărbați cu deficiență mentală în două generații. Toți bărbații aveau deficiență mentală ușoară nespecifică fără anumite anomalii fizice și neurologice.

S-a stabilit că apariția sindroamelor Prader-Willi și sindromului Angelman este legat de fenomenul imprintingului genomic [3]. Prin imprinting genomic se subînțelege o expresie diferită a materialului genetic în funcție de originea ei parentală (maternă sau paternă). Marea majoritate a cazurilor de sindrom Prader-Willi (70 %) microdeleția raionului 15q11-q13, determinate la pacienți au origine paternă. Aproximativ în 30% din cazurile pacienților sunt depistate doar alelele materne (disomia maternă uniparentală). Această „homotizare” specifică se produce ca rezultat al crossing-overului inegal sau recombinării somatice după mecanismul conversiei genelor. Sindromul Angelman reprezintă o reflectare în oglindă a sindromului Prader-Willi. Delețiile ce implică aproximativ aceeași regiune a cromozomului 15, ca și în sindromul Prader-Willi, au origine maternă, iar disomia uniparentală – paternă. S-a constatat că în regiunea pericentromerică a cromozomului 15 există o repetare inversată în tandem MN7, care probabil, determină predispunerea mutațională majorată a regiunii 15q11.2. Pacienții cu duplicare interstițială a regiunii proximale 15q pot avea retard în dezvoltare sau deficiență mentală fără semne de dismorfogeneză [12]. În scopul determinării gradului de exprimare a patologiei pacienții cu duplicarea raionului critic 15q de origine parentală au fost împărțiți în 3 grupe. În primul grup au fost incluși pacienți cu varianta duplicării eucromatinice fără implicarea locusului 15q11-q13. Al doilea grup a inclus pacienți cu duplicația 1511-q13 de origine maternă, care aveau probleme în educare și vorbire, semne de autism sau autism atipic fără semne dismorfogenetice. Al treilea grup a inclus pacienți cu duplicații de origine paternă fără un tablou fenotipic evident. La un pacient care avea duplicarea 15q de origine paternă cu implicarea locusului 15q11-q13, s-a determinat retard în dezvoltarea verbală și anomalii de dezvoltare a SNC [12].

Duplicarea cu inversie inv dup 15 cu implicarea locusului 15q11-q13 a fost depistată la copii cu retard în dezvoltare, deficiență mentală ușoară până la gravă, epilepsie, manifestată la vârsta de 4 – 8 ani, hipotonie generalizată și comportament de tip autist, dar fără trăsături dismorfice sau însoțite de 1 – 4 anomalii minore de dezvoltare [8]. La ora actuală sunt descrise două forme citogenetice ale duplicației prin inversie a cromozomului 15. Primul tip include cromozomul metacentric sau submetacentric și

heterocromatina, mai mică sau egală cu cromozomul grupei G – dic (15)(q11). Marea majoritate a copiilor cu asemenea anomalie au un fenotip normal [13]. Al doilea tip include cromozomul de dimensiuni mai mari, precum cromozomii grupei G și au o porțiune eucromatinică 15q. Această porțiune include regiunea 15q11-q13 și descrierea ei citogenetică – dic (15) (q12 sau q13) [8]. Acest dicentric s-a format din doi cromozomi materni corespunzători în meioză și de obicei este legat de vârsta avansată a părinților și fenotipul anormal, descris mai sus. În acest mod la presupunerea acestei anomalii cromozomiale este necesar de corelat analizele citogenetice standard cu analiza FISH. Retardul în dezvoltarea fizică de gravitate ușoară cu fenotip asemănător sindromului Prader-Willi este descris la pacienții cu disomia uniparentală a cromozomului 14 de origine maternă. Disomia uniparentală a cromozomului 14 de origine paternă la fel poate fi asociată cu deficiență mentală cu diverse anomalii de dezvoltare sau fără acestea [13]. Disomia uniparentală a cromozomului 14 reprezintă astfel, una din cauzele posibile de retard în dezvoltarea mentală și trebuie depistată în cazurile suspecte prin metoda diagnosticului ADN. Aceasta este una dintre căile principale de optimizare a diagnosticului retardului mintal.

Watson P. și coaut. [14] au atras atenția la stările care după manifestările lor fenotipice aminteau sindromul Angelman. Aceste forme ereditare pot fi considerate ca și anomalii cromozomiale, precum și ca mutații genice. Pot fi determinate deleții terminale 22q13.3, mai rar microduplicații 15q11-13, deleții interstițiale 2q21-23, 17q23..3,4q. Potrivit părerilor autorului, toate aceste anomalii cromozomiale trebuie analizate în cazul examinării pacienților cu particularități fenotipice care sunt asemănătoare sindromului Angelman. Unul din sindroamele care necesită un diagnostic diferențial cu sindromul Angelman este sindromul Rett, în special menționând că mulți pacienți cu asemenea stare decedează în perioada de nou-născut sau copilăria fragedă [14]. Lipsa vorbirii, ataxia, convulsiile epileptice și particularitățile de comportament, caracteristic pentru sindromul Angelman, se poate manifesta un deficit al metilen-tertahidrofolat-reductazei [14].

Retardul mintal profund și protruzia limbii pot fi manifestări în sindromul ATR-X (sindromul recesiv X-lincat alfa-talasemiei/deficiență mentală).

A. Battaglia și coaut. [3] efectuează un algoritm al cercetărilor genetice complete ale pacienților cu presupunere la sindromul Angelman. Inițial este necesar de exclus sindromul Angelman prin intermediul analizei ADN. În cazul unui rezultat negativ este necesar de efectuat o analiză citogenetică cu înaltă rezoluție a benzilor, ulterior o analiză subtelomerică (pentru a exclude deleția 22q13.3), ulterior prin metoda hibridizării genomice comparative de exclus sindromul, ce este însoțit de deleții interstițiale și în sfârșit de utilizat analiza ADN pentru depistarea mutațiilor în gena MECP2. Dacă toate analizele au dat un rezultat negativ, este necesar de efectuat o analiză citogenetică și molecular-genetică completă de cercetare a regiunii 15q11-q13, de exclus deficitul de metilen-tetrahidrofolat-reductazei și mutația în gena ATR-X. Aceeași autori efectuează algoritmul examinării pacienților cu hipotonie musculară și fenotipul asemănător cu sindromul Prader-Willi. Acestor pacienți este necesar de efectuat analiza ADN a raioanelor de metilare, excluzând sindromul FRA-X, apoi de efectuat analiza ADN la disomia uniparentală a cromozomului 14 și în cazul rezultatelor negative de a efectua cercetarea pentru depistarea mutațiilor MECP2. În acest fel pentru a efectua o analiză genetică completă în cazul suspiciunii la sindromul Angelman sau Prader-Willi, în unele cazuri este necesar de efectuat până la 8 metode diferite citogenetice, molecular-citogenetice și moleculare [12, 14]. Pacienții cu suspiciune la sindroamele menționate sunt un exemplu de cercetare multilateral și specific, necesar pentru stabilirea unui diagnostic corect pacienților cu deficiență mentală. În final trebuie încă o dată menționat că utilizarea în complex a metodelor de laborator citogenetice, molecular-genetice în asociere cu o cercetare clinică calificată vor permite soluționarea problemei diagnosticării deficienței mintale izolate sau retardului mintal în bolile ereditare și sindroamele genetice la copii. Aceasta la rândul său va permite mai efectiv de realizat asistență membrilor familiei copiilor cu boli genetice în soluționarea întrebărilor prognosticului la urmași și micșora frecvența nașterii copiilor cu retard mintal.

Studiul realizat ne-a permis să adaptăm și să utilizăm în cadrul consultului medico-genetic algoritmul de diagnostic al AC la copii în vederea optimizării metodelor de profilaxie și diagnostic genetic.

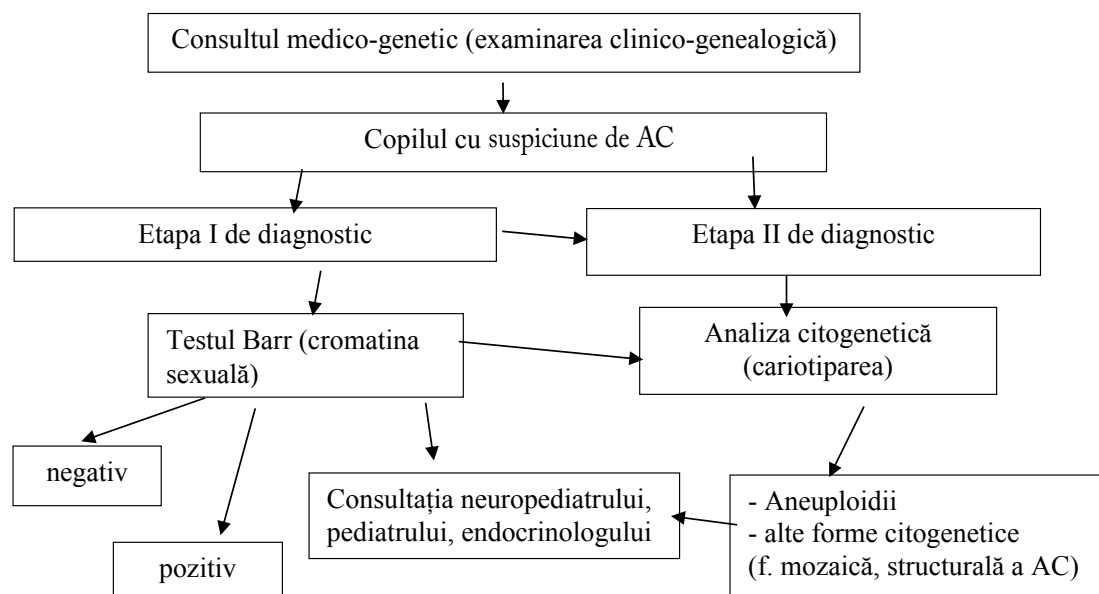


Fig.4. Algoritm de diagnostic în anomaliile cromozomiale la copii

Etapele algoritmului prezentat au facilitat diagnosticarea copiilor cu AC care s-au adresat pentru consult medico-genetic.

Reieșind din cele menționate, concluzionăm că atât în perioada primelor luni de viață, cât și în cea a copilăriei fragede există semne clinice, care ar putea sugera timpuriu diagnosticul AC la copii. Cel mai important, însă, în strategia de diagnostic și elaborare a profilaxiei AC este preîntâmpinarea nașterii copiilor cu boli genetice. Iată de ce algoritmul realizat ne-a permis să sistematizăm aspectele ce țin de diagnosticul prenatal al AC. Diagnosticul prenatal pentru AC se realizează la nivel populațional prin intermediul testelor de screening biochimic și ecografic, precum și tehnologii de diagnostic citogenetic prenatal. Ca metode neinvazive de diagnostic prenatal al afecțiunilor genetice, inclusiv al AC, menționăm screening-ul biochimic (tripul test), care presupune examinarea nivelului alfa-fetoproteinei, gonadotropinei corionice și estriolului neconjugat, cel mai frecvent în săptămâna a 15 – 17 de sarcină. Dintre metodele invazive de diagnostic prenatal cel mai frecvent se indică amniocenteza, cu studiul cariotipului fetal la a 16 – 18 s. a. Screening-ul prenatal oferă posibilitatea diagnosticării timpurii a AC la termene precoce de sarcină.

Diagnosticul bolilor genetice, utilizând tot arsenalul de biotehnologii, trebuie efectuat în perioada prenatală. Esența și valoarea diagnosticului prenatal este determinată în special de informația cu privire la genotipul și manifestările fenotipice la feteși și evitarea nașterii copiilor cu patologii genetice.

Aceste aspecte sunt analizate din toate punctele de vedere luându-se în considerație prognosticul vital, calitatea vieții. În unele situații și cazuri când sunt diagnosticate patologii grave la făt incompatibile cu viața, avortul terapeutic poate și trebuie să devină o soluție salvatoare, deoarece mai important este să trăiești, dar să trăiești sănătos. Decizia de a păstra sau nu sarcina revine cuplului, părinților și/sau viitoarei mame. Metodele de diagnostic prenatal sunt considerate niște teste sigure, aplicate pe scară largă, iar specialistul, medicul genetician în cadrul consilierii medico-genetice informează corect și complet, pe înțelesul probandului, rolul, avantajele, gradul de risc, indicațiile și contraindicațiile acestor investigații.

CONCLUZII

Diagnosticul diferențial al anomaliilor cromozomiale reprezintă o etapă principală în stabilirea diagnosticului definitiv. Analiza evaluărilor citogenetice și molecular-genetice necesare diagnosticării diferitor AC numerice și structurale la copii este actuală și de o mare valoare. Copiii cu suspexie la AC menționate sunt un exemplu de cercetare multilateral și specific, necesar pentru stabilirea unui diagnostic diferențial corect. Metodele cercetărilor genetice joacă un rol important în determinarea etiologiei bolilor genetice, iar corelarea particularităților clinice specifice fiecărei patologii cu rezultatele testelor genetice permit diagnosticarea corectă și timpurie a diferitor anomalii cromozomiale numerice și structurale.

*

**

INTRODUCTION

The problem of early and differentiated diagnosis of chromosomal abnormalities (CA) in children is very complex and having current importance in modern stage of the development of medical science and genetics. This is determined by the high incidence of CA and congenital diseases in newborns and children of pediatric age. According to World Health Organization data, about 7.5 million children with severe congenital anomalies, chromosomal abnormalities and genetic diseases are born annually [1]. During the last years in the Republic of Moldova the incidence of children with chromosomal diseases as found a trend to increasing. According to data from the National Register of Congenital Anomalies of the National Center of Reproductive Health and Medical Genetics (NCRHMG), the incidence of congenital anomalies and chromosomal abnormalities per 1000 newborns during the period from 2005 to 2019 averaged of 17,8, and from 2016 to 2019 averaged of 18,2 [2]. The major impact on the incidence of these conditions in children is explained by the fact that the influence of certain teratogenic and mutagenic factors on the early periods of antenatal development resulted to the changes in genotype and phenotype in fetuses.

Raising the general level of medical culture of the population and its knowledge of the existence of genetic diseases, namely chromosomal abnormalities accompanied by deficiencies in the child's mental, physical and social development, as well as the great impact caused by these conditions for children as well as for its families and for the contemporary society as a whole imposes certain requirements and obligations towards different medical specialists, for the psychologists educators, and in particular for the genetics to inform the society concerning the major threat of these pathologies [1]. An important role in this process of informing and promoting the effective methods of improvement, prophylaxis and working with the population belongs to the geneticist during genetic counseling [3]. However, at the current stage of development of science, theory and medical practice in general and, especially, a particular importance having the synthesis and cooperation of several fields such as medicine, e. g., medical genetics, obstetrics, pediatrics,

neurology, etc., medical and correctional psychology, psychogenetics etc., aiming to contribute decisively to the process of rehabilitation and correction of patients with genetic conditions.

Medical genetic counseling is a type of specialized health service and is the most common method of prophylaxis of congenital pathologies. In the system of prevention of congenital diseases, the medical genetic counseling is considered the main point that closely unites different aspects of the medical, genetic, psychological, educational and social fields. The aim of the medical genetic counseling is to make the correct definitive clinical diagnosis, to determine the vital prognosis for the proband and offspring of the concerned family, to calculate the degree of genetic risk, to explain of the presence of the disease, it's possible consequences and mode of inheritance to family and close relatives, to make planning the birth of a healthy child, to provide the family of proband at risk or couples who came for psychological and genetic advice with the necessary information about congenital diseases and allow access to the resources which can improve the assistance, methods of prophylaxis, and improvement of disease's course [2].

The organization of medical genetic care for families with children born with chromosomal abnormalities is one of the current problems of health service. The current importance of this problem is determined by the high incidence of these pathologies and difficulties in the differentiated diagnosis of many genetic diseases, especially chromosomal abnormalities. The methods of cytogenetic investigations play a very important role in determining the etiology of genetic diseases. According to recent reports, among the patients with developmental delay and mental retardation the chromosomal abnormalities are found with the average frequency from 4 to 34% [4]. Currently become available the new methods of cytogenetic and molecular-genetic analysis which clearly expand the diagnosing possibilities of modern medicine. Among these methods should be noted FISH which is based on DNA hybridization with fluorescent probes labeled on different regions of the genome [4], comparative genomic hybridization, spectral karyotyping, primer

in situ analysis [1, 5] etc. Due to the diversity of modern cytogenetic methods, the issues concerning the choice of cytogenetic and molecular-genetic analysis for comprehensive differentiated diagnosis of chromosomal abnormalities are discussed. In case of suspected chromosomal syndrome caused by structural abnormalities, it is need to use more sensitive molecular cytogenetic methods of analysis.

Taking into consideration above arguments, the **aim** of the present study is to highlight the role of medical genetic counseling as well as the role of cytogenetic and molecular-genetic analysis in the differentiated diagnosis of chromosomal diseases in children.

In order to achieve the defined aim, the following **objectives** have been formulated:

1. Earliest diagnosis of individuals with chromosomal abnormalities beginning from the earliest periods of intrauterine development;
2. Identification of the diversity of cytogenetic types of chromosomal abnormalities and their correlations with phenotypic manifestations;
3. Differentiated diagnosis of chromosomal diseases in children;
4. Development of the genetic algorithm for the investigation of patients with chromosomal abnormalities to optimize methods of prophylaxis and genetic diagnosis.

MATERIAL AND METHOD

The study represents of prospective analysis of a sample of 3233 children with suspected chromosomal abnormalities with craniofacial dysmorphisms, short stature and physical and mental retardation determined on medical genetic examination at the Institute of Mother and Child from 2015 to 2019. Postnatal cytogenetic diagnosis, i.e., karyotyping, was performed in all children. The study group included 459 children with chromosome abnormalities up to 18 years of age clinically diagnosed and cytogenetically confirmed using classical karyotyping. For the earliest diagnosis of individuals with chromosomal abnormalities and their investigation on the developmental stages, the *Genetic Investigation and Diagnosis* medical recording form was developed and used, which facilitated the investigational process. This form included data on the medical genetic investigation, the data concerning family history obtained mostly from the mother and/or other members of the children's family. During

the medical genetic investigation of individuals suspected of chromosomal abnormality the necessary information was collected from the historical data that allowed composing the pedigree chart for each family. Based on history, laboratory data and results of genetic testing, i.e., cytogenetic analysis and Barr body determining, the definitive diagnosis was established in children in the study group. Cytogenetic analysis, which included the study of the karyotype in cultures of lymphocytes from peripheral blood, determined five basic cytogenetic variants of chromosomal abnormalities.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Results: Methods of cytogenetic postnatal diagnosis allowed the detection of chromosomal pathologies in children from the earliest stages of intrauterine development. The age of the children included in the study ranged from that of newborn to 18 years of age. Chromosome abnormalities (CA) were diagnosed in 459 children. Among the most common were aneuploidies, including autosomal trisomy, namely Down syndrome in 250 cases (54,5%, 95_{CI} 52,18-56,82) and Edwards syndrome in 7 cases (1,5%, 95_{CI} 0,93-2,07). Among the diagnosed gonosomal abnormalities were Turner syndrome in 45 cases (9,8%, 95_{CI} 8,41-11,19) and Klinefelter syndrome in 33 cases (7,2%, 95_{CI} 5,99-8,41). Also were diagnosed other cases of chromosomal syndromes in 21 cases (4,6%, 95_{CI} 3,62-5,58) and 103 cases of structural CA (22,4%, 95_{CI} 20,45-24,35).

Table I. Cytogenetic postnatal diagnosis

Chromosomal abnormalities	2015	2016	2017	2018	2019
I. Numerical pathologies including:	64	73	85	71	63
1. Down syndrome	46	50	59	52	43
2. Turner syndrome	7	12	10	6	10
3. Klinefelter syndrome	9	6	9	4	5
4. Edwards syndrome		1	1	4	1
5. Others syndromes	2	4	6	5	4
II. Structural abnormalities	16	24	19	30	14
III. Cytogenetic polymorphisms	80	74	169	133	130
Total cytogenetic investigations	599	657	701	703	573

Of the total group of 3233 children investigated by karyotyping, in 586 cases (18,1%, 95_{CI} 17,42-18,78) were diagnosed cytogenetic polymorphisms and in 2188 (67,7±0,82%) (67,7%, 95_{CI} 66,88-68,52) presented normal karyotype (Figure 1).

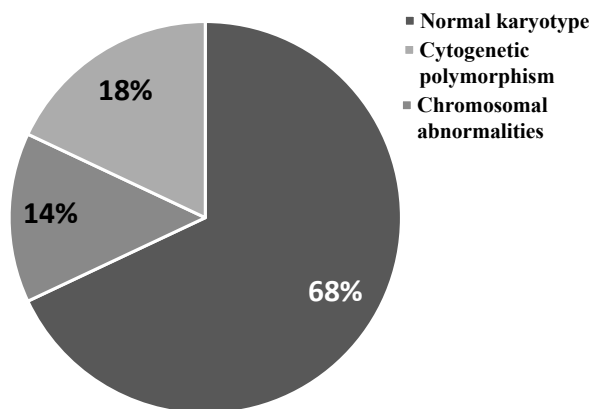


Fig. 1. Distribution of children with chromosomal diseases, 2015 - 2019.

Chromosomal abnormalities in children were identified by the medical genetic examination and were based on the results of clinical genetic investigation, cytogenetic analysis and laboratory investigations. Thus, we present the karyotypes of two children who had chromosomal abnormalities (Fig. 2 and Fig. 3).

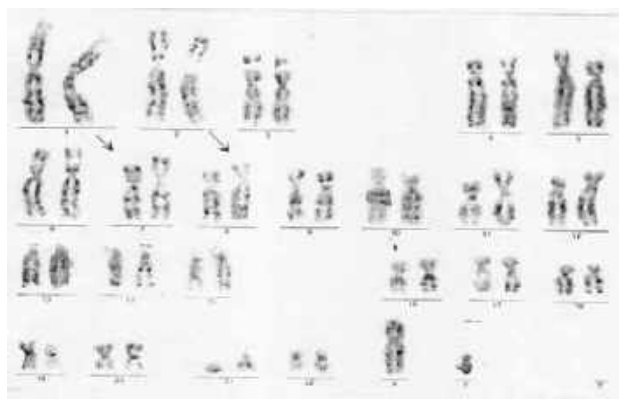


Fig. 2. Karyotype 46,XY,t(8;7)(8qter::7q336 →qter).

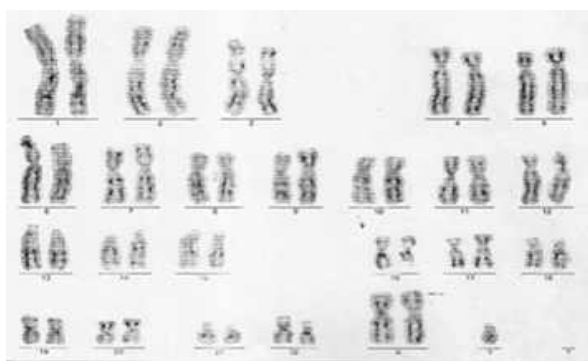


Fig. 3. Karyotype 47,XXY, Klinefelter syndrome classical type, 14-years child.

Of all the major concerns of the researchers and scientists in the field of medical genetics we should note the problem of early diagnosis and prophylaxis

of genetic diseases, including numerical and structural chromosomal abnormalities. Genetic disorders are an important persistent concern and one of priority issues for modern medicine. In this context, prophylaxis and diagnosis of chromosomal abnormalities using modern biotechnology must become the major concern not only of medical geneticists but also pediatricians, gynecologists, neurologists, cardiologists, sonographers, allergologists and, also, it is necessary to determine the investigative priorities of the entire range of the scientific universe.

Methods of cytogenetic and molecular-cytogenetic postnatal diagnostic allow the detection of chromosomal pathologies in children starting with the earliest stages of intrauterine development. Today a modern biotechnology as a phenomenon specific to the contemporary stage of development of science in genera and also as a result of the vertiginous development of technical scientific progress having a great impact on human consciousness changing of traditional perception of the medical sphere. The first microdeletion chromosomal disorders associated with a particular syndrome were discovered by Baker E., Buhler E. et al., 1989 [2]. These authors reported on the terminal deletion of region 8q24 found in a girl with clinical manifestations of Langer-Giedion syndrome.

At the moment more than 20 microdeletion syndromes are described, caused by terminal and interstitial deletions of different chromosomes, e. g., Rubinstein-Taybi syndrome, Miller-Dieker syndrome, Williams syndrome, Langer-Giedion syndrome, Prader-Willi syndrome, Angelman syndrome, Alagille syndrome, DiGeorge syndrome, Russell-Silver syndrome, etc.) [5]. Microdeletions and microduplications usually affect a number of genes closely linked together, which leads as a result of this rearrangement to significant dose variations of these genes. Schmickel R., 1986, coined the term “contiguous gene syndrome” for the diseases caused by changes in the dosage of nearby genes as a result of microdeletions and microduplications. In the literature are described the cases of these pathologies, determined not only by the deletions and duplications of the chromosomal regions, but also in its absence. These syndromes are specifically sporadic. It is stressed that the size of the chromosomal region with rearrangement correlates to a severity of pathology.

Numerous reports in recent years suggest an

important role of subtelomeric rearrangements in the genesis of submicroscopic structural chromosomal abnormalities. It is proven that the subtelomeric regions of chromosomes saturated with genes and mutations in these regions can cause mental retardation. At present, the analysis of subtelomeric rearrangements using different methods has been carried out in several cohorts of patients with mental retardation. Basically subtelomeric submicroscopic abnormalities were detected in 6,5 – 7,4% of children with moderate to severe mental deficiency and in 10,3% of children with mild mental deficiency [6]. Based on these results, the following forms of pathologies have been described:

- terminal submicroscopic deletion 8pter related to translocation t(8;20), which lead to mental retardation and behavioral disorders;

- terminal deletion of the 5p chromosome in patients with phenotypic manifestations of Lujan-Fryns syndrome [2];

- tandem translocation 22/15 with the deletion of 22q13.3 region with preservation of the region of the nuclear organization of the chromosome in patients with retardation in psychomotor and verbal development and hypotonia, without any dismorphological features;

- deletion of 22q13 region in patients with retardation in psychomotor development and speech, hypotonia and minor anomalies;

- 16p de novo deletion, associated with moderate and severe mental deficiency, hypotonia and nonspecific anomalies;

- subtelomeric deletions caused by familiar balanced translocation t(3;16)(q29;p13.3), segregated in two generations;

- deletion of 1p36.3 region in which has been carried out a complex genomic analysis of the linkage maps [6].

Apart from mental retardation, chromosomal abnormalities may be associated with hypotonia, growth deficiency and characteristic phenotypic appearance, e. g., prominent forehead, deeply placed eyes, hypertelorism, flattened the base of the nose and protrusion of the jaw, cardiomyopathy, dilation of the cerebral ventricles, hypoplasia of the corpus callosum, and leukodystrophy [7]. The presence of such cases once again confirm the importance of detecting of subtelomeric microdeletions in sporadic cases and hereditary types of mental retardation. It is obvious

that due to the technical difficulties and high cost of analysis of subtelomeric regions is needed thoroughly collecting the clinical data of the patients examined. On this reason Biesecker L. G. analyzed 29 patients with known subtelomeric abnormality and reviewed their clinical data, familial and obstetric history, facial dysmorphisms and congenital anomalies [4]. The control group comprises 110 children with hereditary mental deficiency of unidentified etiology, but without submicroscopic subtelomeric mutations. Based on this research, indications have been developed for the targeting of patients for analysis of submicroscopic subtelomeric rearrangements [9].

In order to increase the effectiveness of diagnosing of subtelomeric abnormalities it is necessary to determine characteristic clinical manifestations and use genome research methods [4]. Lately, new methods have emerged that allow to analyze the changed number of copies using hybridization with a specific set of samples specific for the terminal region of the chromosomes. Sismani C. et al. described the so-called Multiplex Amplifiable Probe Hybridization method (MAH), which they used for screening for subtelomeric rearrangements. This method is one of the effective methods, which allows its using for screening of subtelomeric rearrangement in children with mental retardation. A particular problem for the medical genetic analysis is posed by patients with suspected examination is patients suspected of fragile X syndrome [8], which must be differentiated from different types of chromosomal abnormalities accompanied by mental retardation, which are found in the population with an average frequency of 0,15%. In recent years, several genes responsible for non-specific mental deficiency have been identified on the X chromosome, i. e., mutations in the *TM4SF2* interleukin-1 gene of the *IL1RA* receptor group in the *VCX-A* gene (mental deficiency is determined by the deletion of the Xp22.3 region, where this gene is mapped); mutation of the *ARX* gene and the *L1CAM* gene in X-linked hydrocephalus [6]. Were described various genetic syndromes, e. g., Prader-Willi and Angelman syndromes accompanied by clinical manifestations such as seizures, genital hypoplasia, microcephaly and obesity. The gene that determines this pathology is mapped in the Xp21.1 – p22.13 region. One of the most common types of genetic mental retardation is Martin-Bell syndrome, or fragile X syndrome (FXS). It is known that the incidence

of Martin-Bell syndrome in the general population of boys is 0,025% – 0,05%, and among male patients with mental retardation their frequency oscillates, according to various data from 1,6 to 22% [2].

New possibilities for the diagnosing of Martin-Bell syndrome have emerged with the development of molecular-genetic research methods. It has been shown that the cause of the syndrome is the expansion of trinucleotide CGG repetitions in the *FMR1* and *FMR2* genes [14]. Several facts confirm general clinical experience about the need for chromosomal analysis in patients with nonspecific, non-syndromic mental deficiency for the diagnosis of aneuploidy of sexual chromatin and FXS. According to Battaglia A. et al. [3], in 10,2% of children with mental retardation was diagnosed aneuploidy, and in 5,1% FXS was diagnosed. Khalifa M. et al. [9] have had examined 1205 patients with mental deficiency, and among the studied cohort were diagnosed 8 boys with Klinefelter syndrome and 3 boys with FXS. In 1999 it was first described and subsequently confirmed by other research methods mutations in the methyl-CpG gene linked by protein 2 (MECP2), which causes Rett syndrome [10]. Rett syndrome is thought to be very rare in men, as mutations in the *MECP2* gene are usually lethal in the homozygous state. Although several accounts have recently emerged that mutations in the *MECP2* gene are not always lethal, but may occur in patients with mental retardation, sometimes in combination with the phenotype similar to Angelman syndrome. Schanen C. proposed that men who have mutation in the *MECP2* gene in association with Klinefelter syndrome probably have Rett-like syndrome [10]. Interesting are the reports, that men with nonspecific mental deficiency without a characteristic phenotype may have microdeletions in the *MECP2* gene [11]. In 176 European families, screening for mutations in the *MECP2* gene region was performed in men with suspected X-linked mental deficiency. Mutations were detected only in one family in three men with mental deficiency in two generations. All men had mild nonspecific mental deficiency without certain physical and neurological abnormalities.

It has been established that the occurrence of Prader-Willi and Angelman syndromes are related to the phenomenon of genomic imprinting [3]. Genomic imprinting implies a different expression of genetic material depending on its parental origin, maternal

or paternal. The vast majority of cases of Prader-Willi syndrome (70%) there is microdeletion of 15q11-q13 region, determined in patients of paternal origin. Approximately in 30% of patients are found only maternal alleles, i. e., single-parent maternal dysomy. This specific “homozygosity” occurs as a result of uneven crossover or somatic recombination after the occurrence of gene conversion. Angelman syndrome is an inverse situation of Prader-Willi syndrome. Deletions involving approximately the same region on chromosome 15, as in Prader-Willi syndrome, have maternal origin, and take place single-parent (paternal) dysomy. It was found that in the pericentromeric region of chromosome 15 there is an inverted tandem repetition MN7, which probably causes the increased mutational predisposition of 15q11.2 region. Patients with interstitial duplication of the 15q proximal region may have developmental retardation or mental deficiency without signs of dysmorphogenesis [12]. To determine the degree of expression of pathology the whole group of patients with the duplication of the critical 15q region of parental origin were divided into 3 groups. Patients with euchromatic duplication without the involvement of 15q11-q13 locus were included in the first group. The second group included patients with 15q11-q13 reduplication of maternal origin who had problems with education and speech, signs of autism or atypical autism without dysmorphogenetic signs. The third group included patients with duplication of paternal origin without an obvious phenotypic signs. In patients with 15q duplication of paternal origin with the involvement of 15q11-q13 locus was determined retardation in verbal development and abnormalities of CNS development [12].

Duplication with inv dup 15 with the involvement of 15q11-q13 locus was detected in children with developmental retardation, mild to severe mental deficiency, epilepsy, manifested at 4 to 8 years of age, generalized hypotonia and autistic behavior, but without dysmorphic traits or accompanied by 1 – 4 minor developmental abnormalities [8]. Two cytogenetic forms of chromosome 15 inversion duplication are currently described. The first type includes the metacentric or submetacentric chromosome and heterochromatin, less than or equal to the group G chromosome – dic(15)(q11). The vast majority of children with such abnormality have a normal phenotype [13]. The second type includes the

larger chromosome, such as group G chromosomes, and have a 15q euchromatin portion. This portion includes 15q11-q13 region and its cytogenetic description – dic (15) (q12 or q13) [8]. This dicentric formed two corresponding maternal chromosomes in meiosis and is usually related to the advanced age of the parents and the abnormal phenotype described above. In this way, the assumption of this chromosomal abnormality requires that standard cytogenetic analyses be correlated with FISH analysis. Retardation in the physical development of mild severity with phenotype similar to Prader-Willi syndrome is described in patients with single-parent dysomy of chromosome 14 of maternal origin. The one-parent dysomy of chromosome 14 of paternal origin can also be associated with mental deficiency with various developmental abnormalities or without these abnormalities [13]. The single-parent dysomy of chromosome 14 is thus one of the possible causes of retardation in mental development and must be detected in suspicious cases by the molecular diagnosis. This is one of the main ways of optimizing the diagnosis of mental retardation.

Watson P. et al. [14] noted the cases of pathology similar to Angelman syndrome by phenotypic manifestations. These hereditary forms can be considered as chromosomal abnormalities as well as gene mutations. Can be revealed terminal deletions

22q13.3 and less often microduplications 15q11-13 and interstitial deletions 2q21-23 and 17q23-3.4q. According to the author, all these chromosomal abnormalities should be analyzed in the case of examination of patients with phenotypic features similar to Angelman syndrome. One of the syndromes requiring a differentiated diagnosis with Angelman syndrome is Rett syndrome, especially keeping in mind that many patients with such a condition die in the newborn period or early childhood [14]. Lack of speech, ataxia, seizures and behavioral features which are characteristic for Angelman syndrome may manifest a deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase [14].

Deep mental retardation and protrusion of the tongue may be manifestations in Alpha-thalassemia mental retardation syndrome (ATR-X). Battaglia A. et al. [3] performs an algorithm of complete genetic research of patients with a suspicion of Angelman syndrome. Initially it is necessary to exclude Angelman syndrome using molecular analysis. In the case of a negative result, a high-resolution cytogenetic analysis of the chromosomal bands is necessary, then a subtelomeric analysis to exclude 22q13.3 deletion, following using the method of comparative genomic hybridization to exclude the syndrome which is accompanied by interstitial deletions and finally molecular analysis for the detection of mutations in

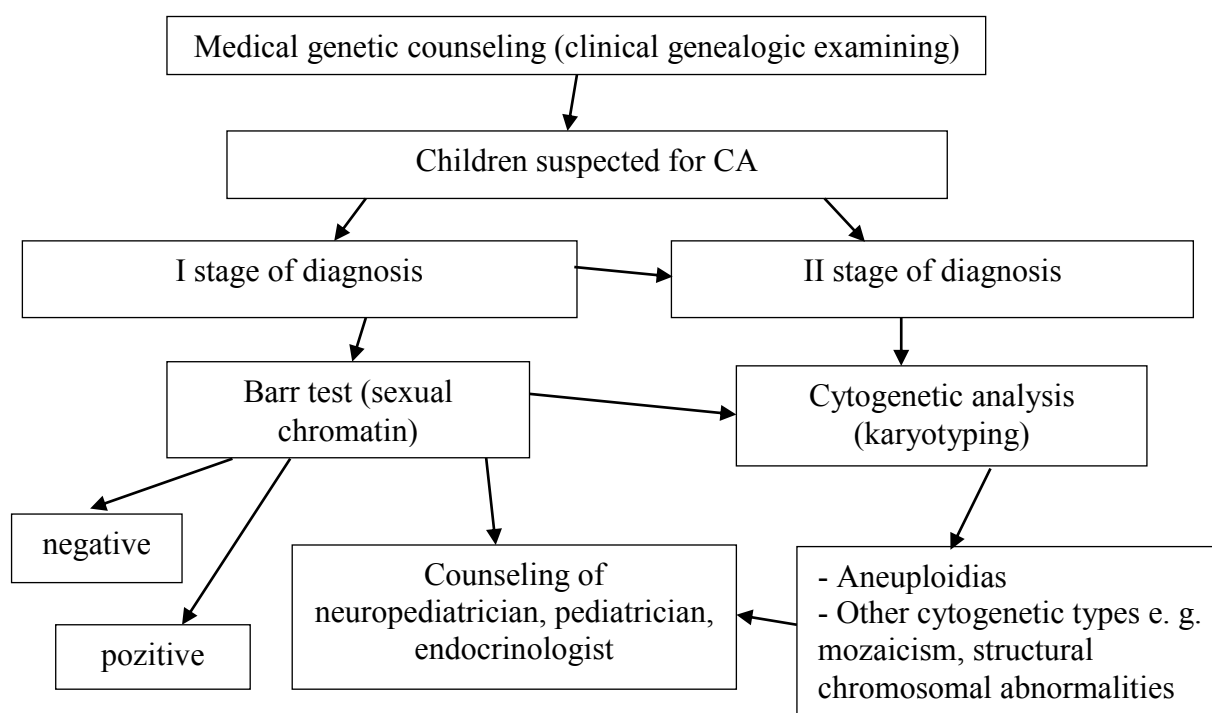


Fig.4. Diagnostic algorithm in chromosomal abnormalities in children

the *MECP2* gene. If the analyses have given a negative result, it is necessary to perform a complete cytogenetic and molecular genetic analysis of 15q11-q13 region, excluding methylenetetrahydrofolate reductase deficiency and mutation in the *ATR-X* gene. The same authors perform the algorithm of examination of patients with muscular hypotonia and the phenotype similar to Prader-Willi syndrome. It is necessary for these patients to perform molecular analysis of methylation regions, excluding FXS, then to perform molecular diagnosis for the single-parent dysomy of chromosome 14 and in the case of negative results to carry out analysis for *MECP2* mutations. In this way to perform a complete genetic analysis in case of suspicion of Angelman or Prader-Willi syndrome, in some cases it is necessary to perform up to 8 different cytogenetic, molecular-cytogenetic and molecular methods [12, 14]. Patients with mental deficiency suspected of these syndromes are an example of multilateral and specific research, necessary to establish a correct diagnosis. Finally, it should be noted once again that the complex use of cytogenetic, molecular-genetic laboratory methods in combination with qualified clinical research will resolve the problem of diagnosing isolated mental deficiency or mental retardation in hereditary diseases and genetic syndromes in children. This in turn will allow more effective assistance to family members of children with genetic diseases in resolving the questions of prognosis in offspring and reduce the frequency of birth of children with mental retardation.

The presented study allowed us to adapt and use in the medical genetic counseling the diagnostic algorithm of CA in children to optimize the methods of prophylaxis and genetic diagnosis.

The stages of the algorithm presented facilitated the diagnosis of children with CA who applied for medical genetic counseling.

Based on the above mentioned data we conclude that during the first months of life and of early childhood there are clinical signs, which might suggest early diagnosis of CA in children. Most important, however, in the strategy of diagnosis and development of CA prophylaxis is the prevention of the birth of children with genetic diseases. The presented algorithm has allowed to systematize the aspects related to the prenatal diagnosis of CA. Prenatal diagnosis for CA is carried out at the population level using biochemical and ultrasound screening tests, as well as prenatal

cytogenetic diagnostic techniques. As non-invasive methods of prenatal diagnosis of genetic disorders, including CA, we note biochemical screening, i. e., triple test, which involves determining of the serum level of alpha-fetoprotein, chorionic gonadotropin and unconjugated estriol, most commonly at 15 to 17 weeks of pregnancy. Among the most common invasive methods of prenatal diagnosis amniocentesis is indicated, with the study of fetal karyotype at 16 – 18 weeks of pregnancy. Prenatal screening offers the possibility of early diagnosis of AC at early stage of pregnancy.

The diagnosis of genetic diseases, using the entire possibilities of biotechnology, should be carried out in the prenatal period. The essence and value of prenatal diagnosis is determined in particular by information on the genotype and phenotypic manifestations in fetuses and the avoidance of the birth of children with genetic pathologies. These aspects are analyzed from all points of view taking into account the vital prognosis and the quality of life. In some situations when serious pathologies in the fetus incompatible with life are diagnosed, therapeutic abortion is possible technically. The decision on whether or not to continue the pregnancy should be the parents' decision. Prenatal diagnostic methods are considered safe, widely applied tests, and the specialist, the geneticist in the medical genetic counseling, correctly and completely informs the patients, about the evidence, the role, advantages, degree of risk, indications and contraindications of these investigations.

CONCLUSIONS

Differentiated diagnosis of chromosomal abnormalities is a main step in the definitive diagnosis. The analysis of cytogenetic and molecular genetic assessments necessary for the diagnosis of different numerical and structural CA in children having current importance and of great value. Children suspected to the CA mentioned in the presented work need in comprehensive and specific investigation, to establish a correct differential diagnosis. The methods of genetic investigations play an important role in determining the etiology of genetic diseases, and the correlation of clinical features specific to each pathology with the results of genetic tests allow correct and early diagnosis of various numerical and structural chromosomal abnormalities.

BIBLIOGRAFIE / BIBLIOGRAPHY

1. Gorduza E. V. *Compendiu de genetică umană și medicală* / red. Eusebiu Vlad Gorduza. – Iași: Tehnoprogres, 2007. p – 437.
2. Baker E., Hinton L., Callen D.F. et al. Study of 250 children with idiopathic mental retardation reveals nine cryptic and diverse subtelomeric chromosome anomalies. *Am J Med Genet* 2002; 107: 4: 285-293.
3. Battaglia A., Carey J.C. Diagnostic evaluation of developmental delay/mental retardation: An overview. *Am J Med Genet* 2003; 117: 1: 3-14.
4. Biesecker L.G. The end of the beginning of chromosome ends. *Am J Med Genet* 2002; 107: 263-266.
5. Ganguly BB, Sahni S 2003. X chromosomal abnormalities in Indian adolescent girls. *Teratog Carcinog Mutagen*, 23 Suppl 1: 245-253.
6. Anderlid B.M., Schotimans J., Anneren G. et al. Subtelomeric rearrangements detected in patients with idiopathic mental retardation. *Am J Med Genet* 2002; 107: 275-284.
7. Спринчан М.Л. Роль медико-генетического консультирования в модернизации общества // Материалы международной научной заочной конференции «Модернизация науки и общества: вызовы и ответы», Российская Федерация, Республика Мордовия, г. Саранск, 10 мая 2011 г. С.
8. Lee K.A., Kim S.H., Lee M.M. et al. Tandem translocation of chromosomes 22 and 15 with two preserved satellite stalk regions and deletion 22q13.3-qter. *Am J Med Genet* 2001; 104: 291-294.
9. Khalifa M.M., Struthers J.L. Klinefelter syndrome is a common cause for mental retardation of unknown etiology among prepubertal males. *Clin Genet* 2002; 61: 1: 49-53.
10. Schanen C. Rethinking the fate of males with mutations in the gene that causes Rett syndrome. *Brain Dev* 2001; 23: Suppl 1: S144-146.
11. Selvi R, Vineeta N, Solomon F, Paul D. Cytogenetics of autism. *Sri Ramachandra J Med* 2010;3(2):5-8.
12. Watson P., Black G., Ramsden S. et al. Angelman syndrome phenotype associated with mutations in MECP2, a gene encoding a methyl CpG binding protein. *J Med Genet* 2001; 38: 224-228.
13. Xu J., Chen Z. Advances in molecular cytogenetics for the evaluation of mental retardation. *Am J Med Genet (Semin Med Genet)* 2003; 117: 15-24.
14. Немцова М.В., Залетаев Д.В., Кулешов Н.П. Цитогенетическая и молекулярная диагностика синдрома Прадера-Вилли. Молекулярная диагностика наследственных болезней и медико-генетическое консультирование: Сборник научных трудов. Под ред. В.Н. Шабалина. М: МОНИКИ 1995; 1: 103-108.