

**Univerzita Karlova**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní obor: Biologie

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Patricie Koplíková**

Uniparentální disomie v lidském karyotypu

Uniparental disomy in the human karyotype

Bakalářská práce

Školitel: **Mgr. Jana Drábová, Ph. D.**

Praha, 2023/24

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala své školitelce, Mgr. Janě Drábové, Ph. D., za její neocenitelnou pomoc, trpělivost, podporu a vedení během psaní této bakalářské práce.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 20. 4. 2024

Podpis:

## **Abstrakt**

Chromosomové páry ovlivňují fungování našeho těla. Normálně dítě získá jednu kopii každého chromosomu od jiného rodiče, to znamená jednu kopii od matky a druhou kopii od otce. Ve vzácných případech může nastat situace, kdy dítě získá dvě kopie od stejného rodiče a od druhého žádnou. Tento jev nazýváme uniparentální disomie (UPD). Uniparentální disomie je hlavním tématem pro molekulární genetiky i cytogenetiky. Existuje několik mechanismů, které vedou ke vzniku UPD, např.: komplementace gamet, monosomy rescue, trisomy rescue nebo postfertilizační chyba. Důsledky UPD mohou být různorodé a závisí na konkrétním chromosomu a genetickém obsahu postižené oblasti. Abnormální fenotyp se projeví, pokud UPD nastane na chromosomu, který podléhá genomovému imprintingu. Abnormální fenotyp se také může objevit v důsledku mutací. Mezi nejčastější syndromy spojené s UPD patří Praderův-Williho syndrom a Angelmanův syndrom, kterými se ve své práci blíže zajímám. Za největší přínos práce považuji vytvoření uceleného přehledu o vlivech UPD napříč všemi lidskými chromosomy.

## **Klíčová slova:**

uniparentální disomie, vrozené vady, abnormální fenotyp, meiotická chyba, heterodisomie, isodisomie, SNP čipy, STR, MS-MLPA, genomový imprinting, Praderův-Williho syndrom, Angelmanův syndrom

## **Abstract**

Chromosome pairs affect how our body works. Normally, a baby gets one copy of each chromosome from each parent. This means one copy from mother, and the other copy from father. In rare cases, a baby may get two copies from the same parent and none from the other. This phenomenon is called uniparental disomy (UPD). Uniparental disomy is a major topic for molecular geneticists and cytogeneticists. There are several mechanisms that lead to UPD, for example: gamete complementation, monosomy rescue, trisomy rescue or post-fertilization error. The consequences of UPD can be diverse and depend on the specific chromosome and genetic content of the affected region. An abnormal phenotype is manifested if the UPD occurs on a chromosome that is subject to genomic imprinting. An abnormal phenotype can also occur due to mutations. Among the most common syndromes associated with UPD are Prader-Willi syndrome and Angelman syndrome, which I focus on in my theses. I consider the greatest contribution of my theses to be the creation of a comprehensive overview of the effects of UPD across all human chromosomes.

## **Key words:**

uniparental disomy, congenital defects, abnormal phenotype, meiotic error, heterodisomy, isodisomy, SNP array, STR, MS-MLPA, genomic imprinting, Prader-Willi syndrome, Angelman syndrome

## Seznam použitých zkratek

**AS** – Angelmanův syndrom

**aUPD** – získaná uniparentální disomie, z angl. *acquired uniparental disomy*

**BP** – zlomové místo, z angl. *breakpoint*

**BWS** – Beckwithův-Wiedemannův syndrom

**CF** – cystická fibróza

**DMRs** – odlišně metylované oblasti, z angl. *differentially methylated regions*

**hUPD** – heterodisomie

**IUGR** – intrauterinní růstová restrikce, z angl. *intrauterine growth restriction*

**iUPD** – isodisomie

**KOS** – Kagamové-Ogatův syndrom

**lncRNA** – dlouhá nekódující RNA, z angl. *long non-coding RNA*

**mUPD** – maternální uniparentální disomie

**piRNA** – Piwi-interagující RNA

**PNGR** – postnatální růstová restrikce, z angl. *postnatal growth restriction*

**pUPD** – paternální uniparentální disomie

**PWS** – Praderův-Williho syndrom

**SAM** – S-adenosyl-L-metionin

**segUPD** – segmentální uniparentální disomie

**snoRNA** – malá jadéřková RNA, z angl. *small nucleolar RNA*

**SRS** – Silverův-Russellův syndrom

**sSMC** – malé nadpočetné marker chromosomy, z angl. *small supernumerary marker chromosome*

**TS** – Tempelové syndrom

**UPD** – uniparentální disomie

## **Seznam použitých lékařských pojmů**

**ataxie** – porucha hybnosti způsobená onemocněním nervového systému

**brachycefalie** – deformita lebky, lebka se zkráceným předozadním rozměrem

**hemihypertrofie** – nestejná velikost obou polovin těla

**hyperfágie** – nadměrné přejídání

**hyperfosfatemie** – nadměrné množství fosfátů v krvi

**hyperglykemie** – zvýšené množství cukru v krvi

**hypogonadismus** – snížená funkce gonád

**hypokalcemie** – snížené množství vápníku v krvi

**hypopigmentace** – nedostatek melaninu

**hypospadiie** – vrožený rozštěp močové trubice

**hypotonie** – nízké napětí svalů

**hypotyreóza** – snížená funkce štítné žlázy

**makroglosie** – nadměrně zvětšený jazyk

**makrokranie** – chorobné souměrné zvětšení mozkovny

**makrosomie** – plod s abnormálně velkou hmotností

**makrostomie** – nadměrně velká ústa

**mikrocefalie** – abnormálně malá hlava v porovnání s normálním věkem a růstem

**organomegalie** – abnormální zvětšení jednoho nebo více orgánů

**polyhydramnion** – patologické zvýšení objemu plodové vody

## Obsah

1. Úvod.....	1
2. Uniparentální disomie .....	2
2.2 Mechanismy vzniku uniparentální disomie.....	3
2.2.1 Komplementace gamet.....	4
2.2.2 Trisomy rescue.....	4
2.2.3 Monosomy rescue .....	5
2.3 Heterodisomie a isodisomie.....	6
2.4 Mechanismy detekce UPD .....	7
3. Genomový imprinting .....	9
3.1 Princip imprintingu.....	10
4. Abnormální fenotypy spojené s UPD.....	11
4.1 Praderův-Williho syndrom .....	14
4.1.1 Genetické příčiny .....	15
4.1.2 Klinické znaky .....	17
4.1.3 Léčba.....	18
4.2 Angelmanův syndrom.....	19
4.2.1 Genetické příčiny .....	19
4.2.2 Klinické znaky .....	20
4.2.3 Léčba.....	21
5. Závěr.....	22
Seznam použité literatury .....	23
Seznam internetových zdrojů .....	33

## 1. Úvod

V současné době je uniparentální disomie velmi probírané téma v oblastech lidské genetiky a reprodukční medicíny. Uniparentální disomie (UPD) je stav, kdy jedinec zdědí oba homologní chromosomy (nebo jejich část) pouze od jednoho rodiče a od druhého jedinec nezdedí žádný. Studie udávají, že je UPD přítomna u téměř 1 z 2000 živě narozených dětí (Nakka et al. 2019).

UPD vzniká po abnormální meiotické segregaci, tj. z chybného buněčného dělení během tvorby vajíček a spermií. Uniparentální disomii můžeme rozdělit na heterodisomii a isodisomii. Heterodisomie je stav, kdy jedinec zdědí dva homologní, avšak geneticky odlišné chromosomy od jednoho z rodičů. Isodisomie je stav, kdy jedinec zdědí dvě identické kopie jednoho homologního chromosomu opět od jednoho z rodičů.

UPD nemusí být nutně sama o sobě patogenní, ale může vést k projevu autozomálně recesivní poruchy. U některých chromosomů je výskyt UPD spojen s abnormálním klinickým projevem zejména kvůli imprintingu, který se na nich vyskytuje.

Cílem této bakalářské práce je popsat současné poznání o uniparentální disomii. Ve své práci popisují objev uniparentální disomie, mechanismy jejího vzniku, mechanismy detekce a abnormální fenotypy, které jsou s ní spojené.



## 2. Uniparentální disomie

Za normálních podmínek získává lidská zygota jednu kompletní sadu haploidních chromosomů ze spermie a jednu sadu z oocyty. Avšak chybou může dojít k situaci, kdy jedinec zdědí jeden nebo více chromosomových párů pouze od jednoho z rodičů, tedy výhradně od matky nebo od otce, případně může nastat i situace, kdy potomek zdědí pouze část chromosomu od jednoho z rodičů. Tato vzácná genetická chyba je známá jako uniparentální disomie (Liehr 2014; Antonarakis et al. 1993). Uniparentální disomii poprvé popsal Eric Engel v roce 1980. Uvedl, že UPD pravděpodobně nastane kvůli vysoké míře meiotických chyb. Předpokládal, že pokud by k oplození došlo mezi disomickým vajíčkem a spermií s nulizomii na stejném chromosomu, výsledkem by byla právě maternální uniparentální disomie. V těchto případech by všechny buňky v těle nesly stejnou uniparentální disomii v důsledku vytvoření zárodečné linie a transmise (Zhang et al. 2021; Liehr 2022). První klinický případ UPD byl prezentován v roce 1988. Týkal se mladé dívky s normálním karyotypem, která měřila pouze 130 cm a fyzickou asymetrií se podobala jedinci se syndromem Silver-Russell. Dívka trpěla cystickou fibrózou (CF) v důsledku zdědění dvou identických kopií chromosomu 7 pouze od matky, bez přispění otce. Příčinou CF byla tedy přítomnost dvou kopií mateřského chromosomu 7, které nesly mutovaný gen *CFTR* vedoucí k odhalení recesivní alely (Spence et al. 1988; Engel 1980).

Uniparentální disomii můžeme rozdělit do několika kategorií. Podle toho, od kterého z rodičů pochází kopie určitého chromosomu, můžeme UPD rozdělit na paternální (pUPD) a maternální (mUPD). Další rozdělení vyplývá z nondisjunkce během různých fází meiózy. Může nastat heterodisomie (hUPD), isodisomie (iUPD) nebo částečná isodisomie (částečná iUPD). Isodisomie je stav, kdy oba homologní chromosomy od téhož rodiče jsou zároveň sekvenčně totožné, zatímco při heterodisomii jsou přítomny dva různé homologní chromosomy původem od téhož rodiče (Nakka et al. 2019; Fernández-Rebollo et al. 2010). Dále může být rozdělena na vrozenou a získanou. Také se může vyskytovat spolu s chromosomálními aberacemi, což jsou odchylky v počtu nebo struktuře chromosomů. Několik z výše uvedených kategorií se může vyskytovat ve stejný čas u stejného jedince (Liehr 2014).

UPD se nemusí týkat pouze celého chromosomu, ale může také postihnout pouze jeho část. O této situaci hovoříme jako o segmentální uniparentální disomii (segUPD). SegUPD je definována jako UPD části jednoho chromosomu spolu s biparentální dědičností u zbytku tohoto páru chromosomů. Tento typ UPD se může objevit jako výsledek mitotické rekombinace nebo při opravném mechanismu redukce trisomie na disomii (tzv. trisomy rescue) (Yaou et al.

2019). SegUPD je častá u rakoviny, kdy se hovoří o ztrátě heterozygotnosti. Klinicky nejznámější případ segUPD je Beckwithův-Wiedemannův syndrom (Waggoner et al. 2018). Tento syndrom je spojen s nadměrným růstem a zvýšeným rizikem nádorů. Jedná se o segmentální pUPD, která vykazuje mozaikový vzor, což naznačuje postzygotický mechanismus vzniku (Keren et al. 2013).

Pro některé chromosomy je uniparentální disomie bez následků, ale u několika chromosomů mohou u jedince způsobit klinický projev. Abnormality vznikají v důsledku rozdílu genové exprese DNA pocházející od každého rodiče. Výsledkem mohou být vážné klinické stavy, včetně syndromů ovlivňujících růst a vývoj jedince (Shaffer et al. 2001).

## **2.2 Mechanismy vzniku uniparentální disomie**

Většina UPD není zděděna od rodičů, ale souvisí s abnormalitami během meiózy, fertilizace a mitózy. UPD můžeme rozdělit na vrozenou a získanou. Vrozená nejčastěji vzniká v důsledku nondisjunkce během meiózy a následnou postfertilizační chybou (Li et al. 2017). Výsledné gamety mohou být disomické, místo jednoho chromosomu obsahují dva, nebo nulismické, které nenesou žádný chromosom z daného páru. Disomie dávají vznik trisomiím v embryu, což znamená, že se chromosom vyskytuje ve třech kopiích. Nulismie dávají vznik monosomiím, což znamená, že se chromosom vyskytuje v zygotě pouze v jedné kopii. Následnou korekcí trisomie či monosomie na disomický stav dochází ke vzniku UPD (Shaffer et al. 2001).

Uniparentální disomie se může objevit později během života jedince. Získaná UPD (aUPD) se obvykle vyskytuje spolu s onkologickým onemocněním a vzniká během iniciace a progresu nádoru. Tato UPD většinou nastane během mitózy, při které dochází k duplikaci genetického materiálu, který je následně rovnoměrně rozdělen mezi dvě dceřné buňky. Chyby v tomto procesu, jako nondisjunkce nebo chyba v rekombinaci, mohou vést ke ztrátě nebo zisku celých chromosomů nebo jejich segmentů, což vede k aUPD (Tuna et al. 2019; Bullinger et al. 2010).

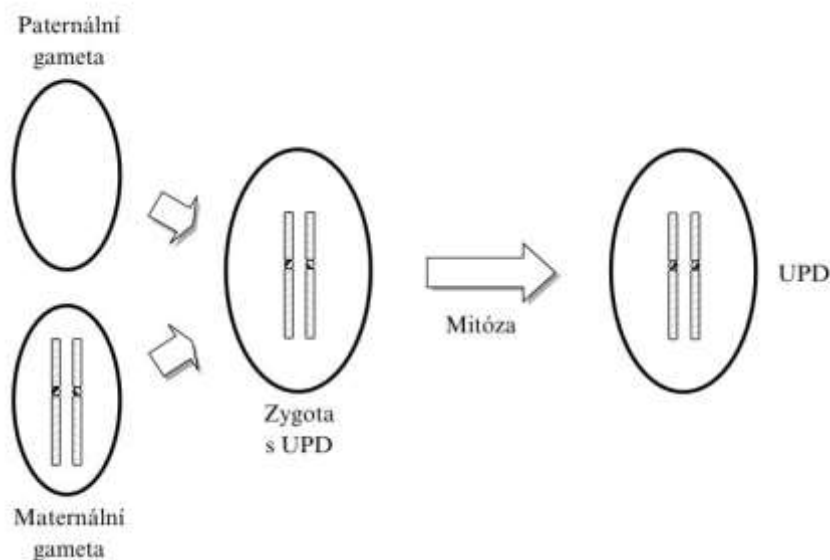
Se zvyšujícím se věkem matky i otce se zvyšuje pravděpodobnost výskytu UPD. Pokud je matka starší než 35 let, zvyšuje se výskyt meiotické nondisjunkce a UPD, která vznikla ztrátou chromosomu z trisomické zygoty (mechanismus trisomy rescue) (Robinson et al. 1998; Kotzot 2004). Vyšší věk otce byl spojen s vyšším nárůstem strukturních abnormalit (delecí a duplikací) ve spermích. Což by mohlo potenciálně vést k chybné segregaci chromosomů během meiózy a tedy k UPD (Templado et al. 2011).

Mezi možné mechanismy vzniku UPD patří komplementace gamet, monosomy rescue a trisomy rescue. Také postfertilizační chyby v časném embryonálním vývoji mohou způsobit

UPD. S výjimkou postfertilizační chyby, povedou všechny tyto mechanismy k UPD celého chromosomu (Ma et al. 2023).

### 2.2.1 Komplementace gamet

Pokud dojde k oplození oocyta, kterému přebývá chromosom (disomie), spermii s chybějícím chromosomem (nulisomie), může vzniknout UPD komplementací gamet v zygotě (obr. 1). Tato situace může nastat i v případě, kdy je oocyt nulisomický a spermie je disomická. Pokud se spojí disomická spermie s nulisomickým oocytem, nastane po komplementaci gamet paternální iUPD či hUPD. Nastat může také maternální iUPD nebo hUPD, jestliže je disomický oocyt oplozen nulisomickou spermii (Liehr 2014). Disomická gameta obsahuje chromosomový pár, který vznikl v důsledku chybné segregace během meiózy I nebo II.

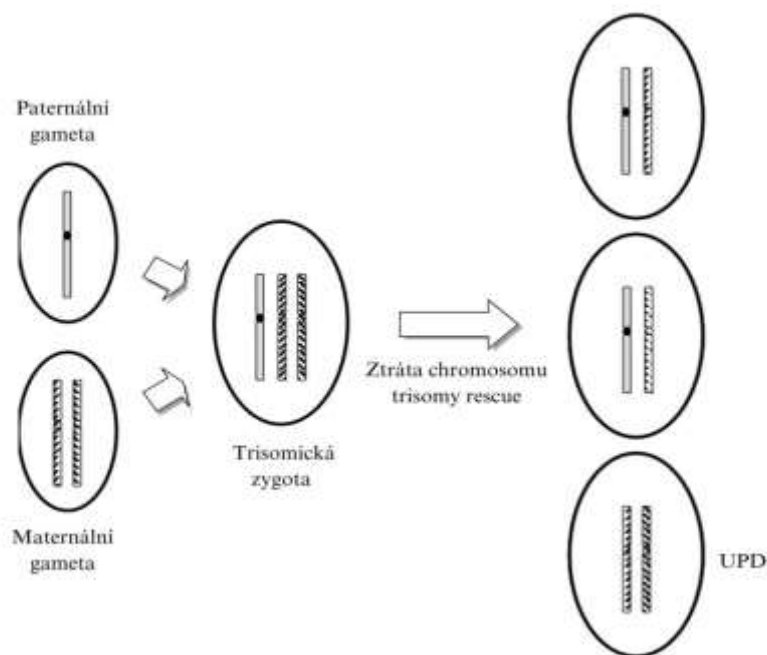


Obrázek 1: Mechanismus komplementace gamet (Antonarakis 2010). Po splynutí disomického oocyta s nulisomickou spermii, vzniká zygota s mUPD. Nedochozí k duplikaci chromosomů, ani k jejich ztrátě.

### 2.2.2 Trisomy rescue

Trisomie je nejčastějším typem chromosomové abnormality, která postihuje 4 % klinicky potvrzených těhotenství (Hassold a Jacobs 1984). Trisomie i monosomie mohou zasáhnout všechny lidské chromosomy. Rané embryo je schopno korigovat numerické chromosomové aberace, a proto mohou být u novorozenců přítomny trisomické mozaiky, malé nadpočetné marker chromosomy („small supernumerary marker chromosome“, sSMC) a/nebo UPD (Handyside et al. 2012). Trisomy rescue, neboli ztráta chromosomu z trisomické zygoty, je nejčastějším mechanismem vzniku uniparentální disomie. Pokud je disomický oocyt, který

vznikl následkem nondisjunkce během mateřské meiózy, oplodněn normální spermií, vytvoří se trisomický zárodek. Embryo se pokusí tuto situaci napravit eliminací jednoho chromosomu, a právě tento proces se nazývá trisomy rescue (obr. 3) (Spence et al. 1988; Engel 1991). Ve dvou ze tří případů získáme normální zygotu (tj. zygotu s chromosomem od matky a druhým od otce), ale ve třetině případů nastane UPD (Antonarakis 2010). Trisomy rescue může vést ke vzniku úplné heterodisomie nebo k částečné isodisomii (Matsubara et al. 2020). Trisomy rescue bylo také pozorováno u mnoha chromosomů společně s mozaicismem a UPD.

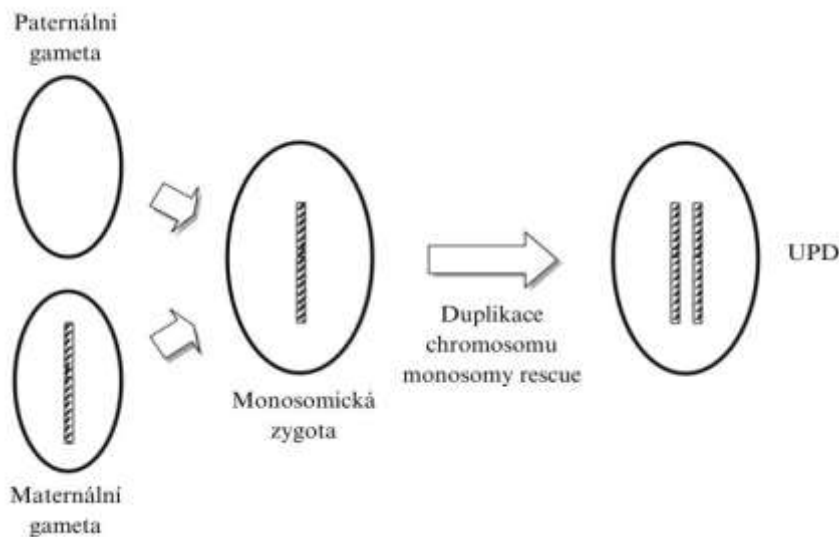


Obrázek 3: Mechanismus trisomy rescue (Antonarakis 2010). Po splynutí monosomické spermie s disomickým oocytem, vzniká trisomická zygotu. Následně dochází k trisomy rescue, neboli k eliminaci jednoho chromosomu. V 1/3 případů nastane UPD.

### 2.2.3 Monosomy rescue

Studie na preimplantačních embryích ukázaly, že monosomie jsou stejně časté jako trisomie. Trisomický zárodek ale přežívá mnohem déle než monosomický, neboť je monosomický zárodek vystaven silnějšímu selekčnímu tlaku. To vedlo ke spekulacím, že kromě trisomy rescue by mohlo mít na lidské potraty vliv i monosomy rescue, jako pokus zachránit vyvíjející se plod před letální abnormalitou (Fritz et al. 2001; Rodriguez-Purata et al. 2015). Duplikace chromosomu z monosomické zygoty, neboli monosomy rescue, je tedy dalším mechanismem vzniku uniparentální disomie. Tato vzácná událost nastane, když během oplození dojde ke splynutí monosomické gamety s gametou nulismickou (obr. 2). Embryo se

poté pokusí napravit situaci pomocí mitotické duplikace, což vede k náhradě chybějícího nebo abnormálního chromosomu. Výsledkem je vždy isodisomie. Monosomy rescue vede nejčastěji k paternální iUPD (Antonarakis 2010).



Obrázek 2: Mechanismus monosomy rescue (Antonarakis 2010). Po splnutí nuliosomické spermie s monosomickým oocytem, vzniká monosomická zygota. Ta následně provede monosomy rescue, neboli zduplikuje chromosom a tím vznikne UPD.

### 2.3 Heterodisomie a isodisomie

Uniparentální disomie obecně vyplývá ze dvou nondisjunkčních událostí. První událost nastává během meiózy a druhá během mitózy. Pokud nondisjunkce nastane během meiózy I, dochází k selhání segregace dvou homologních chromosomů, což může vést k přítomnosti dvou různých homologů od stejného rodiče neboli k heterodisomii. Pokud nondisjunkce nastane během meiózy II, dochází k selhání rozchodu sesterských chromatid do dceřiných buněk, což může vést k isodisomii, tedy situaci, kdy jedinec zdědí dvě identické kopie chromosomu od jednoho z rodičů (Zhang et al. 2021; Del Gaudio et al. 2020). UPD se často vyskytuje jako částečná isodisomie. Částečná iUPD je způsobena nondisjunkcí v meióze I nebo II poté, co došlo ke crossing overu, což má za následek výskyt isodisomie i heterodisomie na témže chromosomovém páru (Nakka et al. 2019). Nejčastěji se vyskytuje maternální heterodisomie, zatímco isodisomie je častěji paternálního původu. Většina nondisjunkcí se totiž vyskytuje u maternální meiózy I, kdy trisomy rescue způsobí vznik maternální heterodisomie a monosomy rescue způsobí vznik paternální isodisomie (Del Gaudio et al. 2020; Koehler et al. 1996).

Jak hUPD, tak iUPD mohou způsobovat onemocnění, pokud ovlivňují gen, který podléhá imprintingu. Isodisomie mohou vést k projevu recesivního onemocnění, v důsledku přenosu recesivní mutace z heterozygotního rodiče na potomka (Engel 1980). Isodisomie může vzniknout i somatickou rekombinací, takto vzniklá isodisomie způsobí zrátu heterozygotnosti. Ta je spojená s některými druhy rakoviny i poruchami genomového imprintingu (Aviv a Aviv 1998).

## 2.4 Mechanismy detekce UPD

Existuje několik metod, díky kterým dokážeme UPD detekovat. Využívají se například molekulárně genetické metody, jako je analýza polymorfismů a analýza mikrosatelitů. Dále je častá analýza metylace DNA a také analýza pomocí SNP čipů. Zmíněné metody mohou být použity samostatně nebo kombinovány.

Technika pomocí SNP čipů neboli čipů pro detekci jednonukleotidových polymorfismů je jednou z nejvíce využívaných metod pro vyšetřování vrozených abnormalit a tedy také UPD. Metoda dokáže detekovat kromě kvantitativních změn genomu, také oblasti homozygotity a tedy pozná, že jde o oblast zděděnou od jednoho rodiče (Yamazawa et al. 2010). Pomocí této metody můžeme rozlišit iUPD od hUPD. Isodisomii lze identifikovat na základě přítomnosti homozygotnosti všech SNP ve studované oblasti. Střídání homozygotních a heterozygotních oblastí na témže chromosomu značí heterodisomii (Altug-Teber et al. 2005). Nejprve dochází k fragmentaci DNA pacienta, ta je následně hybridizovaná k sondám na čipu a pomocí jednonukleotidové extenze je prodlužována o jeden fluorescenčně značený nukleotid. DNA pacienta slouží jako templát, podle kterého se tento nukleotid zařadí na základě komplementarity DNA. Podle fluorescenčního signálu poté zjistíme, jaký SNP je u pacienta přítomný (Stemers et al. 2006).

Další metodou je array CGH+SNP, která kromě detekce kvantitativních změn dokáže detekovat také specifické SNP na vybraných místech. Tato metoda porovnává DNA pacienta s referenční DNA na základě jejich kompetitivní hybridizace k sondám na čipu. Detekce SNP je založena na principu alel-specifické restrikce nebo na principu alel-specifické hybridizace. Princip alel-specifické restrikce je založen na štěpení DNA pomocí restrikčních endonukleáz (RE), které jako své restrikční místo rozpoznají pouze sekvenci obsahující jednu alelu vyšetřovaného SNP (zpravidla se štěpená alela označuje jako B a neštěpená jako A). Pokud RE nerozpoznala místo štěpení, jde o homozygota AA. Pokud místo štěpení rozpoznala, jde o homozygota BB. Heterozygot AB je v případě, kdy RE rozpozná místo štěpení na jedné z alel. Následně je DNA amplifikovaná za použití fluorescenčních nukleotidů a hybridizována

k sondám na čipu. Na základě intenzity fluorescenčního signálu se pozná, zda je v DNA pacienta přítomna pouze štěpená alela (slabý signál), pouze neštěpená alela (silný signál) či obě alely (intermediální signál) (Wiszniewska et al. 2014). Princip al-el-specifické hybridizace je založen na amplifikaci DNA, která je poté hybridizována ke specifickým sondám. Pár sond, které se vyskytují na čipu, můžeme označit jako A a B. Podle toho, na jakou sondu se DNA naváže, můžeme poznat homozygota a heterozygota. Pokud se naváže pouze na sondu A nebo B, jedná se o homozygota (AA nebo BB). Pokud se naváže na obě sondy, jedná se o heterozygota (AB) (Gunderson et al. 2005).

Analýza mikrosatelitů využívá krátké tandemové repetice (STR). Jedná se o krátké sekvence DNA, které se v genomu opakují. Tyto sekvence mohou být mezi jednotlivci variabilní, ale stabilně je jedinec zdědí od rodičů a jsou tedy děděny mendelovským způsobem. Vybrané STR markery jsou amplifikovány pomocí polymerázové řetězcové reakce (PCR) a jejich délka (počet opakování) je měřena na elektroforéze (starší metoda) či sekvenátoru. K určení rodičovského původu detekovaných STR jsou kromě DNA probanda zapotřebí také vzorky DNA od obou rodičů. Tato metoda může odhalit přítomnost STR pouze od jednoho rodiče, což může znamenat UPD. Zároveň je schopna detekovat, zda od jednoho rodiče zdědil proband dvě kopie DNA s totožným STR markerem (iUPD) či dva různé lokusy (hUPD) (Del Gaudio et al. 2020; Alford et al. 1994).

Poruchy metylace nebo abnormální projev spojen s imprintingem můžeme identifikovat pomocí MS-MLPA a MS-PCR. Tyto testy jsou navrženy tak, aby rozlišily normální metylační profil DMRs (odlišně metylované oblasti) na zkoumaném chromosomu, od abnormálního profilu. Touto metodou lze rozeznat pUPD a mUPD, jelikož DMRs mají odlišný metylační stav na maternálním a paternálním homologu. Technika MS-MLPA detekuje nejen změny počtu kopií sekvencí DNA, ale také změny metylačního stavu v CpG ostrůvcích. K extrahované DNA je přidána sonda MS-MLPA, která obsahuje místo rozpoznávané restrikční endonukleázou Hhal. K rozštěpení DNA a sondy dochází pouze tehdy, pokud je CpG oblast nemetylovaná. Následně je produkt amplifikován pomocí PCR a je vyhodnoceno množství produktu amplifikace. Pokud byla sonda s DNA v prvním kroku rozštěpena, nebude z této kopie vyšetřovaného místa přítomen amplifikační produkt (Nygren et al. 2005). Metoda využívající sondu MS-PCR na rozdíl od MS-MLPA, rozpoznává metylované oblasti CpG bez pomoci restrikčních endonukleáz (Herman et al. 1996). Sonda MS-PCR je hybridizována s DNA ošetřenou hydrogensířičitanem sodným a dojde k bisulfitové konverzi nemetylovaných cytosinů na uracily. Amplifikace (metodou PCR) se účastní primery, které jsou specifické

pro metylované (obsahující C) a nemetylované oblasti (obsahující U), což umožňuje rozlišení mezi paternálními a maternálními alelami (White et al. 2006).

### 3. Genomový imprinting

Genomový imprinting je definován jako reverzibilní proces, při němž míra exprese některého z genů závisí na tom, od kterého rodiče byl tento gen zděděn (King et al. 2006). Paternální imprinting tedy znamená, že alela zděděná od otce je umlčena, zatímco maternální alela je funkční. Maternální imprinting pak znamená obrácenou situaci. Helen Crouse roku 1960 poprvé použila pojem imprinting, avšak mechanismus imprintingu byl objeven až později, roku 1984 (Crouse 1960). Dvě skupiny vědců, nezávisle na sobě, vytvořili embrya, která obsahovala dvě sady chromosomů zděděné od téhož rodiče. Defektní vývoj embryí ukázal, že pro normální vývoj je zapotřebí jedna sada chromosomů od každého rodiče. Genomický imprinting působí v gametách tak, že „označí“ geny na maternálních a paternálních chromosomech, aby byla po oplození zajištěna specifická parentální exprese (McGrath a Solter 1984; Surani et al. 1984) Roku 1991 byl u myši popsán první imprintovaný gen. Jednalo se o maternálně imprintovaný gen pro *Igf2r* (receptor pro inzulinu podobný růstový faktor 2) (Barlow et al. 1991). Roku 1992 byl popsán první imprintovaný gen u člověka. Jednalo se o gen *H19*, což je gen pro lncRNA (long non-coding RNA) (Zhang a Tycko 1992). Podle databáze imprintovaných genů je v současné době u člověka popsáno přes 100 imprintovaných genů (Geneimprint 2024).

Imprinting genů je mechanismem regulace genové exprese, který hraje důležitou roli v prenatalním i postnatalním vývoji člověka a dalších savců. Narušení tohoto regulačního mechanismu může vést k závažným lidským patologiím včetně nádorových onemocnění (Polívková 2005). Je známo, že v savcích diploidních buňkách jsou exprimovány jak otcovské, tak mateřské alely (bialelická exprese). Avšak u části našich genů je exprimována pouze jedna ze dvou alel – druhá alela je tedy umlčena neboli imprintována (monoalelická exprese) (Strachan et al. 2015). Imprintované geny se obvykle vyskytují ve shlucích (klastrech). V blízkosti klastrů se nacházejí centra řídicí imprinting (imprinting control regions – ICRs), která řídí epigenetické modifikace spojené s imprintingem. ICRs zdědí specifické metylační značky, buď z oocyty, nebo ze spermie, které se přenáší do další generace (Butz et al. 2022). Jedná se o epigenetickou modifikaci, tudíž genomový imprinting nespadá do klasické mendelovské dědičnosti (Kingston 2002).



Evoluční původ imprintingu zůstává předmětem výzkumu a debat, avšak bylo navrženo několik hypotéz, které vysvětlují možný vývoj. Mezi hypotézy patří: hypotéza rodičovského konfliktu, hypotéza konfliktu mezi matkou a plodem a teorie příbuzenství (Haig 2000).

### 3.1 Princip imprintingu

U savců je hlavním mechanismem imprintingu metylace DNA v promotorech několika desítek genů, ke které dochází během gametogeneze. Methylace DNA byla poprvé objevena v telecím brzlíku roku 1948 (Hotchkiss 1948). Imprintovaná alela je metylovaná, zatímco aktivní alela je nemetylovaná. Při gametogenezi nejprve dochází k odstranění původní rodičovské značky. Poté dochází ke vzniku nové značky, podle pohlaví příslušného jedince – paternální (při spermatogenezi) či maternální (při oogenezi). Imprinting přechází s gametou do potomstva, kde se kombinuje s informací od druhé gamety (Vyskot 2010). Existují oblasti, které vykazují odlišné úrovně metylace napříč jedinci, tkáněmi i vývojovými stádii. Tyto genomové oblasti se nazývají DMRs („differentially methylated regions“) (Stöger et al. 1993). Pomocí DNA metyltransferáz dochází k přenosu metylové skupiny (CH<sub>3</sub>) z S-adenosyl-L-metioninu (SAM) na cytosin v dinukleotidech CpG (cytosin-fosfát-guanin) (Wu a Santi 1987). Mezi enzymy, které regulují DNA metylaci, patří následující DNA metyltransferázy: Dnmt1, Dnmt3a a Dnmt3b (Cheng a Blumenthal 2008; Yoder a Bestor 1998). Dnmt1 je označována jako udržovací metyltransferáza. Je zodpovědná za kopírování existujících metylačních značek na nově syntetizovanou DNA během replikace. Přednostně metyluje hemimetylovanou DNA, čímž zajistí, že je metylační značka zachována během buněčného dělení (Bestor 1992). Jakmile se enzym Dnmt1 naváže na hemimetylovaná místa CpG, přenesou metylovou skupinu ze SAM na nemetylovaný cytosin na nově syntetizovaném řetězci DNA. To má za následek zachování metylačních značek napříč replikací DNA (Goyal et al. 2006). Na rozdíl od Dnmt1 se Dnmt3a se svým paralogem Dnmt3b podílí na *de novo* metylaci. Dnmt3a i Dnmt3b hrají klíčovou roli v raném embryonálním vývoji (Robertson et al. 1999). Jakmile enzymy Dnmt3 rozpoznají specifické genomové oblasti, navážou se na DNA. Na rozdíl od Dnmt1 nepreferují hemimetylovanou DNA. Mohou metylovat nemetylovaná místa CpG, stejně jako hemimetylovaná (Okano et al. 1998). Dnmt3 také katalyzují přenos metylové skupiny ze SAM na cytosin, což vede k tvorbě 5-metylcytosinu (5mC). Vzniklý 5mC je stabilní, a proto tyto metylované cytosiny mohou sloužit jako substráty pro Dnmt1 během replikace (Gowher a Jeltsch 2001).

Cyklus genomového imprintingu se skládá ze tří hlavních kroků: vznik značky, udržení značky a odstranění značky. Proces imprintingu začíná během gametogeneze, kdy DNA

podstupuje epigenetické modifikace včetně DNA metylace a dochází k označení určitých genů, zda pocházejí od matky nebo od otce. Po oplození je otisk původního rodiče udržován (Nussbaum et al. 2016). Ve stádiu časného embrya dochází k velkému epigenetickému přeprogramování. Vajíčka a spermie mají odlišné vzorce metylace DNA. Jakmile spermie oplodní vajíčko, začne genom spermie podléhat aktivní demethylaci DNA. Po splynutí samčího a samičího pronukleu začíná demethylace zygoty, která pokračuje až do časného stádia blastuly v preimplantačním embryu. Následně dochází k vlně remethylace, což dává vzniknout různým buněčným liniím (Monk et al. 1987; Strachan et al. 2015).

#### **4. Abnormální fenotypy spojené s UPD**

Uniparentální disomie nemusí mít sama o sobě žádný klinický následek. Avšak abnormální fenotyp UPD může být výsledkem odhalení recesivní poruchy. Pokud chromosom zděděný uniparentálním mechanismem nese autozomálně recesivní genovou mutaci, bude dítě postiženým homozygotem. Riziko výskytu poruchy u sourozenců je extrémně nízké, protože je velmi nepravděpodobné, že by se UPD znovu objevila v dalším těhotenství (Kingston 2002; Blouin et al. 1993).

Přítomnost UPD může být také spojena s projevy genomového imprintingu. V současné době bylo popsáno několik mUPD a pUPD, které přispívají k širokému spektru poruch vzniklých na podkladě přítomnosti dvou imprintingem umlčených lokusů. Vliv imprintingu byl popsán na paternálních chromosomech 6, 11, 14, 15 a 20 a maternálních chromosomech 7, 11, 14, 15 a 20. Avšak u některých chromosomů (např. chromosom 2, 6 a 16) se diskutuje o tom, zda opravdu dochází k fenotypovým účinkům v důsledku imprintingu (Tab. 1) (Bu et al. 2023; Gogiel et al. 2013). Genomický imprinting ovlivňuje růst, chování a životaschopnost jedince. Nejčastějším projevem jsou poruchy růstu; paternálně exprimované geny často zesilují růst, zatímco mnoho maternálně exprimovaných genů růst naopak omezuje (Reik a Walter 2001).

Mezi nejčastější syndromy způsobené UPD patří Angelmanův syndrom (AS) a Praderův-Williho syndrom (PWS), oba způsobeny UPD chromosomu 15, Beckwithův-Wiedemannův syndrom (BWS) způsobený UPD chromosomu 11 a Silverův-Russellův syndrom (SRS) způsobený UPD chromosomu 11 nebo 7, dále Templové syndrom (TS) a Kagamové-Ogatův syndrom (KOS), oba způsobené UPD chromosomu 14 (Benlian et al. 1996).

Následující tabulka (Tab. 1) znázorňuje všechny chromosomy a syndromy, které mohou být způsobeny UPD. Za pomoci internetové stránky OMIM (OMIM 2024), byly ke každému syndromu přiřazeny kauzální geny a fenotyp, který je se syndromem spojený.

Chromosom	matUPD	Lokace	Kauzální geny	OMIM	Fenotyp	patUPD	Lokace	Kauzální geny	OMIM	Fenotyp
1										
2	UPD(2)mat	Chromosom 2	Žádný identifikovaný		IUGR, hypospadie, opožděný vývoj					
3										
4										
5										
6	UPD(6)mat	6p21.33	Žádný identifikovaný		IUGR, předčasný porod	Novorozenecký diabetes mellitus	6q24	<i>PLAGL1, HYMA1</i>	601410	IUGR, hyperglykemie, macroglosie, hypotonie
7	Silverův-Russellův syndrom	7p11.2	<i>H19, IGF2</i>	618905	IUGR/PNGR, hemihypertrofie, obličej trojúhelníkovitého tvaru					
8										
9										
10										
11	Silverův-Russellův syndrom	11p15	<i>H19, IGF2</i>	180860	IUGR/PNGR, hemihypertrofie, obličej trojúhelníkovitého tvaru	Beckwithův-Wiedemannův syndrom	11p15	<i>CDKN1C, H19, IGF2, KCNQ1OT1</i>	130650	Makrosomie, makroglosie, organomegalie, novorozenecká hypoglykemie
12										
13										
14	Templové syndrom	14q32	<i>DLK1, GTL2</i>	616222	IUGR/PNGR, novorozenecká hypotonie, skolioza, malé nohy a ruce	Kagamové-Ogahův syndrom	14q32	<i>DLK1, RTL1</i>	608149	IUGR, polyhydramnion, makrosomie, defekty břišní stěny, skeletální abnormality
15	Praderův-Williho syndrom	15q11-q13	<i>MKRN3, MAGEL2, NDN, SNRPN</i>	176270	PNGR, novorozenecká hypotonie, hypogonadismus, hyperfágie, mentální zaostalost	Angelmanův syndrom	15q11-q13	<i>UBE3A</i>	105830	Mentální zaostalost, mikrocefalie, nekontrolovaný smích, ataxie, skolioza
16	UPD(16)mat	Chromosom 16	Žádný identifikovaný		IUGR, vrozené vývojové vady					
17										
18										
19										
20	Mulchandaniově-Bhojově-Cordinové syndrom	20q11-q13	<i>KAT6A</i>	617352	IUGR/PNGR, potíže s kmením	Pseudohypoparathyreoidismus	20q13.32	<i>GNAS</i>	103580	Rezistence vůči paratyroidnímu hormonu, hypokalcemie, hyperfosfatemie, abnormální růst
21										
22										
X										
Y										

Tabulka 1: Nejčastější syndromy způsobené UPD

Na základě databáze prof. Thomase Liehra (ChromoSomics 2024) jsem vytvořila tabulku (Tab. 2), ve které jsou sečteny případy UPD u všech chromosomů. Profesor Liehr vychází z publikací, které mají tendenci publikovat spíše patologie než normální nálezy, proto lze čekat, že počty zdravých jedinců (bez fenotypového projevu) budou podhodnoceny oproti běžné populaci. U každého chromosomu jsem sečetla případy s jasnou nebo nejasnou korelací s normálním i balancovaným karyotypem a také případy UPD bez klinického projevu. V součtu jsem zahrнула i případy s mozaikou. Výsledné číslo mUPD a pUPD jsem dále rozdělila do tří skupin podle toho, jestli je přítomnost UPD spojena s normálním fenotypem, nebo jestli je fenotyp zapříčiněn přítomností mutace (UPD+mutovaný gen) v nějakém genu, nebo je na vině imprinting (UPD+imprinting). V tabulce jsou také zahrnuty případy s UPD, u kterých není

známá jasná příčina fenotypu. V tomto sloupci jsou zahrnuti jedinci s vývojovým opožděním nebo neuropsychiatrickým onemocněním, což je tak heterogenní skupina, že nemůžeme vyloučit ani potvrdit souvislost s UPD. Na projev mohlo mít vliv například prostředí, mutace jinde v genomu či souhra vícero faktorů, nikoliv UPD

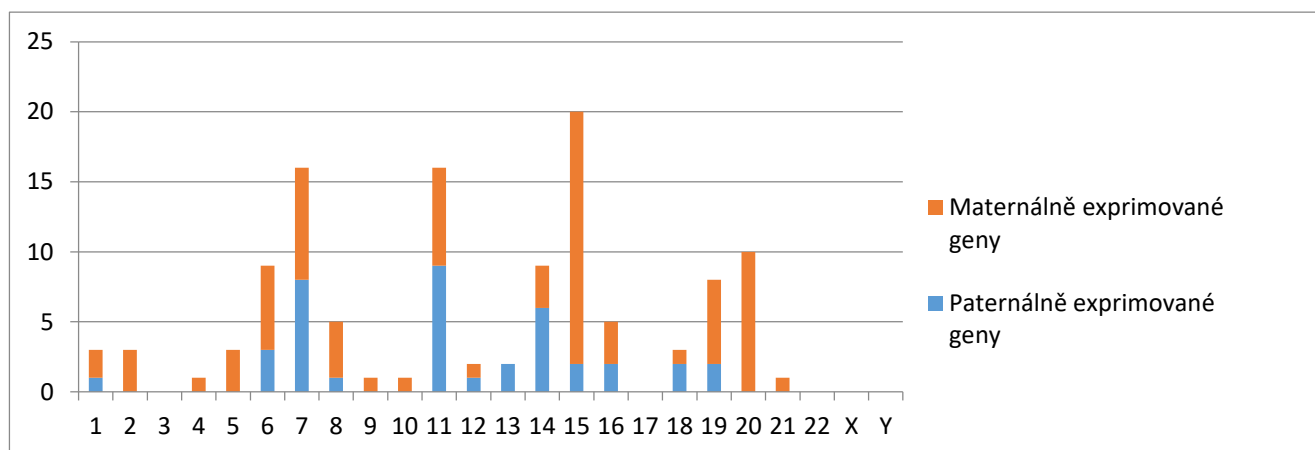
Na základě tabulky nám vychází, že chromosomy 6, 7, 11, 14, 15 a 20 opravdu způsobují klinické projevy na podkladu UPD resp. imprintingu. Mezi chromosomy, které můžeme označit jako “bezpečné“ patří: 1, 17, 18, 19, 21, 22, X, Y. Zbývající chromosomy 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 13 a 16, jsou spojeny s projevy, které vznikají zejména v důsledku mutací. Jde o homozygotní mutace v genech ležících na chromosomu zasaženém UPD. Tedy i přesto, že samotné UPD zde na vině není, sehrálo zásadní roli tím, že způsobilo přítomnost homozygotního regionu s patogenní mutací. Při tvorbě tabulky jsem narazila na několik případů, kdy se u chromosomů, které nejsou spojeny s imprintingem, vyskytují případy, kdy je jedinec postižen syndromem. Konkrétně jsou to chromosomy 4, 9 a 10 (u všech případů se jednalo o patUPD). U chromosomů 4 a 10, byl popsán případ jedince s KOS a dalšími UPD na jiných chromosomech. Jedinec s UPD(9)pat vykazoval SRS. Další výjimka se nachází na UPD(7)pat, kde je jeden jedinec, který vykazuje SRS, i přesto že je tento syndrom spojen s UPD(7)mat. U chromosomů 6, 7, 11, 14 a 15 bylo nalezeno několik případů, u kterých se vyskytoval syndrom spojený s imprintingem, a spolu s ním byla nalezena také mutace v nějakém genu.

Na níže přiloženém grafu (Graf 1) lze vidět, že se UPD spojená s imprintingem týká nejvíce chromosomů, které obsahují nejvíce imprintovaných genů. Tento graf byl vytvořen na základě databáze imprintovaných genů (Geneimprint 2024).

Ve své bakalářské práci jsem si jako modelový příklad vybrala chromosom 15 a s ním spojené syndromy, kterým jsem věnovala samostatné kapitoly.

Chromosom	Celkový počet případů		UPD s normálním fenotypem		UPD+imprinting		UPD+mutovaný gen		UPD s fenotypem bez přesné příčiny	
	mat	pat	mat	pat	mat	pat	mat	pat	mat	pat
1	30	44	1	4	0	0	27	34	2	6
2	38	35	4	5	0	0	24	23	10	7
3	10	5	0	2	0	0	7	3	3	0
4	18	7	2	0	0	1	15	2	1	4
5	6	7	0	0	0	0	5	6	1	1
6	22	109	1	0	0	103	9	3	12	3
7	371	10	0	0	351	1	17	7	3	2
8	8	10	1	1	0	0	5	7	2	2
9	14	5	1	0	0	1	6	2	7	2
10	7	5	0	0	0	1	5	4	2	0
11	5	627	0	0	5	616	1	7	0	4
12	3	4	0	0	0	0	3	4	0	0
13	10	7	3	3	0	0	6	2	1	2
14	94	82	0	0	85	81	5	0	4	1
15	1912	213	0	0	1901	209	5	3	6	1
16	42	12	0	1	0	0	24	10	18	1
17	6	2	0	0	0	0	4	2	2	0
18	0	4	0	1	0	0	0	2	0	1
19	0	2	0	0	0	0	0	1	0	1
20	23	14	0	0	14	13	0	1	9	0
21	11	6	6	3	0	0	1	1	4	2
22	15	7	5	2	0	0	6	3	4	2
X	4	6	0	2	0	0	3	2	1	2
Y	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabulka 2: Celkový počet případů s UPD. Sestaveno na základě databáze prof. Thomase Liehra (ChromoSomics 2024).



Graf 1: Aktuální počet imprintovaných genů na jednotlivých chromosomech (Geneimprint 2024).

#### 4.1 Praderův-Williho syndrom

Praderův-Williho syndrom (PWS) je neurovývojové genetické onemocnění zahrnující četné kognitivní, behaviorální a endokrinní abnormality (Pacoricona Alfaro et al. 2019). Lékaři Prader, Labhart a Willi poprvé popsali tento syndrom roku 1956. Až v pozdějších letech byl spojen s delecí proximální části dlouhého raménka chromosomu 15 (15q11-q13) (Prader et al. 1956; Ledbetter et al. 1981).

PWS postihuje muže i ženy a vyskytuje se ve všech etnických skupinách a geografických oblastech světa. Výskyt se odhaduje na 1 z 10 000 až 30 000 živě narozených dětí a asi 350 000 až 400 000 jedinců na celém světě (Cassidy a Driscoll 2009). Častými příčinami úmrtí u dospělých s tímto syndromem jsou srdeční selhání v důsledku hypertrofie pravé komory

srdeční, a respirační selhání. Obě úzce souvisí s obezitou, která je u těchto pacientů často přítomna v důsledku hyperfágie. V dětství je náhlá smrt spojena s akutním respiračním selháním a/nebo vysokou horečkou (Vogels et al. 2004).

Příčinou Praderova-Williho syndromu je ze 70 % delece v oblasti 15q11.2, za 25 – 30 % případů může UPD(15)mat a přibližně u 5 % pacientů byla zjištěna porucha v důsledku mutace nebo delece centra imprintingu (Greggi et al. 2010).

#### 4.1.1 Genetické příčiny

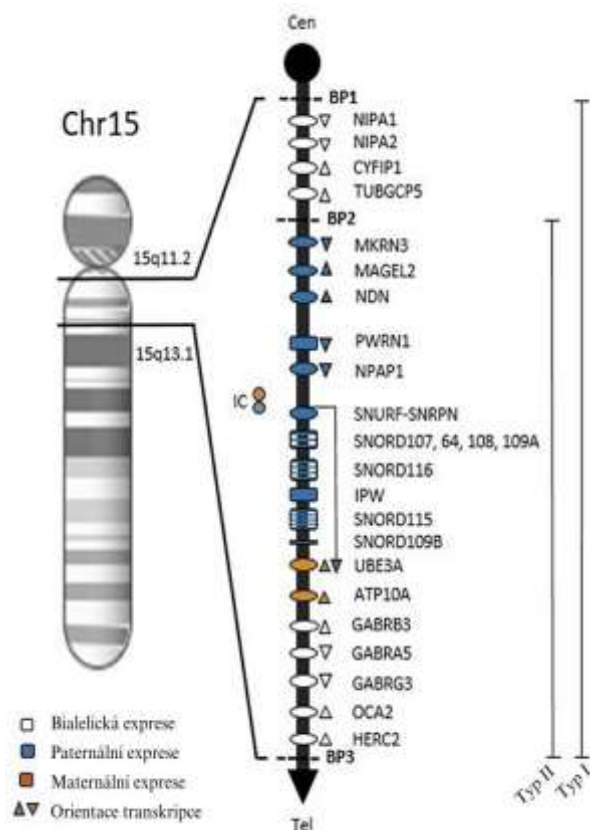
Genetický defekt u PWS je způsoben nedostatečnou expresí paternálně exprimovaných genů v chromosomální oblasti 15q11-q13. Jedná se o geny *MKRN3*, *MAGEL2*, *NDN*, *SNURF-SNRPN* (Kanber et al. 2009). Na maternálním chromosomu 15 jsou tyto geny epigeneticky umlčeny a nejsou tedy exprimovány. Mezi geny, které jsou v této oblasti exprimovány maternálně patří gen *UBE3A* a *ATP10C*.

Nejčastější příčinou PWS je *de novo* vzniklá delece v oblasti chromosomu 15q11-q13 na paternálním chromosomu. Delece byly klasifikovány do dvou typů, typ I a typ II, v závislosti na velikosti a pozici zlomových míst na chromosomu. Větší aberace patří mezi delece typu I, které zahrnují zlomové místo BP1 (breakpoint 1) v blízkosti centromery a zlomové místo BP3 vyskytující se distálně. Mezi delece typu II patří aberace menšího rozsahu (BP2 – BP3), zlomové místo BP2 se vyskytuje přibližně 500 kb distálně od BP1. V intervalu mezi BP1 a BP2 se vyskytují čtyři neimprintované geny (*NIPAI*, *NIPA2*, *CYFIP1* a *GCP5*), které mohou mít roli ve ztížení závažnosti fenotypu u pacientů s PWS i AS (Chai et al. 2003). V intervalu mezi BP2 a BP3 se vyskytují geny *SNRPN* a *UBE3A* a centrum imprintingu (Sahoo et al. 2006). Studie ukázaly, že pacienti s delecí typu I mají více klinických problémů, jako jsou obsedantně kompulzivní porucha, sebepoškozování a horší studijní výsledky než pacienti s delecí typu II. Obecně mají tito jedinci více behaviorálních a psychologických problémů než jedinci s delecí typu II nebo UPD (Bittel et al. 2006; Butler et al. 2009).

Druhou nejčastější příčinou vzniku PWS je maternální UPD chromosomu 15. Ve většině případů se jedná o maternální heterodisomii, ale mohou se vyskytnout i případy s maternální isodisomií nebo částečnou isodisomií (G. Butler et al. 2016). Předpokládá se, že mUPD je nejčastěji výsledkem meiotické nondisjunkce, která vede k trisomii chromosomu 15. Po oplození dochází k mechanismu trisomy rescue, přičemž je paternální chromosom vyřazen, aby vznikl životaschopný plod (Whittington 2001).

Kritická genomová oblast PWS obsahuje několik paternálně i maternálně exprimovaných genů a také geny exprimované z obou alel (Obr. 4). Obsahuje geny kódující proteiny, geny

pro malé jadéřkové RNA (snoRNA) a shluk genů piRNA (Piwi-interagující RNA) (Yazdi et al. 2013). Tyto nekódující molekuly RNA jsou dlouhé 24 – 32 nukleotidů. Interagují s proteiny Piwi a zajišťují správný vývoj zárodečných buněk a plodnost (Homolka et al. 2015). Identita a počet genů zapojených do etiologie PWS však nejsou známy. Nejlépe charakterizovaný z nich je gen *SNRPN* (small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N) a jeho bicistronní partner *SNURF* (*SNRPN* upstream reading frame). Gen *SNRPN* kóduje proteiny, konkrétně SmN, přítomné ve spliceosomu, které hrají roli při sestřihu pre-mRNA. Úloha genu *SNURF* není dosud známá, ale předpokládá se, že jeho ztráta může vést ke špatnému prospívání novorozenců s PWS (Glenn et al. 1996; Gray et al. 1999). Promotorová oblast *SNRPN* je nemetylovaná na paternálně exprimované alele a metylovaná na maternální potlačené alele (Cassidy a Driscoll 2009). Geny snoRNA lokalizované ve velkých transkriptech *SNURF-SNRPN* jsou přítomné nejen v jedné kopii (*SNORD64*, *SNORD107*, *SNORD108*, *SNORD109A* a *SNORD109B*), ale i ve více kopiích (*SNORD115*, *SNORD116*). *SNURF-SNRPN* byl dlouho spojován s fenotypovým projevem PWS. Ukázalo se, že absence genu *SNORD116* má hlavní podíl na projevu PWS (Anderlid et al. 2014; Costa et al. 2019).



Obrázek 4: Geny chromosomové oblasti 15q11-q13. Symboly: ovály značí protein kódující geny, obdélníky značí RNA geny. Znárodnění zlomů (BP1, BP2, BP3). Modře jsou zbarvené paternálně exprimované geny, žlutě maternálně exprimované geny. Rozsah delecí typu I a II. Zkratky: Cen- centromera, Tel- telomera, IC- centrum imprintingu. Převzato a upraveno z (Costa et al. 2019).

#### 4.1.2 Klinické znaky

PWS je spojen se souhrou symptomů, které negativně ovlivňují kvalitu života postižených jedinců a jejich rodin. Většinu klinických příznaků syndromů má na svědomí dysfunkce hypotalamu (Crinò et al. 2003). Kojenci a mladší děti vykazují méně příznaků než starší děti a dospělí (Holm et al. 1993). Mezi hlavní znaky syndromu patří hypotonie, hypogonadismus a hyperfágie, neboli extrémní přejídání. Jedinci s PWS jsou typicky malí, obézní, mají malé ruce a nohy. Mezi charakteristické rysy obličeje patří široké čelo, oči mandlového tvaru, široký kořen nosu a úzký horní ret se svěšenými koutky (obr. 5). Tyto rysy mohou, ale nemusí být patrné již při narození (Butler et al. 2011). Postižení jedinci se také často potýkají s poruchami spánku. Časté je také vývojové opoždění, včetně postižení intelektu, vad řeči a artikulace. Charakteristické chování zahrnuje záchvaty vzteku, obsedantně kompulzivní stavy a autistické rysy (Greggi et al. 2010; Boer et al. 2002).



Rozvoj PWS můžeme rozdělit do dvou klinických stádií. Nejspívání po narození představuje první fázi a hyperfágie s nástupem obezity představují fázi druhou (Miller et al. 2011). První fáze je charakterizována výskytem hypotonie u kojenců s velmi nízkým svalovým tonem. Pro děti je také typický slabý pláč a špatný sací reflex. Jak děti rostou, síla a svalový tonus se výrazně zlepšují. Přestože mají pacienti v raných stádiích života problémy s krmením, mají v pozdějších stádiích tendenci stát se obézními (Bohonowych et al. 2019). Neregulovaná chuť k jídlu (hyperfágie) a snadné přibírání na váze je charakteristické pro druhou fázi. Tyto rysy se nejčastěji objevují v rozmezí tří až osmi let věku, ale nástup a intenzita se liší. Jedinci se přejídají, protože postrádají normální znaky sytosti (G. Butler et al. 2016).



Obrázek 5: Klasický obličejový fenotyp PWS v adolescenci a dospělosti, (a) 15letý muž, (b) 41letá žena (Cassidy a Driscoll 2009).

### 4.1.3 Léčba

V současné době neexistuje žádný příčinný lék na PWS, avšak život postižených jedinců lze zlepšit včasnou diagnózou a léčbou příznaků. V kojeneckém věku by měl být hlavní důraz kladen na zajištění dostatečné výživy a růstu (Goldstone et al. 2008). V průběhu života se jedincům s PWS zvyšuje apetit, je tedy nutné kontrolovat příjem kalorií a zajistit dostatečný pohyb (Goelz 2006).

Velmi oblíbená možnost léčby je pomocí růstového hormonu. Terapie je účinná při zlepšování tělesné stavby, zvyšování hustoty kostních minerálů, zlepšování vytrvalosti při cvičení a celkově pozitivně ovlivňuje kvalitu života (Deal et al. 2013). Vědci se také zabývají možnou léčbou hypogonadismu pomocí hormonální substituční terapie. Pro dívky to znamená léčbu estrogenem a pro chlapce testosteronem (Kido et al. 2013; Siemensma et al. 2012).

## 4.2 Angelmanův syndrom

Angelmanův syndrom (AS) je způsoben různými molekulárními mechanismy, které nakonec vedou ke ztrátě funkce mateřského genu *UBE3A* v chromosomové oblasti 15q11-q13 (Matsuura et al. 1997). Syndrom byl poprvé popsán roku 1965 anglickým lékařem Harrym Angelmanem. Ten měl ve své péči tři děti s podobnými příznaky – vývojové problémy, epileptické záchvaty a charakteristické chování. Angelman nazval tyto děti “šťastnými loutkami“ kvůli jejich stálému úsměvu, smíchu a trhavé chůzi (Angelman 1965). Syndrom se vyznačuje poruchami rovnováhy, koordinace, těžkou intelektovou deficiencí, absencí řeči a poruchami spánku (Williams et al. 2006).

Výskyt Angelmanova syndromu se pohybuje v rozmezí od 1 z 20 000 do 1 z 12 000 živě narozených dětí. AS byl diagnostikován u jedinců všech etnik a postihuje muže i ženy (Buiting et al. 2015). AS může vzniknout několika způsoby. Nejčastější příčinou je delece na maternálním chromosomu, která představuje 70 % případů. Za 3 – 5 % případů je zodpovědná UPD(15)pat. Zbýlá procenta jsou způsobena defektem imprintingu nebo mutací genu *UBE3A* (Moncla et al. 1999).

### 4.2.1 Genetické příčiny

AS je primárně způsoben absencí produktu genu *UBE3A*. Tento gen poskytuje informace pro tvorbu ubikvitin protein ligázy E3A, která se podílí na ubikvitinilaci proteinů určených k degradaci (Kishino et al. 1997; Matsuura et al. 1997).

Variabilita charakteristického klinického projevu AS souvisí s mechanismem, kterým došlo ke ztrátě funkce *UBE3A*. Ukázalo se, že pacienti s pUPD mají mírnější fenotyp než pacienti s delecí v oblasti 15q11-q13. Vědci poukázali na to, že jedinci s pUPD mají lepší fyzický růst, menší pravděpodobnost mikrocefalie, méně pohybových abnormalit, slabší ataxie a nižší prevalenci (ale ne absenci) epileptických záchvatů ve srovnání s jinými příčinami AS (Bottani et al. 1994; Freeman et al. 1993; Gillissen-Kaesbach et al. 1995; Smith et al. 1997). U dětí s pUPD je také častý nárůst porodní hmotnosti a délky. Objevilo se také hyperfágní chování, které je typické pro PWS (Mertz et al. 2014). Toto chování je příkladem teorie rodičovského konfliktu. Ta je založena na myšlence, že otec chce zajistit, aby jeho potomci dosáhli maximální velikosti, která by jim zajistila úspěšné přežití, což umožní předat tyto vlastnosti do další generace, zatímco matka se chce dále rozmnožovat, a tedy omezit vyčerpávání zdrojů, což může mít nepříznivé účinky na její zdraví (Moore a Haig 1991).

V části o PWS již bylo zmíněno, že delece můžeme rozdělit na dva typy, což platí také pro AS. Delece vedou k nejzávažnějším fenotypovým projevům syndromu. Pacienti jsou

postižení mikrocefalií, epileptickými záchvaty, motorickými obtížemi a poruchou řeči. U pacientů s rozsáhlou delecí je pravděpodobnější, že budou vykazovat hypopigmentaci. Zdá se, že jedinci s delecí typu I častěji splňují kritéria pro autismus, mají nižší vývojové skóre a nižší verbální dovednosti než jedinci s delecí typu II (Sahoo et al. 2006). Zdá se, že závažnější symptomy může mít na svědomí také haploinsuficience genů *GABA* (*GABRB3*, *GABRA5* a *GABRG3*), které sousedí s genem *UBE3A* (Dagli et al. 2011). Větší i menší delece také mohou způsobit haploinsuficenci genu *OCA2*, což vede k hypopigmentovaným duhovkám, kůži a vlasům. Gen *OCA2* hraje roli v metabolismu tyrosinu (Saitoh et al. 2000). Také delece maternálně exprimovaného genu *ATP10* se může podílet na fenotypovém projevu AS (Meguro et al. 2001).

Ve 3 – 5 % případů dochází k defektu imprintingu, což vede ke změně exprese maternálně zděděného genu *UBE3A*. Mutace přímo v genu *UBE3A* se vyskytuje v 5 až 11 % případů. Pacienti s touto mutací spadají někde mezi pacienty ze skupiny s delecí a UPD. Často trpí záchvaty a mikrocefalií, ale hypopigmentace nebyla detekována (Moncla et al. 1999). Ve srovnání s pacienty s delecí formou AS vykazují pacienti s defektem imprintingu lepší růst a komunikační dovednosti (Ohta et al. 1999).

#### 4.2.2 Klinické znaky

Mezi charakteristické rysy obličeje patří hluboko posazené oči, špičatá brada, makrostomie neboli nadměrně velká ústa a brachycefalie (obr. 7) (Williams et al. 2010). Osoby s AS jsou velmi společenské, mají rády vodu a jakékoliv předměty vydávající zvuk nebo vyzařující světlo, je pro ně charakteristický častý usměv a smích (Tan et al. 2011). Někteří autoři stojí za názorem, že smích u jedinců s AS není spojen s žádnou emocionální změnou a vyskytuje se nezávisle na okolnostech (Williams et al. 1982). Jiní ale uvádí, že smích se vyskytuje v závislosti na situaci a prostředí, kde se jedinec nachází (Kibel a Burness 1973; Dooley et al. 1981; Clayton-Smith a Pembrey 1992). S přibývajícím věkem může být smích méně častý (Buntinx et al. 1995).

Děti s AS při narození obvykle nevykazují žádný abnormální fenotyp. Trhavé pohyby jsou patrné během prvních měsíců života a motorické zpoždění je zřejmé od devíti měsíců věku. Záchvaty začínají kolem druhého roku života a jsou problémem až do sedmi nebo osmi let, kdy se sníží jejich frekvence a mohou také úplně ustát. V dětství je běžná hyperaktivita a také poruchy spánku, se zvyšujícím se věkem se však tyto problémy zlepšují (Clayton-Smith a Pembrey 1992). Se syndromem je také spojena porucha řeči. Děti a kojenci méně často pláčou a nevydávají skoro žádné zvuky. Mnoho dětí se vyjadřuje neverbálně pomocí jednoduchých

gest. Hůře s komunikací jsou na tom jedinci s těžkými záchvaty nebo silnou hyperaktivitou (Williams et al. 1995).

### **4.2.3 Léčba**

Angelmanův syndrom je neléčitelný, existují však metody, které mohou projevy tohoto syndromu zmírnit. Léčba symptomů zahrnuje například podávání antiepileptik (např. kyselina valproová) (Thibert et al. 2009). Doporučuje se také cvičení, které pomáhá s držením těla, rovnováhou a problémy s chůzí. Cvičení je také využíváno, jako prevence proti obezitě (Williams et al. 2010). Problémy s komunikací jsou řešeny pomocí různých komunikačních pomůcek, jako jsou například obrázkové karty, nebo znakovou řečí (Jolleff a Ryan 1993).

## 5. Závěr

Závěrem lze konstatovat, že uniparentální disomie představuje zajímavý a důležitý genetický fenomén, který má značný vliv na lidské zdraví a genetickou stabilitu. V některých případech může uniparentální disomie způsobit zdravotní problémy. Abnormální fenotypy jsou v současné době popsány u chromosomů 6, 7, 11, 14, 15 a 20. Avšak při tvorbě této práce a procházení databáze prof. Liehra byla vymezena skupina chromosomů 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 13 a 16, které jsou spojeny s projevy, které vznikají zejména v důsledku mutací. Vzhledem k tomu, že jde o chromosomy velké a/nebo genově bohaté, není toto zjištění nikterak překvapující. Výjimkou je chromosom 16, který není ani velký, ani genově bohatý, vyskytuje se na něm však celkem pět imprintovaných genů (Geneimprint 2024).

Tato bakalářská práce poskytuje přehled současných poznatků v této oblasti a přispívá k lepšímu porozumění této genetické anomálie.

## Seznam použité literatury

- ALFORD, R. L., H. A. HAMMOND a C. T. CASKEY**, 1994. Rapid and Efficient Resolution of Parentage by Amplification of Short Tandem Repeats. *Am. J. Hum. Genet.* **55**(1), 190–195.
- ALTUG-TEBER, Ö., A. DUFKE, S. POTHS, U. A MAU-HOLZMANN, M. BASTEPE, L. COLLEAUX, V. CORMIER-DAIRE, T. EGGERMANN, G. GILLESSEN-KAESBACH, M. BONIN a O. RIESS**, 2005. A rapid microarray based whole genome analysis for detection of uniparental disomy. *Human Mutation.* **26**(2), 153–159.
- ANDERLID, B. M., J. LUNDIN, H. MALMGREN, M. LEHTIHET a A. NORDGREN**, 2014. Small mosaic deletion encompassing the snoRNAs and SNURF-SNRPN results in an atypical Prader-Willi syndrome phenotype. *American Journal of Medical Genetics. Part A.* **164A**(2), 425–431.
- ANGELMAN, H.**, 1965. ‘Puppet’ Children A Report on Three Cases. *Developmental Medicine & Child Neurology.* **7**(6), 681–688.
- ANTONARAKIS, S. E., J. L. BLOUIN, J. MAHER, D. AVRAMOPOULOS, G. THOMAS a C. C. TALBOT**, 1993. Maternal uniparental disomy for human chromosome 14, due to loss of a chromosome 14 from somatic cells with t (13;14) trisomy 14. *American Journal of Human Genetics.* **52**(6), 1145–1152.
- ANTONARAKIS, S. E. a E. ENGEL**, 2010. *Genomic imprinting and uniparental disomy in medicine: clinical and molecular aspects*. New York: Wiley-Liss. ISBN 978-0-471-45913-2.
- AVIV, A. a H. AVIV**, 1998. Telomeres, hidden mosaicism, loss of heterozygosity, and complex genetic traits. *Human Genetics.* **103**(1), 2–4.
- BARLOW, D. P., R. STÖGER, B. G. HERRMANN, K. SAITO a N. SCHWEIFER**, 1991. The mouse insulin-like growth factor type-2 receptor is imprinted and closely linked to the Tme locus. *Nature.* **349**(6304), 84–87.
- BENLIAN, P., L. FOUBERT, L. BERNARD, S. LANGLOIS, W. ROBINSON a M. HAYDEN**, 1996. Complete Paternal Isodisomy for Chromosome 8 Unmasked by Lipoprotein Lipase Deficiency. *Am. J. Hum. Genet.* **59**(2), 431–436.
- BESTOR, T. H.**, 1992. Activation of mammalian DNA methyltransferase by cleavage of a Zn binding regulatory domain. *The EMBO Journal.* **11**(7), 2611–2617.
- BITTEL, D. C., N. KIBIRYEVA a M. G. BUTLER**, 2006. Expression of 4 Genes Between Chromosome 15 Breakpoints 1 and 2 and Behavioral Outcomes in Prader-Willi Syndrome. *Pediatrics.* **118**(4), e1276–e1283.
- BLOUIN, J. L., D. AVRAMOPOULOS, C. PANGALOS a S. E. ANTONARAKIS**, 1993. Normal phenotype with paternal uniparental isodisomy for chromosome 21. *American Journal of Human Genetics.* **53**(5), 1074–1078.
- BOER, H., A. HOLLAND, J. WHITTINGTON, J. BUTLER, T. WEBB a D. CLARKE**, 2002. Psychotic illness in people with Prader Willi syndrome due to chromosome 15 maternal uniparental disomy. *The Lancet.* **359**(9301), 135–136.

- BOHONOWYCH, J., J. MILLER, S. E. MCCANDLESS a T. V. STRONG**, 2019. The Global Prader–Willi Syndrome Registry: Development, Launch, and Early Demographics. *Genes*. **10**(9), 713.
- BOTTANI, A., W. P. ROBINSON, C. D. DELOZIER-BLANCHET, E. ENGEL, M. A. MORRIS, B. SCHMITT, L. THUN-HOHENSTEIN a A. SCHINZEL**, 1994. Angelman syndrome due to paternal uniparental disomy of chromosome 15: a milder phenotype? *American Journal of Medical Genetics*. **51**(1), 35–40.
- BU, X., X. LI, C. PENG, H. LI, S. ZHOU, Z. ZHU, J. HE a S. LINPENG**, 2023. Case report: Paternal uniparental disomy on chromosome 7 and homozygous SUGCT mutation in a fetus with overweight after birth. *Frontiers in Genetics*. **14**, 1272028.
- BUITING, K., J. CLAYTON-SMITH, D. J. DRISCOLL, G. GILLESSEN-KAESBACH, D. KANBER, E. SCHWINGER, C. WILLIAMS a B. HORSTHEMKE**, 2015. Clinical utility gene card for: Angelman Syndrome. *European Journal of Human Genetics*. **23**(2).
- BULLINGER, L., J. KRÖNKE, C. SCHÖN, I. RADTKE, K. URLBAUER, U. BOTZENHARDT, V. GAIDZIK, A. CARIÓ, C. SENGER, R F SCHLENK, J R DOWNING, K. HOLZMANN, K. DÖHNER a H. DÖHNER**, 2010. Identification of acquired copy number alterations and uniparental disomies in cytogenetically normal acute myeloid leukemia using high-resolution single-nucleotide polymorphism analysis. *Leukemia*. **24**(2), 438–449.
- BUNTINX, I. M., R. C. M. HENNEKAM, O. F. BROUWER, H. STROINK, J. BEUTEN, K. MANGELSCHOTS a J. P. FRYNS**, 1995. Clinical profile of Angelman syndrome at different ages. *American Journal of Medical Genetics*. **56**(2), 176–183.
- BUTLER, M. G., J. STURICH, J. LEE, S. E. MYERS, B. Y. WHITMAN, J. A. GOLD, V. KIMONIS, A. SCHEIMANN, N. TERRAZAS a D. J. DRISCOLL**, 2011. Growth Standards of Infants With Prader-Willi Syndrome. *Pediatrics*. **127**(4), 687–695.
- BUTLER, M. G., J. STURICH, S. E. MYERS, J. A. GOLD, V. KIMONIS a D. J. DRISCOLL**, 2009. Is gestation in Prader-Willi syndrome affected by the genetic subtype? *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. **26**(8), 461–466.
- BUTLER, M. G., A. M. MANZARDO a J. L. FORSTER**, 2016. Prader-Willi Syndrome: Clinical Genetics and Diagnostic Aspects with Treatment Approaches. *Current Pediatric Reviews*. **12**(2), 136–166.
- BUTZ, S., N. SCHMOLKA, I. D. KAREMAKER, R. VILLASEÑOR, I. SCHWARZ, S. DOMCKE, E. C. H. UIJTTEWAAL, J. JUDE, F. LIENERT, A. R. KREBS, N. P. DE WAGENAAR, X. BAO, J. ZUBER, U. ELLING, D. SCHÜBELER a T. BAUBEC**, 2022. DNA sequence and chromatin modifiers cooperate to confer epigenetic bistability at imprinting control regions. *Nature Genetics*. **54**(11), 1702–1710.
- CASSIDY, S. B. a D. J. DRISCOLL**, 2009. Prader–Willi syndrome. *European Journal of Human Genetics*. **17**(1), 3–13.
- CLAYTON-SMITH, J. a M. E. PEMBREY**, 1992. Angelman syndrome. *Journal of Medical Genetics*. **29**(6), 412–415.

**COSTA, R. A., I. R. FERREIRA, H. A. CINTRA, L. H. F. GOMES a L. C. GUIDA,** 2019. Genotype-Phenotype Relationships and Endocrine Findings in Prader-Willi Syndrome. *Frontiers in Endocrinology*. **10**(864).

**CRINÒ, A., R. SCHIAFFINI, P. CIAMPALINI, S. SPERA, L. BECCARIA, F. BENZI, L. BOSIO, A. CORRIAS, L. GARGANTINI, A. SALVATONI, G. TONINI, G. TRIFIRÒ, C. LIVIERI, a GENETIC OBESITY STUDY GROUP OF ITALIAN SOCIETY OF PEDIATRIC ENDOCRINOLOGY AND DIABETOLOGY (SIEDP),** 2003. Hypogonadism and pubertal development in Prader-Willi syndrome. *European Journal of Pediatrics*. **162**(5), 327–333.

**CROUSE, H. V.,** 1960. The Controlling Element in Sex Chromosome Behavior in Sciarra. *Genetics*. **45**(10), 1429–1443.

**DAGLI, A., K. BUTING a C. A. WILLIAMS,** 2011. Molecular and Clinical Aspects of Angelman Syndrome. *Molecular Syndromology*. **2**(3–5), 100–112.

**DEAL, Ch. L., M. TONY, Ch. HÖYBYE, D. B. ALLEN, M. TAUBER, J. S. CHRISTIANSEN, G. R. AMBLER, R. BATTISTA, V. BEAULOYE, G. BERALL, B. M. K. BILLER, M. G. BUTLER, S. B. CASSIDY, K. CHIHARA, P. COHEN, M. CRAIG, S. FARHOLT, M. GOETGHEBEUR, A. P. GOLDSTONE, T. GREGGI, G. GRUGNI, A. C. HOKKEN-KOELEGA, G. JOHANNSSON, K. JOHNSON, A. KEMPER, J. J. KOPCHICK, S. MALOZOWSKI, J. MILLER, H. R. MOGUL, F. MUSCATELLI, R. NERGÅRDH, R. D. NICHOLLS, S. RADOVICK, M. S. ROSENTHAL, I. SIPILÄ, J. E. TARRIDE, A. VOGELS a M. J. WATERS,** 2013. Growth Hormone Research Society Workshop Summary: Consensus Guidelines for Recombinant Human Growth Hormone Therapy in Prader-Willi Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. **98**(6), E1072–E1087.

**DEL GAUDIO, D., M. SHINAWI, C. ASTBURY, M. K. TAYEH, K. L. DEAK a G. RACA,** 2020. Diagnostic testing for uniparental disomy: a points to consider statement from the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine*. **22**(7), 1133–1141.

**DOOLEY, J. M., J. M. BERG, Z. PAKULA a D. L. MACGREGOR,** 1981. The Puppet-like Syndrome of Angelman. *American Journal of Diseases of Children*. **135**(7), 621–624.

**ENGEL, E.,** 1980. A new genetic concept: uniparental disomy and its potential effect, isodisomy. *American Journal of Medical Genetics*. **6**(2), 137–143.

**ENGEL, E. a C. D. DELOZIER-BLANCHET,** 1991. Uniparental disomy, isodisomy, and imprinting: Probable effects in man and strategies for their detection. *American Journal of Medical Genetics*. **40**(4), 432–439.

**FERNÁNDEZ-REBOLLO, E., B. LECUMBERRI, I. GARIN, J. ARROYO, A. BERNAL-CHICO, F. GOÑI, R. ORDUÑA, SPANISH PHP GROUP, L. CASTAÑO a G. PÉREZ DE NANCLARES,** 2010. New mechanisms involved in paternal 20q disomy associated with pseudohypoparathyroidism. *European Journal of Endocrinology*. **163**(6), 953–962.



- FREEMAN, S. B., K. M. MAY, D. PETTAY, P. M. FERNHOFF a T. J. HASSOLD**, 1993. Paternal uniparental disomy in a child with a balanced 15;15 translocation and Angelman syndrome. *American Journal of Medical Genetics*. **45**(5), 625–630.
- FRITZ, B., M. ASLAN, V. KALSCHEUER, M. RAMSING, K. SAAR, B. FUCHS a H. REHDER**, 2001. Low incidence of UPD in spontaneous abortions beyond the 5th gestational week. *European Journal of Human Genetics*. **9**(12), 910–916.
- GILLESSEN-KAESBACH, G., B. ALBRECHT, E. PASSARGE a B. HORSTHEMKE**, 1995. Further patient with Angelman syndrome due to paternal disomy of chromosome 15 and a milder phenotype. *American Journal of Medical Genetics*. **56**(3), 328–329.
- GLENN, C. C., S. SAITOH, M. T. JONG, M. M. FILBRANDT, U. SURTI, D. J. DRISCOLL a R. D. NICHOLLS**, 1996. Gene structure, DNA methylation, and imprinted expression of the human SNRPN gene. *American Journal of Human Genetics*. **58**(2), 335–346.
- GOELZ, T.**, 2006 Motor and Developmental Interventions. In: **M. G. BUTLER, P. D. K. LEE a B. Y. WHITMAN**. *Management of Prader-Willi Syndrome*. New York, NY: Springer New York, s. 284–301. ISBN 978-0-387-33536-0.
- GOGIEL, M., M. BEGEMANN, S. SPENGLER, L. SOELLNER, U. GÖRETZLEHNER, T. EGGERMANN a G. STROBL-WILDEMANN**, 2013. Genome-wide paternal uniparental disomy mosaicism in a woman with Beckwith–Wiedemann syndrome and ovarian steroid cell tumour. *European Journal of Human Genetics*. **21**(7), 788–791.
- GOLDSTONE, A. P., A. J. HOLLAND, B. P. HAUFFA, A. C. HOKKEN-KOELEGA a M. TAUBER**, 2008. Recommendations for the Diagnosis and Management of Prader-Willi Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. **93**(11), 4183–4197.
- GOWHER, H. a A. JELTSCH**, 2001. Enzymatic properties of recombinant Dnmt3a DNA methyltransferase from mouse: the enzyme modifies DNA in a non-processive manner and also methylates non-CpA sites 1 Edited by J. Karn. *Journal of Molecular Biology*. **309**(5), 1201–1208.
- GOYAL, R., R. REINHARDT a A. JELTSCH**, 2006. Accuracy of DNA methylation pattern preservation by the DNMT1 methyltransferase. *Nucleic acids research*. **34**(4), 1182–8.
- GRAY, T. A., S. SAITOH a R. D. NICHOLLS**, 1999. An imprinted, mammalian bicistronic transcript encodes two independent proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **96**(10), 5616–5621.
- GREGGI, T., K. MARTIKOS, F. LOLLI, G. BAKALLOUDIS, M. DI SILVESTRE, A. CIONI, G. B. BRÒDANO a S. GIACOMINI**, 2010. Treatment of scoliosis in patients affected with Prader-Willi syndrome using various techniques. *Scoliosis*. **5**(1), 11.
- GUNDERSON, K. L., F. J. STEEMERS, G. LEE, L. G. MENDOZA a M. S. CHEE**, 2005. A genome-wide scalable SNP genotyping assay using microarray technology. *Nature Genetics*. **37**(5), 549–554.

- HAIG, D.**, 2000. Genomic imprinting, sex-biased dispersal, and social behavior. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **907**, 149–163.
- HANDYSIDE, A. H., M. MONTAG, M. C. MAGLI, S. REPPING, J. HARPER, A. SCHMUTZLER, K. VESELA, L. GIANAROLI a J. GERAEDTS**, 2012. Multiple meiotic errors caused by predivision of chromatids in women of advanced maternal age undergoing in vitro fertilisation. *European Journal of Human Genetics*. **20**(7), 742–747.
- HASSOLD, T. J. a P. A. JACOBS**, 1984. Trisomy in man. *Annual Review of Genetics*. **18**, 69–97.
- HERMAN, J. G., J. R. GRAFF, S. MYÖHÄNEN, B. D. NELKIN a S. B. BAYLIN**, 1996. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **93**(18), 9821–9826.
- HOLM, V. A., S. B. CASSIDY, M. G. BUTLER, J. M. HANCHETT, L. R. GREENSWAG, B. Y. WHITMAN a F. GREENBERG**, 1993. Prader-Willi Syndrome: Consensus Diagnostic Criteria. *Pediatrics*. **91**(2), 398–402.
- HOMOLKA, D., R. R. PANDEY, C. GORIAUX, E. BRASSET, Ch. VAURY, R. SACHIDANANDAM, M. O. FAUVARQUE a R. S. PILLAI**, 2015. PIWI Slicing and RNA Elements in Precursors Instruct Directional Primary piRNA Biogenesis. *Cell Reports*. **12**(3), 418–428.
- HOTCHKISS, R. D.**, 1948. The quantitative separation of purines, pyrimidines, and nucleosides by paper chromatography. *Journal of Biological Chemistry*. **175**(1), 315–332.
- CHAI, J. H., D. P. LOCKE, J. M. GREALLY, J. H. M. KNOLL, T. OHTA, J. DUNAI, A. YAVOR, E. E. EICHLER a R. D. NICHOLLS**, 2003. Identification of Four Highly Conserved Genes between Breakpoint Hotspots BP1 and BP2 of the Prader-Willi/Angelman Syndromes Deletion Region That Have Undergone Evolutionary Transposition Mediated by Flanking Duplicons. *The American Journal of Human Genetics*. **73**(4), 898–925.
- CHENG, X. a R. M. BLUMENTHAL**, 2008. Mammalian DNA methyltransferases: a structural perspective. *Structure*. **16**(3), 341–350.
- JOLLEFF, N. a M. M. RYAN**, 1993. Communication development in Angelman's syndrome. *Archives of Disease in Childhood*. **69**(1), 148–150.
- KANBER, D., J. GILTAY, D. WIECZOREK, C. ZOGEL, R. HOCHSTENBACH, A. CALIEBE, A. KUECHLER, B. HORSTHEMKE a K. BUITING**, 2009. A paternal deletion of MKRN3, MAGEL2 and NDN does not result in Prader-Willi syndrome. *European journal of human genetics: EJHG*. **17**(5), 582–590.
- KEREN, B., S. CHANTOT-BASTARAUD, F. BRIOUDE, C. MACH, E. FONTENEAU, S. AZZI, Ch. DEPIENNE, A. BRICE, I. NETCHINE, Y. LE BOUC, J. P. SIFFROI a S. ROSSIGNOL**, 2013. SNP arrays in Beckwith–Wiedemann syndrome: An improved diagnostic strategy. *European Journal of Medical Genetics*. **56**(10), 546–550.
- KIBEL, M. A. a F. R. BURNES**, 1973. „The happy puppet" syndrome. *The Central African Journal of Medicine*. **19**(5), 91–93.

- KIDO, Y., S. SAKAZUME, Y. ABE, Y. OTO, H. ITABASHI, M. SHIRAISHI, A. YOSHINO, Y. TANAKA, K. OBATA, N. MURAKAMI a T. NAGAI**, 2013. Testosterone replacement therapy to improve secondary sexual characteristics and body composition without adverse behavioral problems in adult male patients with Prader-Willi syndrome: an observational study. *American Journal of Medical Genetics. Part A.* **161A**(9), 2167–2173.
- KING, R. C., W. D. STANSFIELD a P. K. MULLIGAN**, 2006. *A dictionary of genetics*. 7th ed. Oxford ; New York: Oxford University Press. ISBN 978-0-19-530762-7.
- KINGSTON, H. M.**, 2002. *ABC of clinical genetics*. 3rd ed. London: BMJ Books London. ISBN 0-585-39388-5.
- KISHINO, T., M. LALANDE a J. WAGSTAFF**, 1997. UBE3A/E6-AP mutations cause Angelman syndrome. *Nature Genetics.* **15**(1), 70–73.
- KOEHLER, K., R. S. HAWLEY, S. SHERMAN a T. HASSOLD**, 1996. Recombination and nondisjunction in humans and flies. *Human Molecular Genetics.* **5**, 1495–1504.
- KOTZOT, D.**, 2004. Advanced parental age in maternal uniparental disomy (UPD): implications for the mechanism of formation. *European Journal of Human Genetics.* **12**(5), 343–346.
- LEDBETTER, D. H., V. M. RICCARDI, S. D. AIRHART, R. J. STROBEL, B. S. KEENAN a J. D. CRAWFORD**, 1981. Deletions of chromosome 15 as a cause of the Prader-Willi syndrome. *The New England Journal of Medicine.* **304**(6), 325–329.
- LI, X., Y. LIU, S. YUE, L. WANG, T. ZHANG, C. GUO, W. HU, K. O. KAGAN a Q. WU**, 2017. Uniparental disomy and prenatal phenotype: Two case reports and review. *Medicine.* **96**(45), e8474.
- LIEHR, T.**, 2014. *Uniparental Disomy (UPD) in Clinical Genetics: A Guide for Clinicians and Patients*. 1st ed. 2014. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg : Imprint: Springer. ISBN 978-3-642-55288-5.
- LIEHR, T.**, 2022. Uniparental disomy is a chromosomal disorder in the first place. *Molecular Cytogenetics.* **15**(1), 5.
- MA, D., Y. M. LIN, R. ZHANG, S. WANG, W. HU, M. YE, H. GAO, L. WANG, Y. SONG a H. GUO**, 2023. Effect of uniparental disomy in parentage testing. *Legal Medicine.* **67**, 102381.
- MATSUBARA, K., K. YANAGIDA, T. NAGAI, M. KAGAMI a M. FUKAMI**, 2020. De Novo Small Supernumerary Marker Chromosomes Arising From Partial Trisomy Rescue. *Frontiers in Genetics.* **11**, 132.
- MATSUURA, T., J. S. SUTCLIFFE, P. FANG, R. J. GALJAARD, Y. JIANG, C. S. BENTON, J. M. ROMMENS a A. L. BEAUDET**, 1997. De novo truncating mutations in E6-AP ubiquitin-protein ligase gene (UBE3A) in Angelman syndrome. *Nature Genetics.* **15**(1), 74–77.
- MCGRATH, J. a D. SOLTER**, 1984. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell.* **37**(1), 179–183.

**MEGURO, M., A. KASHIWAGI, K. MITSUYA, M. NAKAO, I. KONDO, S. SAITOH a M. OSHIMURA**, 2001. A novel maternally expressed gene, ATP10C, encodes a putative aminophospholipid translocase associated with Angelman syndrome. *Nature Genetics*. **28**(1), 19–20.

**MERTZ, L. G. B., R. CHRISTENSEN, I. VOGEL, J. M. HERTZ a J. R. ØSTERGAARD**, 2014. Eating behavior, prenatal and postnatal growth in Angelman syndrome. *Research in Developmental Disabilities*. **35**(11), 2681–2690.

**MILLER, J. L., Ch. H. LYNN, D. C. DRISCOLL, A. P. GOLDSTONE, J. A. GOLD, V. KIMONIS, E. DYKENS, M. G. BUTLER, J. J. SHUSTER a D. J. DRISCOLL**, 2011. Nutritional phases in Prader–Willi syndrome. *American Journal of Medical Genetics Part A*. **155**(5), 1040–1049.

**MONCLA, A., P. MALZAC, M. A. VOELCKEL, P. AUQUIER, L. GIRARDOT, M. G. MATTEI, N. PHILIP, J. F. MATTEI, M. LALANDE a M. O. LIVET**, 1999. Phenotype–genotype correlation in 20 deletion and 20 non-deletion Angelman syndrome patients. *European Journal of Human Genetics*. **7**(2), 131–139.

**MONK, M., M. BOUBELIK a S. LEHNERT**, 1987. Temporal and regional changes in DNA methylation in the embryonic, extraembryonic and germ cell lineages during mouse embryo development. *Development*. **99**(3), 371–382.

**MOORE, T. a D. HAIG**, 1991. Genomic imprinting in mammalian development: a parental tug-of-war. *Trends in Genetics*. **7**(2), 45–49.

**NAKKA, P., S. PATTILLO SMITH, A. H. O'DONNELL-LURIA, K. F. MCMANUS, J. L. MOUNTAIN, S. RAMACHANDRAN, J. F. SATHIRAPONGSASUTI, M. AGEE, A. AUTON, R. K. BELL, K. BRYC, S. L. ELSON, P. FONTANILLAS, N. A. FURLOTTE, B. HICKS, D. A. HINDS, E. M. JEWETT, Y. JIANG, K. H. LIN, J. C. MCCREIGHT, K. E. HUBER, A. KLEINMAN, N. K. LITTERMAN, M. H. MCINTYRE, E. S. NOBLIN, C. A. M. NORTHOVER, S. J. PITTS, G. D. POZNIK, J. F. SHELTON, S. SHRINGARPURE, Ch. TIAN, J. Y. TUNG, V. VACIC a X. WANG**, 2019. Characterization of Prevalence and Health Consequences of Uniparental Disomy in Four Million Individuals from the General Population. *The American Journal of Human Genetics*. **105**(5), 921–932.

**NUSSBAUM, R. L., R. R. MCINNES a H. F. WILLARD**, 2016. *Thompson & Thompson genetics in medicine*. Eighth edition. Philadelphia: Elsevier. ISBN 978-1-4377-0696-3.

**NYGREN, A., N. AMEZIANE, H. DUARTE, R. VIJZELAAR, Q. WAISFISZ, C. HESS, J. SCHOUTEN a A. ERRAMI**, 2005. Methylation-Specific MLPA (MS-MLPA): Simultaneous detection of CpG methylation and copy number changes of up to 40 sequences. *Nucleic acids research*. **33**(14), e128.

**OHTA, T., K. BUITING, H. KOKKONEN, S. MCCANDLESS, S. HEEGER, H. LEISTI, D. J. DRISCOLL, S. B. CASSIDY, B. HORSTHEMKE a R. D. NICHOLLS**, 1999. Molecular Mechanism of Angelman Syndrome in Two Large Families Involves an Imprinting Mutation. *The American Journal of Human Genetics*. **64**(2), 385–396.

**OKANO, M., S. XIE a E. LI**, 1998. Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases. *Nature Genetics*. **19**(3), 219–220.

**PACORICONA ALFARO, D. L., P. LEMOINE, V. EHLINGER, C. MOLINAS, G. DIENE, M. VALETTE, G. PINTO, M. COUPAYE, Ch. POITOU-BERNERT, D. THUILLEAUX, C. ARNAUD a M. TAUBER**, 2019. Causes of death in Prader-Willi syndrome: lessons from 11 years' experience of a national reference center. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. **14**(1), 238.

**POLÍVKOVÁ, Z.**, 2005. Imprinting genů a lidské patologie. *Časopis lékařů českých*. **144**(4), 245–250.

**PRADER, A., A. LABHART a H. WILLI**, 1956. Ein Syndrom von Adipositas, Kleinwuchs, Kryptorchismus und Oligophrenie nach mya-tonieartigem Zustandim Neugeborenenalter. *Schweiz Med Wochenschr*. **86**, 1260–1.

**REIK, W. a J. WALTER**, 2001. Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nature Reviews. Genetics*. **2**(1), 21–32.

**ROBERTSON, K., E. UZVOLGYI, G. LIANG, C. TALMADGE, J. SUMEGI, F. GONZALES a P. JONES**, 1999. The human DNA methyltransferases (DNMTs) 1, 3a and 3b: coordinate mRNA expression in normal tissues and overexpression in tumors. *Nucleic acids research*. **27**(11), 2291–8.

**ROBINSON, W. P., B. D. KUCHINKA, F. BERNASCONI, M. B. PETERSEN, A. SCHULZE, K. BRONDUM-NIELSEN, S. L. CHRISTIAN, D. H. LEDBETTER, A. A. SCHINZEL, B. HORSTHEMKE, S. SCHUFFENHAUER, R. C. MICHAELIS, S. LANGLOIS a T. J. HASSOLD**, 1998. Maternal meiosis I non-disjunction of chromosome 15: dependence of the maternal age effect on level of recombination. *Human Molecular Genetics*. **7**(6), 1011–1019.

**RODRIGUEZ-PURATA, J., J. LEE, M. WHITEHOUSE, R. M. MOSCHINI, J. KNOPMAN, M. DUKE, B. SANDLER a A. COPPERMAN**, 2015. Embryo selection versus natural selection: how do outcomes of comprehensive chromosome screening of blastocysts compare with the analysis of products of conception from early pregnancy loss (dilation and curettage) among an assisted reproductive technology population? *Fertility and Sterility*. **104**(6), 1460-1466.e12.

**SAHOO, T., S. PETERS, N. S. MADDURI, D. GLAZE, J. R. GERMAN, L. BIRD, R. BARBIERI-WELGE, T. J. BICHELL, A. BEAUDET a C. A. BACINO**, 2006. Microarray-based comparative genomic hybridization testing in deletion-bearing Angelman Syndrome patients: Genotype-phenotype correlations. *Journal of medical genetics*. **43**(6), 512–6.

**SAITOH, S., N. OISO, T. WADA, O. NARAZAKI a K. FUKAI**, 2000. Oculocutaneous albinism type 2 with a P gene missense mutation in a patient with Angelman syndrome. *Journal of medical genetics*. **37**(5), 392–4.

**SHAFFER, L. G., N. AGAN, J. D. GOLDBERG, D. H. LEDBETTER, J. W. LONGSHORE a S. B. CASSIDY**, 2001. American College of Medical Genetics Statement on Diagnostic Testing for Uniparental Disomy. *Genetics in Medicine*. **3**(3), 206–211.

**SIEMENSMA, E. P. C., R. F. A. DE LIND VAN WIJNGAARDEN, B. J. OTTEN, F. H. DE JONG a A. C. S. HOKKEN-KOELEGA**, 2012. Testicular failure in boys with Prader-

Willi syndrome: longitudinal studies of reproductive hormones. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. **97**(3), E452-459.

**SMITH, A., R. MARKS, E. HAAN, J. DIXON a R. J. TRENT**, 1997. Clinical features in four patients with Angelman syndrome resulting from paternal uniparental disomy. *Journal of Medical Genetics*. **34**(5), 426–429.

**SPENCE, J. E., R. G. PERCIACCANTE, G. M. GREIG, H. F. WILLARD, D. H. LEDBETTER, J. F. HEJTMANCIK, M. S. POLLACK, W. E. O'BRIEN a A. L. BEAUDET**, 1988. Uniparental disomy as a mechanism for human genetic disease. *American Journal of Human Genetics*. **42**(2), 217–226.

**STEEMERS, F. J., W. CHANG, G. LEE, D. L. BARKER, R. SHEN a K. L. GUNDERSON**, 2006. Whole-genome genotyping with the single-base extension assay. *Nature Methods*. **3**(1), 31–33.

**STÖGER, R., P. KUBICKA, C. G. LIU, T. KAFRI, A. RAZIN, H. CEDAR a D. P. BARLOW**, 1993. Maternal-specific methylation of the imprinted mouse *Igf2r* locus identifies the expressed locus as carrying the imprinting signal. *Cell*. **73**(1), 61–71.

**STRACHAN, T., J. GOODSHIP a P. CHINNERY**, 2015. *Genetics and genomics in medicine*. New York London: Garland Science. ISBN 978-0-8153-4480-3.

**SURANI, M. A. H., S. C. BARTON a M. L. NORRIS**, 1984. Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature*. **308**(5959), 548–550.

**TAN, W. H., C. A. BACINO, S. A. SKINNER, I. ANSELM, R. BARBIERI-WELGE, A. BAUER-CARLIN, A. L. BEAUDET, T. J. BICHELL, J. K. GENTILE, D. G. GLAZE, L. T. HOROWITZ, S. V. KOTHARE, H. S. LEE, M. P. NESPECA, S. U. PETERS, T. SAHOO, D. SARCO, S. E. WAISBREN a L. M. BIRD**, 2011. Angelman syndrome: Mutations influence features in early childhood. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. **155A**(1), 81–90.

**TEMPLADO, C., A. DONATE, J. GIRALDO, M. BOSCH a A. ESTOP**, 2011. Advanced age increases chromosome structural abnormalities in human spermatozoa. *European Journal of Human Genetics*. **19**(2), 145–151.

**THIBERT, R. L., K. D. CONANT, E. K. BRAUN, P. BRUNO, R. R. SAID, M. P. NESPECA a E. A. THIELE**, 2009. Epilepsy in Angelman syndrome: A questionnaire-based assessment of the natural history and current treatment options. *Epilepsia*. **50**(11), 2369–2376.

**TUNA, M., W. LIU, Ch. I. AMOS a G. B. MILLS**, 2019. Genome-Wide Profiling of Acquired Uniparental Disomy Reveals Prognostic Factors in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Neoplasia*. **21**(11), 1102–1109.

**VOGELS, A., J. VAN DEN ENDE, K. KEYMOLEN, G. MORTIER, K. DEVRIENDT, E. LEGIUS a J. P. FRYNS**, 2004. Minimum prevalence, birth incidence and cause of death for Prader–Willi syndrome in Flanders. *European Journal of Human Genetics*. **12**(3), 238–240.

**VYSKOT, B.**, 2010. *EpiGenetka*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. ISBN 978-80-244-2534-4.

**WAGGONER, D., K. WAIN, A. DUBUC, L. CONLIN, S. HICKEY, A. LAMB, Ch. MARTIN, C. MORTON, K. RASMUSSEN, J. SCHUETTE, S. SCHWARTZ a D. MILLER**, 2018. Yield of additional genetic testing after chromosomal microarray for diagnosis of neurodevelopmental disability and congenital anomalies: a clinical practice resource of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine*. **20**(10), 1.

**WHITE, H. E, V. J. DURSTON, J. F. HARVEY a N. C. P. CROSS**, 2006. Quantitative Analysis of SRNPN Gene Methylation by Pyrosequencing as a Diagnostic Test for Prader-Willi Syndrome and Angelman Syndrome. *Clinical Chemistry*. **52**(6), 1005–1013.

**WHITTINGTON, J. E.**, 2001. Population prevalence and estimated birth incidence and mortality rate for people with Prader-Willi syndrome in one UK Health Region. *Journal of Medical Genetics*. **38**(11), 792–798.

**WILLIAMS, Ch. A., A. L. BEAUDET, J. CLAYTON-SMITH, J. H. KNOLL, M. KYLLERMAN, L. A. LAAN, R. E. MAGENIS, A. MONCLA, A. A. SCHINZEL, J. A. SUMMERS a J WAGSTAFF**, 2006. Angelman syndrome 2005: updated consensus for diagnostic criteria. *American Journal of Medical Genetics. Part A*. **140**(5), 413–418.

**WILLIAMS, Ch. A., D. J. DRISCOLL a A. I. DAGLI**, 2010. Clinical and genetic aspects of Angelman syndrome. *Genetics in Medicine*. **12**(7), 385–395.

**WILLIAMS, Ch. A., J. L. FRIAS a J. M. OPITZ**, 1982. The Angelman (“Happy Puppet”) syndrome. *American Journal of Medical Genetics*. **11**(4), 453–460.

**WILLIAMS, Ch. A., R. T. ZORI, J. HENDRICKSON, H. STALKER, T. MARUM, E. WHIDDEN a D. J. DRISCOLL**, 1995. Angelman syndrome. *Current Problems in Pediatrics*. **25**(7), 216–231.

**WISZNIEWSKA, J., W. BI, Ch. SHAW, P. STANKIEWICZ, S. H. L. KANG, A. N. PURSLEY, S. LALANI, P. HIXSON, T. GAMBIN, Ch. TSAI, H. G. BOCK, M. DESCARTES, F. J. PROBST, F. SCAGLIA, A. L. BEAUDET, J. R. LUPSKI, Ch. ENG, S. WAI CHEUNG, C. BACINO a A. PATEL**, 2014. Combined array CGH plus SNP genome analyses in a single assay for optimized clinical testing. *European Journal of Human Genetics*. **22**(1), 79–87.

**WU, J. C. a D. V. SANTI**, 1987. Kinetic and catalytic mechanism of HhaI methyltransferase. *Journal of Biological Chemistry*. **262**(10), 4778–4786.

**YAMAZAWA, K., T. OGATA a A. C. FERGUSON-SMITH**, 2010. Uniparental disomy and human disease: an overview. *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics*. **154C**(3), 329–334.

**YAU, K., N. LEEUW, H. YNTEMA, R. PFUNDT a Ch. GILISSEN**, 2019. Accurate detection of clinically relevant uniparental disomy from exome sequencing data. *Genetics in Medicine*. **22**(4), 1–6.

**YAZDI, P. G., H. SU, S. GHIMBOVSCHI, W. FAN, P. E. COSKUN, A. NALBANDIAN, S. KNOBLACH, J. L. RESNICK, E. HOFFMAN, D. C. WALLACE a V. E. KIMONIS**, 2013. Differential Gene Expression Reveals Mitochondrial Dysfunction in an Imprinting Center Deletion Mouse Model of Prader–Willi Syndrome. *Clinical and Translational Science*. **6**(5), 347–355.

**YODER, J. A. a T. H. BESTOR**, 1998. A Candidate Mammalian DNA Methyltransferase Related to pmt1p of Fission Yeast. *Human Molecular Genetics*. **7**(2), 279–284.

**ZHANG, X., L. LIU, Y. LIU a X. PAN**, 2021. Case Report: Paternal Uniparental Isodisomy and Heterodisomy of Chromosome 16 With a Normal Phenotype. *Frontiers in Pediatrics*. **9**, 732645.

**ZHANG, Y. a B. TYCKO**, 1992. Monoallelic expression of the human H19 gene. *Nature genetics*. **1**(1), 40–4.

### **Seznam internetových zdrojů**

**ChromoSomics**. Online. Liehr T., 2024. Dostupné z: <https://cs-tl.de/Start.html> [citováno 20. 4. 2024].

**Geneimprint**. Online. Jirtle R. L., 2024. Dostupné z: <https://www.geneimprint.com/> [citováno 20. 4. 2024].

**Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®**. Online. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD), 2024. Dostupné z: <https://omim.org/> [citováno 20. 4. 2024].