

Dysmorfologia w praktyce klinicznej. Badania nad rozpoznawaniem zespołów dysmorficznych uwarunkowanych defektami genów uczestniczących we wczesnym rozwoju zarodka

Prof. dr hab. n. med. Małgorzata Krajewska-Walasek, Zakład Genetyki Medycznej, Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

Działalność naukowa i diagnostyczna Zakładu Genetyki Medycznej IP-CZD koncentruje się na zagadnieniach genetyki klinicznej, a w szczególności diagnostyce zespołów uwarunkowanych genetycznie oraz zagadnieniach poradnictwa genetycznego i diagnostyki prenatalnej. Prace badawcze Zakładu dotyczą głównie poznania istoty defektu chorób genetycznych oraz zagadnień dysmorfologii, zajmującej się rozpoznawaniem zespołów dysmorficznych.

Znaczący postęp, jaki dokonał się w ciągu ostatnich kilkunastu lat w zakresie genetyki, szczególnie biologii molekularnej, umożliwił poznanie i zrozumienie istoty nie tylko wielu chorób genetycznie uwarunkowanych, ale także chorób nowotworowych oraz wywołanych czynnikami zakaźnymi.

Wśród chorób genetycznie uwarunkowanych największy postęp odnotować można w zakresie diagnozowania chorób zależnych przede wszystkim od konstytucji genetycznej, a więc chorób jednogenowych i aberracji chromosomowych. Nowoczesne techniki cytogenetyczne i molekularne umożliwiają weryfikację rozpoznania klinicznego tych chorób, identyfikację nosicieli choroby oraz diagnostykę prenatalną.

Chyba w żadnej innej specjalności medycznej prawidłowe rozpoznanie choroby, nie ma tak istotnego znaczenia, jak w poradnictwie genetycznym. Bez prawidłowego rozpoznania udzielona porada genetyczna może okazać się błędem. Niekiedy wywiad i badanie przedmiotowe umożliwiają ustalenie rozpoznania choroby i wskazują na potrzebę przeprowadzenia dalszych, ściśle określonych badań genetycznych, weryfikujących ostatecznie rozpoznanie. Do chorób genetycznie uwarunkowanych, rozpoznawanych za pomocą badania przedmiotowego należą zespoły dysmorficzne (cechą dysmorficzną nazywamy taką cechę, której charakter przekracza zakres tego co obserwuje się u osób zdrowych), często określane również zespołem wad wrodzonych, które powstają w wyniku nieprawidłowego

przebiegu embriogenezy. Dział genetyki klinicznej, który zajmuje się rozpoznawaniem zespołów dysmorficznych określany jest jako dysmorfologia.

Specjaliści w dziedzinie dysmorfologii, poza rozległą wiedzą teoretyczną, charakteryzują się szczególną umiejętnością i zręcznością rozpoznawania tych zespołów, często "od pierwszego wejrzenia". Uzyskanie przez klinicystę weryfikacji rozpoznania za pomocą właściwego trybu postępowania diagnostycznego umożliwia wdrożenie odpowiedniego postępowania profilaktycznego, uwzględniającego przeciwdziałanie zagrożeniom, wynikającym z podstawowego defektu. Systematyczne obserwacje, prowadzone według jednolitego protokołu kompleksowej oceny klinicznej pacjentów, specyficznego dla każdego zespołu, pozwalają na opracowanie historii naturalnej choroby. Jej znajomość dostarcza informacji natury klinicznej (zarówno dla rodziców, jak i dla lekarzy) oraz pozwala na lepsze zrozumienie mechanizmów choroby. Wyodrębnienie w pełni jednorodnej klinicznie grupy pacjentów umożliwia zgromadzenie materiału do badań molekularnych zmierzających do identyfikacji defektu odpowiedzialnego za wystąpienie choroby.

Chociaż zmiany strukturalne następujące w embriogenezie są już dobrze znane, to nadal niewiele wiadomo o procesach molekularnych, które kontrolują rozwój ludzkiego zarodka. Do chwili obecnej zostało zidentyfikowanych tylko kilka genów i produktów genowych, które mają istotne znaczenie w embriogenezie ssaków. Biolodzy molekularni, stawiający sobie za cel wykrycie defektu na poziomie molekularnym, są szczególnie zainteresowani aspektami wczesnej embriogenezy. Modelami służącymi do badań tego zagadnienia mogą być przypadki rzadkich, uwarunkowanych jednogenowo zespołów dysmorficznych i ich modele zwierzęce. Z tego też względu, w badaniach nad genami i mechanizmami regulacyjnymi embriogenezy człowieka, muszą uczestniczyć lekarze dysmorfolodzy.

Celem badań sponsorowanych przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej była analiza kliniczna i genetyczna zespołów dysmorficznych uwarunkowanych defektami genów uczestniczących we wczesnym rozwoju zarodka, a w szczególności:

1. Szczegółowe zdefiniowanie fenotypu oraz historii naturalnej poszczególnych zespołów, będących przedmiotem badań, na podstawie analizy objawów klinicznych oraz wyników badań laboratoryjnych i obrazowych.
2. Przeprowadzenie identyfikacji i charakterystyki defektów odpowiedzialnych za wystąpienie badanych chorób. Próba opracowania korelacji pomiędzy rodzajem mutacji, a objawami klinicznymi.

3. Opracowanie trybu postępowania diagnostycznego, terapeutycznego oraz modelu opieki nad pacjentami i ich rodzinami.

Warunkiem przeprowadzenia szczegółowych badań klinicznych i genetycznych było zgromadzenie odpowiednich pod względem liczebności i jednorodności klinicznej grup pacjentów z określonymi zespołami dysmorficznymi. Wszechstronne badania kliniczne i genetyczne przeprowadzono w grupach pacjentów z zespołami **Smitha, Lemlego i Opitza, Alagille'a, Retta, zespołami mikrodelecji oraz subtelomerowych przegrupowań chromosomowych**. Kontynuowano również badania, zwłaszcza w zakresie weryfikacji genetycznie uwarunkowanej predyspozycji do powstawania nowotworów, wśród pacjentów z zespołem **Nijmegen**.

Badania częściowo finansowane były w ramach projektów własnych KBN oraz współfinansowane przez Subsydium dla Uczonych ustanowione przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej.

Doskonałym przykładem specyficzności prowadzonych przez nas badań klinicznych, biochemicznych oraz molekularnych, przykładem „klinicznego myślenia genetycznego”, wykorzystania wyników badań dla celów poznawczych, jak i aplikacyjnych, wypracowywania na ich podstawie nowych hipotez badawczych, wymagających sprawdzenia w następnych projektach badawczych, są badania prowadzone w grupie pacjentów z zespołem Smitha, Lemlego i Opitza, określanym jako „prototyp” zespołu wad wrodzonych.

Zespół Smitha, Lemlego i Opitza

Wdrożenie kompleksowej diagnostyki pre- i postnatalnej zespołu Smitha, Lemlego i Opitza (SLO) - prowadzenie badań klinicznych, biochemicznych i molekularnych.

Główny wykonawca: mgr Elżbieta Ciara (stypendystka FNP, doktorantka), badania molekularne

Młody badacz : lek. med. Aleksandra Jezela – Stanek (stypendystka FNP, od 2004 roku doktorantka), badania kliniczne

Zespół Smitha, Lemlego i Opitza (SLO) jest chorobą metaboliczną spowodowaną dziedzicznym defektem biosyntezy cholesterolu, powstałym w wyniku mutacji w genie *DHCR7*, kodującym reduktazę $\Delta 7$ - dehydrocholesterolu (DHCR7). Deficyt aktywności DHCR7 odpowiedzialny jest za uogólniony niedobór cholesterolu oraz gromadzenie się jego bezpośredniego prekursora, 7-dehydrocholesterolu (7-DHC) we wszystkich komórkach organizmu. Zespół SLO przebiega pod postacią zespołu mnogich wad wrodzonych o szerokim i zmiennym spektrum objawów (od postaci łagodnych do przypadków letalnych) ze współistniejącym - jako objaw stały - opóźnieniem umysłowym. Zaburzenia w zachowaniu, takie jak samouszkodzanie się, agresja, autyzm, poważne zaburzenia snu oraz nadpobudliwość mogą niekiedy, obok upośledzenia umysłowego, być nieomal jedynymi objawami choroby. Obecnie wczesna weryfikacja rozpoznania klinicznego zespołu SLO, za pomocą diagnostyki biochemicznej bądź molekularnej, pozwala na wczesne wdrożenie leczenia dietetycznego, którego pozytywny wpływ na przebieg choroby, przede wszystkim na ogólny rozwój oraz złagodzenie zaburzeń zachowania, wydaje się być bezsporny. Posiadanie jednego chorego dziecka wiąże się z 25% ryzykiem powtórzenia się choroby u dziecka z każdej kolejnej ciąży. Wiarygodne rozpoznanie choroby umożliwia wczesne poinformowanie rodziców o możliwościach przeprowadzenia badania prenatalnego, w tym również bezinwazyjnego.

Jedynym ośrodkiem w Polsce, który zajmuje się diagnostyką zespołu Smitha, Lemlego i Opitza jest Instytut-Pomnik „Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie. W Zakładzie Genetyki Medycznej oraz Pracowni Zaburzeń Metabolizmu Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej IP-CZD przeprowadza się badania przede wszystkim na podstawie cech klinicznych, weryfikując rozpoznanie za pomocą badań biochemicznych, takich jak oznaczenie stężenia cholesterolu oraz 7- i 8 - dehydrocholesteroli w surowicy krwi z zastosowaniem techniki GC/MS, a także przy pomocy badań molekularnych – poszukiwania mutacji w genie *DHCR7*, głównie w DNA izolowanym z limfocytów krwi obwodowej. Możliwe jest również przeprowadzenie diagnostyki przedurodzeniowej i to zarówno za pomocą metod klasycznych (tzn. inwazyjnych) w komórkach trofoblastu lub płynu owodniowego, jak również przy pomocy technik nieinwazyjnych, czym mogą poszczycić się jedynie nieliczne ośrodki w świecie (2, 9). Badanie to polega na ocenie w jednorazowej próbce moczu kobiety ciężarnej stosunku 8-dehydroestriolu do estriolu oraz 7-

dehydropregnantriolu do pregnantriolu. W ostatnim czasie metody nieinwazyjne stosuje się z powodzeniem również w diagnostyce postnatalnej zespołu SLO, co znacznie zmniejsza jej traumatyczność oraz przyspiesza proces diagnostyczny (10).

Zespół SLO zdiagnozowano dotąd w Polsce u 49 chorych, pochodzących z 46 rodzin (13 płci żeńskiej i 36 płci męskiej), co stanowi jedną z najliczniejszych grup w świecie. Najstarszy pacjent ma obecnie 29 lat, najwcześniej diagnozę postawiono w 2 dobie życia. U 15 pacjentów rozpoznanie kliniczne zostało postawione przed 1993 rokiem, a po wykryciu przyczyny choroby zweryfikowane za pomocą badań biochemicznych, a następnie molekularnych (1, 2, 4, 10).

Spektrum obserwowanych w obrębie tak dużej grupy chorych zaburzeń rozwojowych jest bardzo szerokie. Potwierdza to podkreślaną w literaturze światowej złożoność obrazu klinicznego omawianego zespołu. Wśród chorych znajdują się przypadki łagodne, charakteryzujące się jedynie dyskretnymi cechami dysmorfii twarzoczaszki oraz umiarkowaną niepełnosprawnością intelektualną, dalej - postaci klasyczne, tj. z charakterystycznymi dla zespołu cechami fenotypowymi w obrębie twarzy, małą głową, wadami narządów wewnętrznych, kończyn oraz zewnętrznych narządów płciowych, jak również formy ciężkie – noworodki urodzone z wewnątrzłonową dystrofią oraz mnogimi wadami rozwojowymi, m.in. serca i OUN (również holoprosencefalia, występująca u ok. 5% chorych), z których większość umiera w ciągu kilku pierwszych tygodni życia. Pomimo tak różnorodnego obrazu klinicznego istnieją pewne cechy wspólne dla całej grupy chorych. Jest to przede wszystkim opóźnienie rozwoju psychoruchowego oraz niepełnosprawność intelektualna. Są one, aczkolwiek w różnym stopniu, stwierdzane u 100% zdiagnozowanych. Jest jednak jeszcze kolejne zaburzenie, które wydaje się być mniej akcentowane w literaturze, a mianowicie problemy z odżywianiem, które występowały aż u 48 chorych. Jest to problem na tyle poważny, że pacjenci wymagali żywienia przez sondę, wykonania gastrostomii, czy żywienia parenteralnego (2, 11-13).

Warto również wspomnieć w tym miejscu o innym aspekcie zespołu SLO, związanym poniekąd z odżywianiem, a mianowicie o tzw. leczeniu dietetycznym. Już od roku 1993, kiedy zidentyfikowano podłoże biochemiczne tego zaburzenia, prowadzone są kolejne próby normalizacji zaburzeń stosunku cholesterolu do jego prekursorów poprzez stosowanie diety bogatej w cholesterol. Efekt tej terapii jest różny i dotąd nie ma jednoznacznej opinii na temat jej efektywności, aczkolwiek

coraz częściej podkreśla się brak poprawy klinicznej w obiektywnych testach. Podobne niejednoznaczne wyniki uzyskano wśród polskich pacjentów, u których stosowano dietę bogatocholesterolową. Pomimo uzyskania poprawy w analizowanych parametrach antropometrycznych (głównie u pacjentów najmłodszych), wykładniki biochemiczne choroby nie u wszystkich uległy normalizacji, a ocena psychologiczna i neurologiczna nie wykazały istotnego przyspieszenia tempa rozwoju (16).

Z uwagi na złożony i nie do końca charakterystyczny obraz kliniczny zespołu SLO, nieocenione znaczenie w jego diagnozowaniu mają badania laboratoryjne – zarówno biochemiczne, jak i molekularne. Na podstawie wyników badań biochemicznych notuje się istnienie zależności między postacią choroby (tj. ciężkością stanu klinicznego) a stężeniem cholesterolu i jego prekursorów. W grupie polskich chorych stwierdzono znamiennej statystycznie korelację w odniesieniu do stężenia cholesterolu, jak i 7-DHC analizowanych w surowicy krwi. Jest jednak pewna liczba chorych (wg danych literaturowych ok. 10%), u których stężenie cholesterolu jest prawidłowe, natomiast stężenie 7- i 8-DHC tylko nieznacznie podwyższone. Prezentują przy tym jedynie dyskretne nieprawidłowości fenotypowe, przez co mogą zostać pominięci przy diagnostyce zespołu SLO. W tych przypadkach można posłużyć się diagnostyką molekularną, która pozwala definitywnie zweryfikować rozpoznanie. Mimo prowadzonych analiz, nie udało się jak dotąd ustalić korelacji między genotypem a fenotypem choroby. Jako przykład mogą służyć polscy pacjenci. Przy wspomnianej wyżej różnorodności stwierdzanych u nich wad wrodzonych i stanów klinicznych, u 46 stwierdzono 15 różnych mutacji, z czego ponad 60% stanowią dwie (W151X i V326L). Należy tutaj wspomnieć, że 6 spośród 15 zidentyfikowanych jest mutacjami nowymi, które są specyficzne jedynie dla polskiej populacji (1, 4, 5).

Zastosowanie techniki GC/MS w diagnozowaniu zespołu SLO ma oprócz weryfikacji diagnozy klinicznej również inne, z pewnością nie mniejsze znaczenie. Daje mianowicie możliwość rozpoznawania innych zespołów - także charakteryzujących się dysmorfia, wadami wrodzonymi i opóźnieniem rozwoju - u podstaw których leży blok w biosyntezie cholesterolu. Są one określane jako cholesterolopatie. Do chwili obecnej zidentyfikowano 8 takich zaburzeń: deficyt kinazy mewalonowej, zespół Smitha, Lemlego i Opitza, desmosterolosis, zespół Conradiego i Hünermanna, zespół CHILD, dysplazja Greenberga, niektóre postacie

zespołu Antleya i Bixlera oraz lathosterolosis. Z wyjątkiem ostatniego zaburzenia i omawianego zespołu SLO, wszystkie one mają odmienny obraz kliniczny. Generalnie jednak charakteryzują się występowaniem wad wrodzonych, co znacząco wskazuje na udział cholesterolu w procesach kontrolujących rozwój zarodkowy. Biosynteza cholesterolu u ssaków jest złożona, obejmuje aż 19 etapów enzymatycznych. Rozpoczyna się od kondensacji acetylo-CoA, który ulega konwersji do mewalonianu, a ten z kolei przemianuje w skwalen. Cholesterol syntetyzowany jest z lanosterolu poprzez poszczególne wieloenzymatyczne reakcje: dwie demetylacje (izomeryzacja i denaturacja) oraz trzy redukcje podwójnych wiązań. Wystąpienie zaburzeń, i tym samym pojawienie się choroby genetycznej jest możliwe na każdym etapie tego szlaku. Poszukiwanie dalszych zespołów chorobowych uwarunkowanych defektem biosyntezy cholesterolu (jak wspomniano dotychczas zidentyfikowano ich dopiero 8) stanowi kolejne wyzwanie dla klinicystów i biologów molekularnych.

We współpracy z Kennedy Krieger Institute w Baltimore (USA) udało nam się zidentyfikować jeden, z kilkudziesięciu w świecie przypadków, zespół CHILD, którego nazwa jest akronimem angielskiego określenia: Congenital Hemidysplasia, unilateral Ichthyosiform erythroderma and Limb Defects, co jednoznacznie charakteryzuje jego klinikę (8).

Biochemicznie zespół CHILD manifestuje się podwyższonym stężeniem 8-dehydrocholesterolu oraz 8(9)-cholestenolu, co wynika z deficytu aktywności sterolowej Δ^7 , Δ^8 izomerazy. Natomiast na podłożu molekularnym może wystąpić mutacja dotycząca zarówno genu kodującego białko wiążące emopamil (emopamil binding protein, EBP), jak również białko NSDHL (NAD(P)H steroid dehydrogenase-like protein), zlokalizowanych w regionie Xq28. U naszej pacjentki z tym zespołem została zidentyfikowana mutacja w genie *NSDHL* - substytucja c.441T>A (p.Ser147Arg).

Przy omawianiu charakterystyki zespołu SLO nie można pominąć jego patofizjologii, wynikającej z defektu w biosyntezie cholesterolu. Zaburzenie to jest bowiem uznane za prototyp zespołu wad wrodzonych, u podstaw których leży defekt metaboliczny. Zainteresowanie świata naukowego cholesterolem w ciągu ostatnich kilkunastu lat znacznie wzrosło. Okazało się, iż odgrywa on bardzo istotną rolę w procesach wczesnego rozwoju zarodkowego, przez co jest uznany za jeden z podstawowych metabolitów, warunkujących prawidłowy przebieg embri- i morfogenezy. Cholesterol jest związkiem niezbędnym do aktywacji białek,

regulatorów prawidłowego różnicowania komórkowego, zwanych Sonic hedgehog (SHH). Inicjują one szlak sygnałowy SHH-GLI-PTCH, będący jednym z podstawowych regulatorów embriogenezy i przez to są odpowiedzialne za wytworzenie właściwego wzorca rozwojowego. Warunkują prawidłową migrację i różnicowanie komórek w ośrodkowym układzie nerwowym, ustalenie przednio-tylnej osi kończyn, a także prawidłowe różnicowanie somitów jamy brzusznej. Wydzielanie SHH przez strukturę grzbietową i kształtującą się cewę nerwową prowadzi do powstania odpowiedniego gradientu jego stężenia, indukując różne typy komórek w rozwijającym się mózgu i rdzeniu kręgowym. Białko to jest ponadto produkowane przez komórki zawiązków kończyn, uczestnicząc w powstaniu asymetrycznej długości palców w obrębie każdej kończyny oraz odgrywa istotną rolę w rozwoju promieniowej symetrii powstających jelit. Tak więc w przypadku, gdy występuje zaburzenie na którymkolwiek z etapów szlaku SHH-GLI-PTCH, jak np. niedobór cholesterolu w omawianym zespole, jego funkcjonowanie ulega zaburzeniu. Klinicznie manifestuje się to anomaliami rozwojowymi w obrębie OUN, narządów wewnętrznych (serca, płuc, nerek, jelit), narządów płciowych, czy kończyn (14, 15).

Jak przedstawiono, mimo poznania wielu kwestii dotyczących etiologii i patofizjologii zespołu Smitha, Lemlega i Opitza, nadal pozostaje jeszcze wiele do wyjaśnienia. Dla przykładu: czy głównym czynnikiem patogennym jest tu hipocholesterolemia, czy też kumulacja 7- i 8-dehydrocholesteroli, które ulegają dalszym przemianom, m.in. oksydacji lub jakie są czynniki modyfikujące (jak na przykład polimorfizm genu apolipoproteiny E) fenotyp tej choroby, warunkujące u jednych śmiertelność jeszcze przed narodzeniem, a innym dające możliwość przeżycia? We współpracy z ośrodkami europejskimi wykazaliśmy korelację pomiędzy obecnością genotypu APOE* 2 u matek a wystąpieniem ciężkiej postaci zespołu SLO u ich potomstwa. Świadczy to o znacznym upośledzeniu transportu cholesterolu od matki, będącej homozygotą allelu APOE*2, do płodu dotkniętego zespołem SLO oraz wskazuje na udział tego genu w modyfikowaniu rozwoju zarodka i powstawaniu wad (3).

Nadal nie jest ostatecznie znana częstość występowania zespołu SLO. Rzeczywiste oszacowanie częstości jego występowania jest niezbędne do rozważenia decyzji o podjęciu wskazań do wprowadzenia przedurodzeniowego lub noworodkowego testu przesiewowego w kierunku tego zespołu.

Własne badania przesiewowe wykonane w populacji polskich noworodków (4256 noworodków) należą do czterech tego typu na świecie i uzupełniają dane dotyczące nosicielstwa i częstości choroby na świecie. Wysoki współczynnik nosicielstwa (3,19 - 4,17%) pozwala przypuszczać, że w populacji polskiej zespół SLO jest jedną z najczęstszych chorób metabolicznych oraz że częstość choroby na terenie Polski (od 1 na 2300 do 1 na 4000) może być wyższa niż w innych populacjach europejskich. Jednak rzeczywista liczba stwierdzanych chorych z zespołem SLO jest znacznie niższa od oczekiwanej ich liczby i stoi w jawnej sprzeczności z danymi uzyskanymi z badań nad częstością nosicielstwa mutacji w genie *DHCR7* w populacji polskiej. Mimo iż zespół SLO jest dobrze zdefiniowaną jednostką chorobową, to rozpoznawany jest niezmiernie rzadko. Najpewniej spowodowane jest to nierozpoznawaniem tzw. przypadków łagodnych i atypowych oraz znaczną letalnością zespołu – zarówno w okresie prenatalnym, jak i noworodkowym (6).

W związku z powyższym, w najbliższej przyszłości planujemy zbadanie częstości występowania zespołu SLO w Polsce, poprzez prospektywną identyfikację wszystkich nowych przypadków tego zespołu w okresie trzech lat. Dla populacji polskiej nie prowadzono dotychczas tego typu badań. W realizacji projektu przewiduje się udział wszystkich ośrodków genetycznych w Polsce oraz wykorzystanie struktury organizacyjnej Polskiego Rejestru Wrodzonych Wad Rozwojowych (PRWWR), pozostającego pod nadzorem Zespołu ds. PRWWR, którego przewodniczącą jest prof. dr hab. n. med. Anna Latos-Bieleńska, kierownik Katedry i Zakładu Genetyki Medycznej Akademii Medycznej w Poznaniu. Ponad 2500 lekarzy (genetycy, neonatolodzy i pediatrzy) uzyska dokładne informacje o sposobie rozpoznawania zespołu SLO. Następnie wszyscy zostaną poproszeni o przesyłanie w odstępach jednego miesiąca raportów zawierających listę pacjentów podejrzanych o tę chorobę. Rozpoznanie kliniczne choroby weryfikowane będzie za pomocą badań biochemicznych i/lub molekularnych w Zakładzie Genetyki Medycznej IP-CZD i Pracowni Zaburzeń Metabolizmu Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej IP-CZD w Warszawie.

Mamy nadzieję, że realizacja projektowanych badań pozwoli na:

1. Określenie częstości występowania zespołu SLO w Polsce poprzez identyfikowanie wszystkich nowych przypadków choroby;

2. Wzrost wiedzy o rozpoznawaniu zespołu SLO wśród lekarzy pierwszego kontaktu, neonatologów, pediatrów i genetyków klinicznych, co przyczyni się do częstszego i wcześniejszego rozpoznawania tego zespołu, w tym również przypadków atypowych i postaci łagodnych choroby;
3. Opracowanie optymalnej strategii diagnostycznej zapewniającej wczesne wykrycie choroby, efektywne prowadzenie leczenia i profilaktykę występowania zespołu;
4. Ustalenie wskazań do ew. wdrożenia w Polsce testów przesiewowych (prenatalnych i noworodkowych) w kierunku zespołu SLO;
5. Uzyskanie danych demograficznych i klinicznych dotyczących pacjentów z zespołem SLO, co umożliwi stworzenie wiarygodnej bazy danych, która będzie mogła zostać wykorzystana dla dalszych badań naukowych - zespół SLO, jako "prototyp" zespołu wczesnych zaburzeń rozwojowych jest atrakcyjnym modelem dla badań nad molekularnym podłożem embriogenezy;
6. Ustalenie przydatności struktury organizacyjnej Polskiego Rejestru Wrodzonych Wad Rozwojowych w tworzeniu narodowego (ogólnopolskiego) systemu rejestrowania i analizowania danych, dotyczących rzadkich przypadków chorób dziedzicznych, ujawniających się w wieku dziecięcym w Polsce. Powstające w świecie tego typu programy przyczyniają się do ochrony zdrowia dzieci i młodzieży oraz stanowią podstawę dla badań naukowych, mających na celu poprawę stanu zdrowia i opieki nad dzieckiem.

Prace doktorskie:

1. Ciara Elżbieta: Przygotowanie pracy doktorskiej pt. "Identyfikacja mutacji i zmian polimorficznych w genie DHCR7 u pacjentów z zespołem Smitha, Lemlego i Opitza. Próba korelacji pomiędzy genotypem a objawami klinicznymi choroby" (obrona w 2005 r).
2. Aleksandra Jezela –Stanek: otwarcie przewodu doktorskiego w 2003 roku, realizacja pracy doktorskiej od października 2004 roku w ramach grantu promotorskiego KBN pt. „Rola badań

klinicznych, biochemicznych i genetycznych w pre- i postnatalnym rozpoznawaniu i leczeniu zespołu Smitha, Lemlego i Opitza”.

Publikacje powstałe w trakcie realizowania badań w grupie pacjentów z zespołem SLO, cytowane w powyższym tekście:

Publikacje oryginalne:

1. Witsch-Baumgartner M., Ciara E., Löffler J., Menzel H.J., Seedorf U., Burn J., Gillesen-Kaesbach G., Hoffmann G.F., Fitzky B.U., Mundy H., Clayton P., Kelley R.I., **Krajewska-Walasek M.**, Utermann G.: Frequency gradients of DHCR7 mutations in patients with Smith-Lemli-Opitz syndrome in Europe: evidence for different origins of common mutations. **Eur. J. Hum. Genet.**, 2001, 9: 45-50.
2. **Krajewska-Walasek M.**, Małunowicz E. M., Ciara E., Popowska E., Chrzanowska K., Kozakiewicz-Goryluk B., Gajdulewicz M., Jezela-Stanek A., Rysiewski H. Najnowsze metody diagnozowania zespołu Smitha, Lemlego i Opitza. **Pediatrics Polska**, 2003, 78, 531-536
3. Witsch-Baumgartner M., Gruber M., Kraft H.G., Rossi M., Clayton P., Giros M, Haas D., Kelley R.I., **Krajewska-Walasek M.**, Uterman G. Maternal apo E genotype is a modifier of the Smith-Lemli-Opitz syndrome. **J Med Genet** 2004, 41, 577-584
4. Ciara E., Nowaczyk M.J.M., Witsch-Baumgartner M., Małunowicz E., Popowska E., Jezela-Stanek A., Piotrowicz M., Waye J.S., Utermann G., **Krajewska-Walasek M.** DHCR7 mutations and genotype-phenotype correlation in 37 Polish patients with Smith-Lemli-Opitz syndrome. **Clinical Genetics** 2004: 66, 517 – 524.
5. Witsch-Baumgartner M., Clayton P., Clusellas N., Haas D., Kelley R.I., **Krajewska-Walasek M.**, Lechner S., Rossi M., Zschocke J., Utermann G. Identification of 14 novel mutations in the *DHCR7* gene causing the Smith-Lemli-Opitz Syndrome and mutational spectra in Spain and Italy. **Human Mutation** (praca przyjęta do druku)
6. Ciara E., Popowska E., Piekutowska-Abramczuk D., Jurkiewicz D., Borucka-Mankiewicz M., Kowalski P., Goryluk-Kozakiewicz B., Nowaczyk M.J.N., **Krajewska-Walasek M.**: SLOS Carrier Frequency in Poland as Determined by Screening for Trp151X and Val326Leu DHCR7 Mutations (praca wysłana do druku)
7. Correa-Cerro L. S., Wassif C. A., Waye J. S., Krakowiak P. A., Cozma D., Dobson N. R., Levin S. W., Anadiotis G., Steiner R. D., **Krajewska-Walasek M.**, Nowaczyk M. J.M., Porter F.D. DHCR7 Nonsense Mutations and Characterization of mRNA Nonsense Mediated Decay in Smith-Lemli-Opitz Syndrome (praca wysłana do druku)
8. Kamińska-Winciorek G., Brzezińska-Wcisło L., Jezela-Stanek A., **Krajewska-Walasek M.** CHILD syndrome – clinical picture, diagnostic procedures and treatment (praca wysłana do druku)
9. Jezela-Stanek A, Malunowicz E. M., Ciara E., Popowska E, Goryluk-Kozakiewicz B., Spodar K., Jezuita J., **Krajewska-Walasek M.** Application of the invasive and new non-invasive methods to prenatal diagnosis of Smith-Lemli-Opitz syndrome(praca wysłana do druku)

Prace poglądowe:

10. **Krajewska-Walasek M.**, Małunowicz E.M., Ciara E., Popowska E., Chrzanowska K.H., Goryluk-Kozakiewicz B., Gajdulewicz M., Jezela-Stanek A., Spodar K. Diagnostyka kliniczna i molekularna zespołu Smitha, Lemlego i Opitza. **Problemy Medyczne** (Ukraina), 2004, 66-74
11. **Krajewska-Walasek M.** Zespół Smitha, Lemlego i Opitza – rozpoznawanie i postępowanie. **Postępy Neonatologii**, 2000, supl. I, 354-359.
12. **Krajewska-Walasek M.** Dymorfologia w praktyce neuropediatrycznej. **Neurologia Dziecięca**, 2000, 9, 137-153
13. Ciara E., Popowska E., **Krajewska-Walasek M.** Zespół Smitha, Lemlego i Opitza w badaniach klinicznych, biochemicznych i molekularnych. **Postępy Biologii Komórki**, 2003, 30, 293-310
14. Jezela-Stanek A., **Krajewska-Walasek M.** Szlak sygnałowy białek Sonic hedgehog. **Pediatrics Polska**, 2003, 78, 221-228
15. **Krajewska-Walasek M.** Rola szlaku sygnałowego sonic hedgehog we wczesnej embriogenezie i powstawaniu zespołów wad wrodzonych. W: **Postępy w medycynie matczyno-łożyskowej**. Ośrodek Wydawnictw Naukowych, Poznań, 2003, 32-36
16. **Krajewska-Walasek M.**, Jezela-Stanek A. Leczenie dietetyczne w zespole Smitha, Lemlego i Opitza. **Pediatrics Polska**, 2003, 78, 537-542