

Techniki cytogenetyczne w diagnostyce chorób układu nerwowego.

Kurs: „Genetyka i genomika
chorób neurologicznych”

Warszawa 24.06.2020

Kamila Ziemkiewicz

Zakład Genetyki Medycznej IMiD

kamila.ziemkiewicz@imid.med.pl

Choroby neurogenetyczne:

- niepełnosprawność intelektualna
 - padaczka
 - zaburzenia ze spektrum autyzmu
 - zaburzenia rozwojowe OUN
 - dystrofie mięśniowe
- oraz miopatie metaboliczne, zaniki mięśniowe pochodzenia rdzeniowego, demencja, depresja, ADHD, choroby: dysmielinizacyjne, demielinizacyjne, mitochondrialne

Przyczyny genetyczne:

- zaburzenia chromosomowe
- choroby monogenowe
- choroby poligenowe
- choroby wieloczynnikowe
- choroby mitochondrialne

Diagnostyka cytogenetyczna:

- Kariotyp klasyczny
- FISH
- MLPA
- aCGH

Badanie kariotypu – analiza liczby i morfologii chromosomów zatrzymanych w stadium metafazy (chromosom jest podziałową formą chromatyny)

Analizowany jest kariotyp konstytucyjny

- wrodzony**
- taki sam (zazwyczaj) dla wszystkich komórek somatycznych organizmu (wyjątki m.in.: mozaicyzm, chimeryzm)**

Badanie kariotypu poprzedzone jest hodowlą komórkową (znaczenie jakości, ilości oraz warunków i czasu transportu materiału)

Utrwalone chromosomy barwione są z zastosowaniem techniki prążkowej GTG

Wzór prążkowy chromosomów jest stały i specyficzny gatunkowo

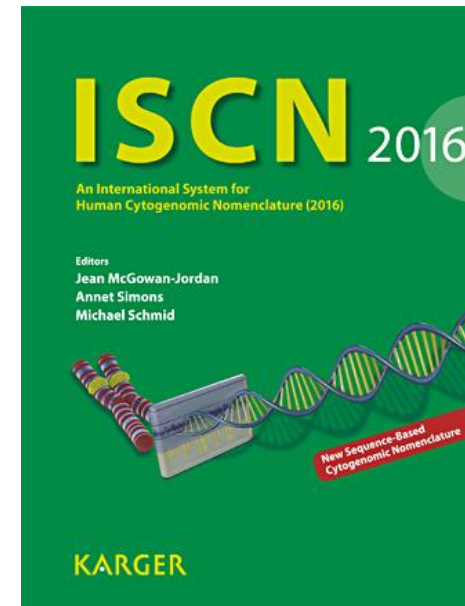
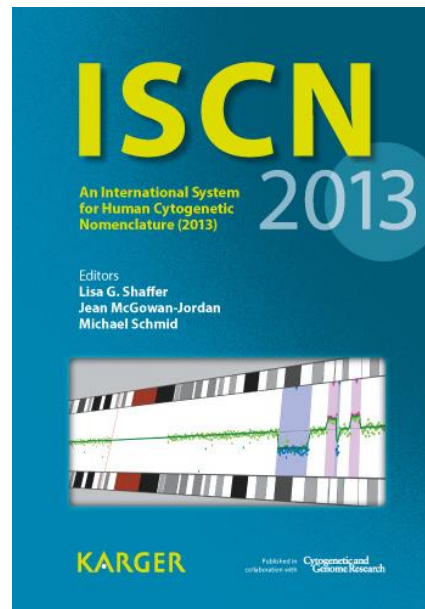
Aberracje chromosomowe będące przyczyną nieprawidłowego fenotypu:

Nie zrównoważone: (najczęściej)

- add
- del
- dic
- dup
- idic
- ins
- der
- rec
- mar
- r
- trisomie
- monosomia

Zrównoważone: (rzadko)

- t
- ins
- inv



Klasyczna analiza kariotypu

Zalety

- obejmuje cały genom
- wykrywa aberracje zrównoważone
- wykrywa niskoprocentowe mozaiki
- cena

Wady

- czasochłonność
- konieczność hodowli
- ryzyko „błędu ludzkiego”
- niska rozdzielczość – aberracje o rozmiarze min. 5 MB (teoretycznie!)



Ograniczone zastosowanie do diagnostyki izolowanych objawów chorób neurologicznych i chorób monogenowych, z wyjątkiem:

- r(20) w padaczkach
- zespołów związanych z niestabilnością chromosomową
- translokacji zrównoważonych z punktami złamań w obrębie genu



Epilepsy in ring chromosome 20 syndrome



Aglaia Vignoli^{a,b,*}, Francesca Bisulli^c, Francesca Darra^d, Massimo Mastrangelo^e,
Carmen Barba^f, Lucio Giordano^g, Katherine Turner^a, Elena Zambrelli^a, Valentina Chiesa^a,
Stefania Bova^e, Isabella Fiocchi^e, Angela Peron^{a,b}, Ilaria Naldi^c, Giuseppe Milito^g,
Laura Licchetta^c, Paolo Tinuper^c, Renzo Guerrini^f, Bernardo Dalla Bernardina^d,
Maria Paola Canevini^{a,b}

^a Epilepsy Center, San Paolo Hospital, Milano, Italy

^b Department of Health Sciences, University of Milan, Milano, Italy

^c IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna and Department of Biomedical and Neuromotor Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy

^d Department of Life and Reproduction Sciences, University of Verona, Verona, Italy

^e Pediatric Neurology, V. Buzzi Hospital, ICP, Milan, Italy

^f Pediatric Neurology, A. Meyer Children's Hospital, University of Florence, Florence, Italy

^g Child Neuropsychiatric Division, Spedali Civili, Brescia, Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 May 2016

Received in revised form

29 September 2016

Accepted 22 October 2016

Available online 24 October 2016

Keywords:

Ring chromosome 20 syndrome

Age-dependent course

Seizure semiology

Epileptic encephalopathy

ABSTRACT

Objective: Ring chromosome 20 syndrome is characterized by severe, drug resistant childhood onset epilepsy, often accompanied by cognitive impairment. We characterized the electro-clinical phenotype and the long-term course of epilepsy in a large series.

Methods: We reviewed the electro-clinical phenotype of 25 patients (aged 8–59 years), and assessed the relationship between epilepsy severity and clinical and/or genetic variables. We also searched for reports of patients diagnosed with r(20) syndrome in the literature, included those whose clinical information was sufficiently accurate, and compared their clinical features with the ones of our patients.

Results: Epilepsy exhibited an age dependent course. When seizure onset occurred in childhood (21 patients), terrifying hallucinations associated with focal motor seizures, often sleep-related (8 patients), or dyscognitive seizures (13 patients), were prominent features, often evolving into epileptic encephalopathy associated with non-convulsive status epilepticus (11 patients). In the long-term, progressive stabilization of drug resistant epilepsy associated with non-convulsive status epilepticus, focal seizures with motor and autonomic features, and eyelid myoclonia were noticed. Epilepsy onset in adolescence (3 patients) was accompanied by a milder developmental course, dyscognitive seizures and non-convulsive status epilepticus, and no cognitive decline. Only three older patients became seizure free (>5 years). We found statistically significant correlations between age at epilepsy onset and cognitive level. Although in the study cohort the relationship between r(20) ratio, age at epilepsy onset and cognitive level was non-statistically significant, it reached significance evaluating the larger cohort of patients previously published.

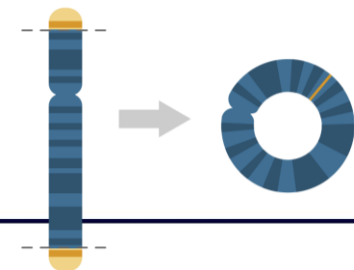
Significance: In ring(20) syndrome, epilepsy has an age dependent course and a worse outcome when age at seizure onset is earlier. The r(20) ratio and severity of cognitive impairment appear to be directly related to each other and inversely correlated with the age at epilepsy onset.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

Pacjentka: Padaczka oporna na leczenie. Napady częściowe złożone
(Complex partial seizures)



Ring chromosome 20 epilepsy syndrome.



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

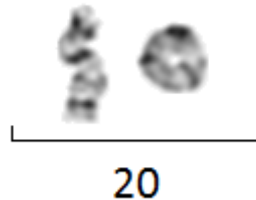
Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



edu-metgen.imid.med.pl

Ring chromosome 20 epilepsy syndrome.

- Rozwój prenatalny i początkowy postnatalny prawidłowy
- Brak charakterystycznych cech dysmorficznych
- Przed ukończeniem 4-6 r.ż padaczka skroniowa
- Spowolnienie rozwoju psychoruchowego
- Może wystąpić regres rozwoju
- Zaburzenia behawioralne i adaptacyjne
- Częsty status epilepticus
- Mogą wystąpić: mikrocefalia, spowolniony i niski wzrost
- Napady nocne
- Lekooporność



Diagnostyka cytogenetyczna: analiza minimum **50** komórek limfocytów

r(20) - **underdiagnosed** syndrome !

Aberration	Incidence of seizures	
	Numbers with seizures/ number observed patients any age	Percentage with seizures
Distal deletion of 1p including 1p36.3	13/21 [17]	62 [76]
Distal deletion of 4p including 4p16.3	121/209 [160]	58 [76]
Trisomy 8 mosaicism	17/117 [89]	15 [19]
Trisomy 9p	13/111 [90]	12 [14]
Trisomy 9 mosaicism	3/44 [13]	7 [23]
Pallister-Killian syndrome (tetrasomy 12p mosaicism)	30/82 [40]	36 [75]
WAGR syndrome (deletion of 11p 13)	2/59 [49]	3 [4]
Deletion of 13q (q14)	0/6 [2]	0 [0]
Duplication of 13q (q14→ qter)	9/23 [16]	39 [56]
Uniparental disomy 14 mat	0/18 [13]	0 [0]
Angelman syndrome, maternal deletion of 15 q 11,2 → q12	70/77 [76]	91 [92]
Prader-Willi syndrome, paternal deletion of 15q 11.→ q12	3/39 [30]	7 [10]
Ring chromosome 15	7/45 [37]	15 [19]
Tetrasomy 15 pter→ q13, inv dup(15)(q13)	57/88 [84]	65 [68]
Uniparental disomy 15 mat	1/29 [21]	3 [5]
Uniparental disomy 15 pat	16/21 [21]	76 [76]
Miller-Dieker syndrome, deletion of 17p 13.3	7/10 [7]	70 [100]
Smith-Magenis syndrome, deletion of 17p 11.2	12/81 [74]	15 [16]
Tetrasomy 18p	15/77 [60]	19 [25]
Ring chromosome 20	14/15 [15]	92 [92]
Deletion of 22q 11.2	19/208 [149]	9 [13]
Cat eye syndrome, triplication of 22pter → q11	6/86 [50]	7 [12]
Unbalanced 11;22 translocation with tris- omy 11q23 → qter and 22pter → q11	20/128 [76]	16 [26]
Triploidy	2/104 [2]	2 [100]

In Brackets only cases at ages > 1 year at last examination.

TABLE I. Incidence of Epilepsy in Selected Autosomal Chromosome Aberrations*

Chromosome Imbalances Associated With Epilepsy

ALBERT SCHINZEL AND DUNJA NIEDRIST

American Journal of Medical Genetics (Semin. Med. Genet.)

106:119±124 (2001)



Fundusze
Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



edu-metgen.imid.med.pl

Zespoły niestabilności chromosomowej z objawami neurologicznymi

- **Zespół ataksja – teleangiektazja** – diagnostyka cytogenetyczna
- Zaburzenia podobne do ataksji-teleangiektazji
- Zespół Blooma
- Skóra pergaminowa
- Zespół Robertsa

Zespół ataksja- teleangiektazja; zespół niestabilności chromosomowej

Objawy:

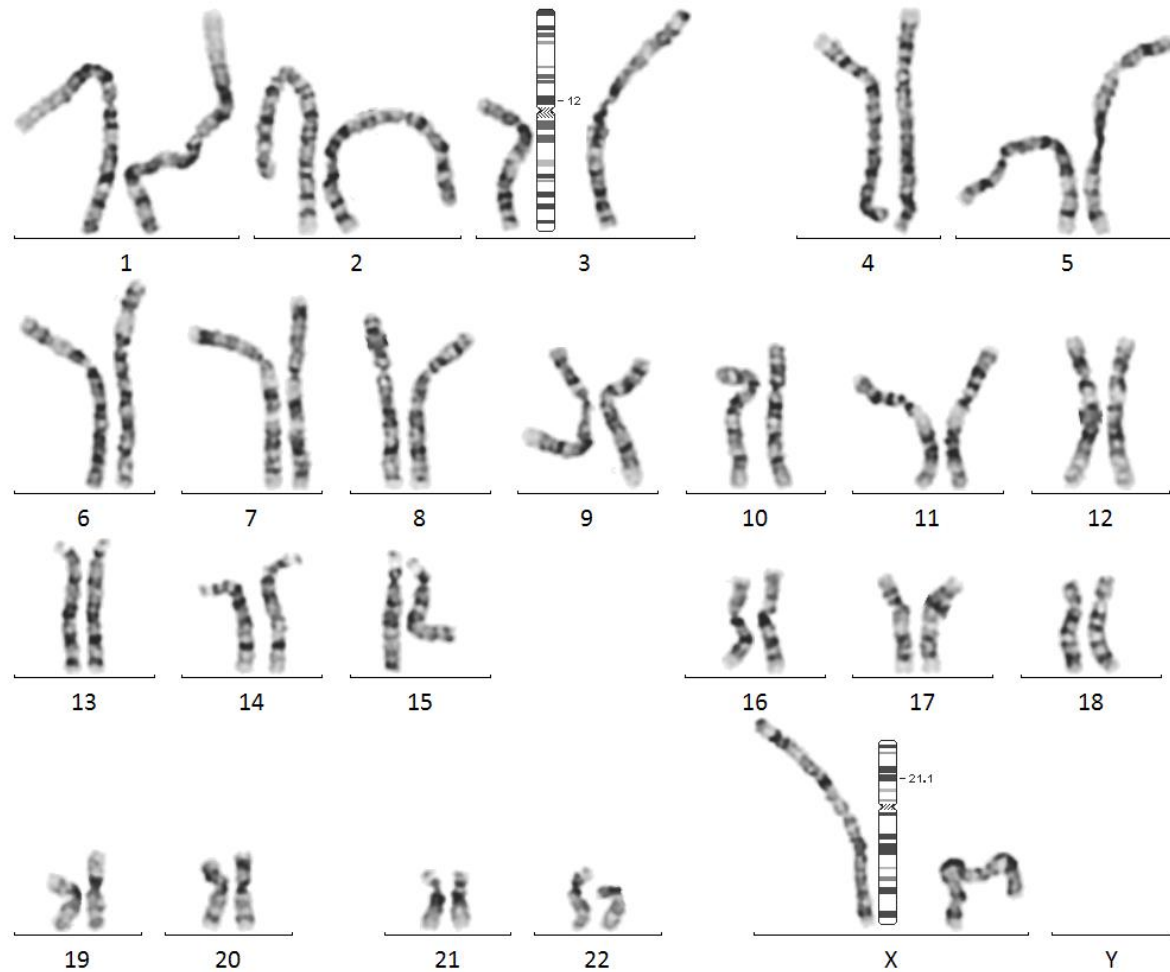
- teleangiektazje skóry i gałek ocznych
- niedobory immunologiczne
- predyspozycja do nowotworów (25% głw. chłoniaki, białaczki)
- **objawy neurologiczne:**
 - ataksja mózdkowa
 - zaburzenia równowagi
 - problemy z chodem
 - oczopląs
 - ruchy mimowolne
 - spowolniona, niewyraźna mowa
- Dziedziczenie autosomalny recesywne.
- Mutacją w genie ATM, chromosom 11q22-23
- ATM → białko należące do rodziny kinaz 3-fosfatydyloinozytolu - udział w naprawie DNA i regulacji cyklu komórkowego.
- częstość 1:40000 do 1:100000 żywych urodzeń

W analizie kariotypu najczęściej obserwuje się złamania w regionach:

7q35, 7p14, 7q35, 14q11, 14q12, 14q32, 14qter, 2p11, 2p12, 22q11-q12



Pacjentka z DMD – diagnostyka cytogenetyczna



46,XX,t(X;3)(q21.1;p12)



Contents lists available at ScienceDirect

Seizure

journal homepage: www.elsevier.com/locate/yseiz



Review

Epilepsy and chromosome 18 abnormalities: A review



Alberto Verrotti^{a,*}, Alessia Carelli^a, Lorenza di Genova^a, Pasquale Striano^b

^a Department of Pediatrics, Perugia University, Perugia, Italy

^b Pediatric Neurology and Muscular Diseases Unit, Department of Neurosciences, Rehabilitation, Ophthalmology, Genetics, Maternal and Child Health, University of Genoa, G. Gaslini Institute, Genova, Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 April 2015

Received in revised form 8 June 2015

Accepted 19 September 2015

Keywords:

Chromosome 18

Chromosomal aberrations

Epilepsy

Seizures

ABSTRACT

Purpose: To analyze the various types of epilepsy in subjects with chromosome 18 aberrations in order to define epilepsy and its main clinical, electroclinical and prognostic aspects in chromosome 18 anomalies.

Methods: A careful overview of recent works concerning chromosome 18 aberrations and epilepsy has been carried out considering the major groups of chromosomal 18 aberrations, identified using MEDLINE and EMBASE database from 1980 to 2015.

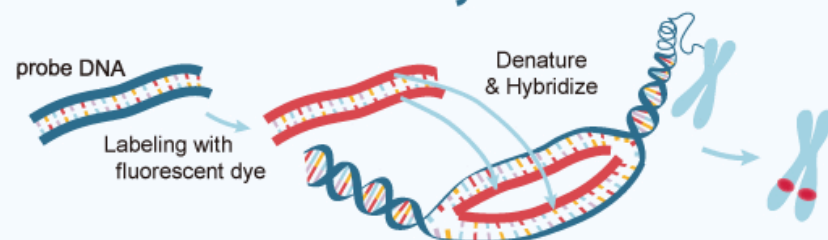
Results: Epilepsy seems to be particularly frequent in patients with trisomy or duplication of chromosome 18 with a prevalence of up to 65%. Approximately, over half of the patients develop epilepsy during the first year of life. Epilepsy can be focal or generalized; infantile spasms have also been reported. Brain images showed anatomical abnormalities in 38% of patients. Some antiepileptic drugs as valproic acid and carbamazepine were useful for treating seizures although a large majority of patients need polytherapy.

Conclusion: Children with chromosomal 18 abnormalities can present different types of epilepsy, more frequently focal seizures in individuals with 18q- deletion syndrome, while both complex partial seizures and generalized tonic-clonic seizures have been described in patients who suffer for trisomy 18. Outcome in term of seizures frequency and duration seems to be variable and epilepsy is drug resistant in half of the children, especially in children with trisomy 18 and generalized epilepsy.

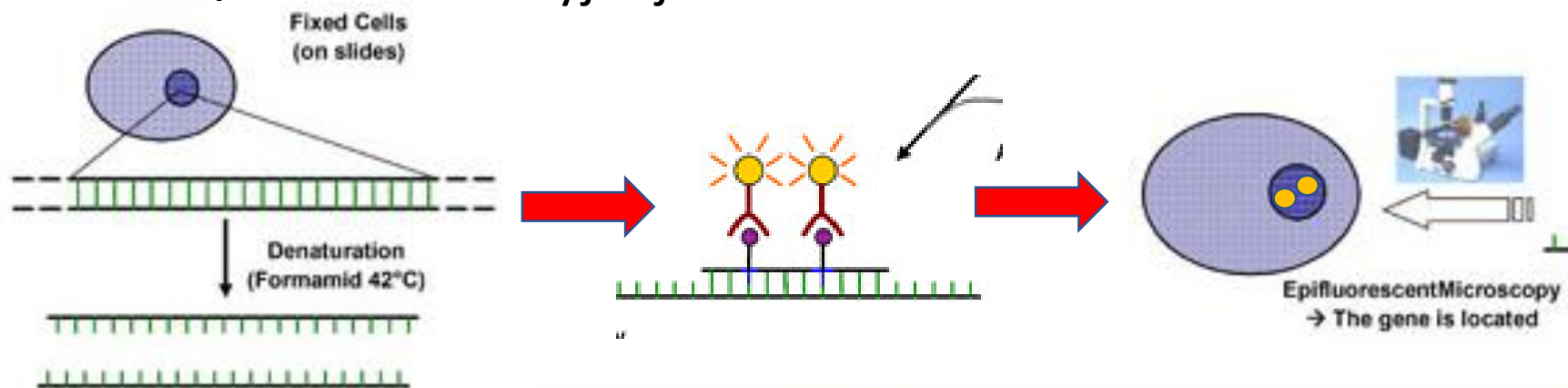
© 2015 British Epilepsy Association. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

FISH – fluorescencyjna hybrydyzacja in situ

Fluorescence In Situ Hybridization



- Wprowadzona w roku 1969 (Gall & Pardue, 1969)
- Technika służąca do wykrywania w materiale genetycznym określonej sekwencji DNA za pomocą sond fluorescencyjnych.
- W celu analizy badanego materiału konieczne jest użycie mikroskopii fluorescencyjnej.



Rodzaje sond do FISH

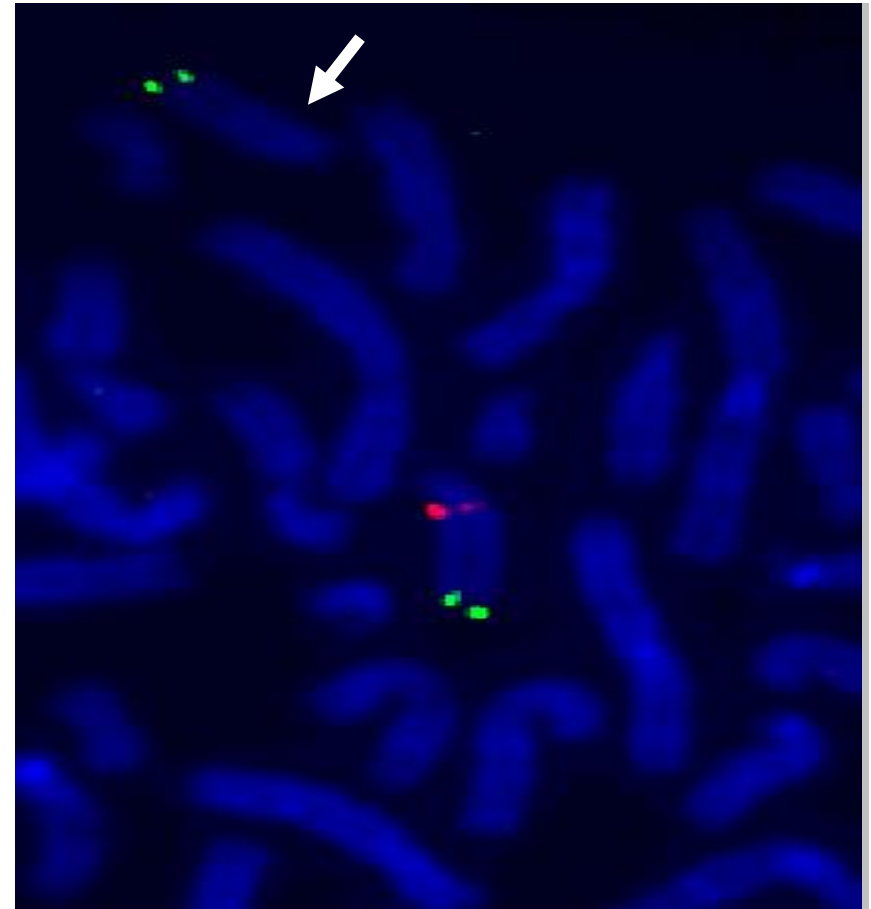
- malujące
- centromerowe
- subtelomerowe
- locus-specyficzne

Hybrydyzacja:

- do chromosomów metafazowych
- do jąder interfazowych

Czułość metody:

! ok. 40-250 kpz



sonda PWS/AS

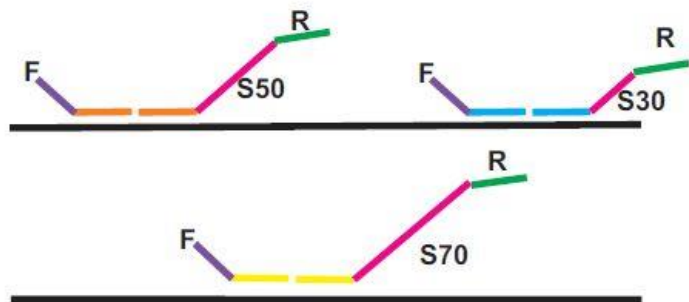
Analiza metodą FISH

Zalety

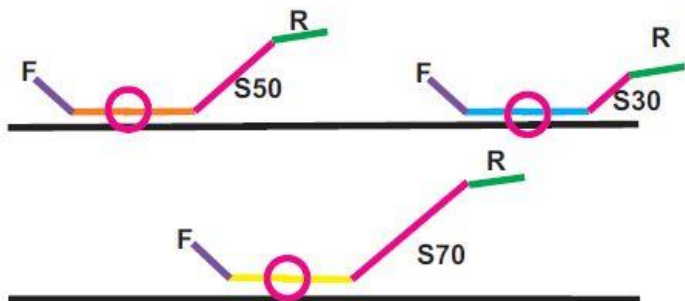
- duży wybór sond komercyjnych
- cena
- weryfikacja obecności del/dup w badaniach rodzinnych
- możliwość wykrycia zrównoważonych aberracji w badaniach rodzinnych
- możliwość wykrycia niskoprocentowego mozaicyzmu

Wady

- badanie obejmuje tylko konkretny region na podstawie podejrzenia klinicznego
- fałszywie ujemne wyniki gdy wielkość del < wielkość sondy
- brak automatyzacji → pracochoćność
- konieczność hodowli komórkowej

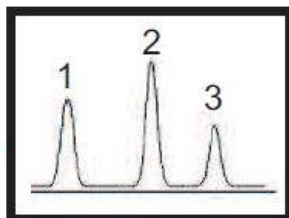


1. Hybrydyzacja
sond połówkowych



2. Ligacja

3. PCR



4. Rozdział
kapilarny
z odczytem
fluorescencji

Legenda:

F, R - sekwencje przyłączania uniwersalnych starterów

S30, S50, S70 - "stuffery" o wielkości 30,50,70 nukleotydów

MLPA

Zasada metody:

Zhybryzowane do DNA sondy oligonukleotydowe są łączone przez ligazę i powielane w reakcji PCR z odpowiednimi starterami. Liczba produktów takiej reakcji jest proporcjonalna do liczby kopii badanej sekwencji DNA.

dolinabiotechnologiczna.pl

edu-metgen.imid.med.pl

Analiza metodą MLPA

Zalety

- możliwość analizy wielu loci w jednym badaniu
- automatyzacja
- nie wymaga hodowli komórkowej
- cena

Wady

- nie wykrywa aberracji zrównoważonych
- badanie ograniczone do określonej liczby loci w zależności od zastosowanego zestawu

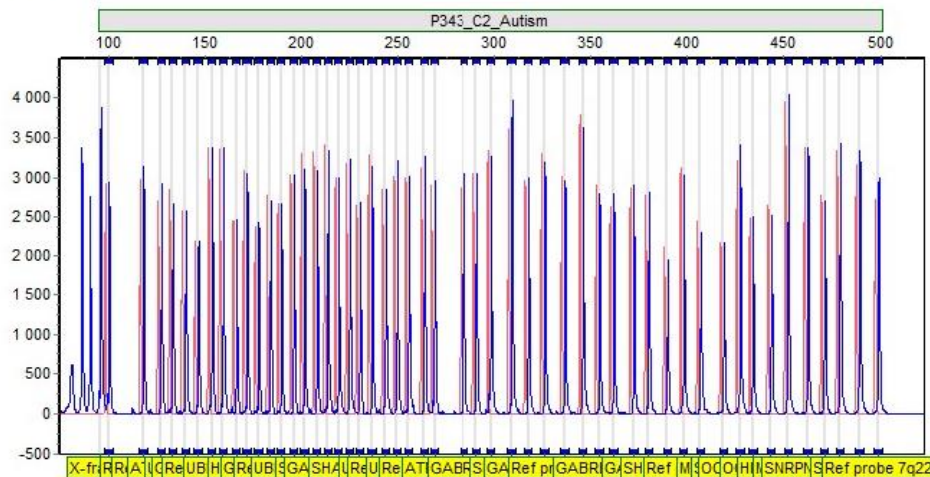
MLPA:

- subtelomerowe
- mikrodelecyjne
- autystyczne

MLPA -autyzm

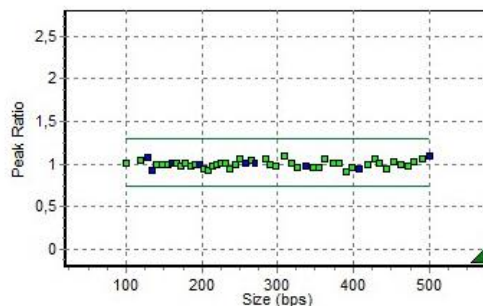
MLPA Analysis Report - SoftGenetics	
Software: GeneMarker V1.75	Analysis Type: MLPA
Project: Untitled	Compare Type: MLPA Ratio
Technician:	Normalization By: Population Normalization
Report Time: 06/25/2019 - 11:15:44	Quantification By: Peak Height
Panel: P343_C2_Autism	Classification: Loss < 0.75 <= Equivalent <= 1.30 < Gain
Control: Synthetic Control Sample	Report Value Type: Peak Ratio
Synthetic Used: 110982_F01.fsa /// 110988_G01.fsa /// 110989_H01.fsa	

110982_F01.fsa



Sample Name: 110982
Machine: 3500 Instrument
Run Time: 06/24/2019 - 14:49:18 -> 06/24/2019 - 15:33:43

Conclusion		
	Date	Initial
Authorization 1		
Authorization 2		



	Probe Name	Bin Size	110982_F01
1	APBA2	208.1	0.929
2	ATP10A-exon 1	140.1	1.000
3	ATP10A-exon 1	284.5	1.067
4	CD2BP2	346.5	0.958
5	CHRNA7	291.3	1.000
6	DOC2A	230.4	1.016
7	GABRB3-exon 1	390.2	0.912
8	GABRB3-exon 1	298.9	0.979
9	GABRB3-exon 1	225.0	1.016
10	GABRB3-exon 4	362.3	1.062
11	GABRB3-exon 7	189.6	0.998
12	GABRB3-exon 8	326.7	0.970
13	GABRB3-exon 9	153.7	1.001
14	HRIP3-exon 3	177.8	1.021
15	HRIP3-exon 4	452.7	1.025
16	KLF13	171.9	0.987
17	LAT	479.5	1.026
18	MAPK3-exon 5	462.8	1.000
19	MAZ-exon 5	243.7	1.002
20	MAZ-exon 6	419.3	1.000
21	MVP	354.9	0.961
22	NDNL2	184.1	0.978
23	OCA2-exon 1	443.9	0.950
24	OCA2-exon 22	434.4	1.007
25	Ref probe 11q1	159.5	1.009
26	Ref probe 11q2	255.7	1.010
27	Ref probe 12q2	133.6	0.936
28	Ref probe 17q1	127.6	1.080
29	Ref probe 19p1	196.2	1.001
30	Ref probe 1q44	269.0	1.021
31	Ref probe 3q11	337.1	0.984
32	Ref probe 7p14	407.3	0.941
33	Ref probe 7q22	499.3	1.100
34	SCG5-exon 3	489.5	1.059
35	SCG5-exon 6	427.7	1.062
36	SEZ6L2	213.7	0.975
37	SHANK3-exon 1	398.6	0.970
38	SHANK3-exon 2	236.6	0.951
39	SHANK3-exon 3	318.2	1.012
40	SNRPN-HB2-85	219.3	1.003
41	SNRPN-HB2-85	471.4	0.979
42	SPN	372.7	1.014
43	TJP1	309.7	1.101
44	TRPM1	380.5	1.012
45	UBE3A-exon 12	249.7	1.064
46	UBE3A-exon 13	263.8	1.050
47	UBE3A-exon 6	201.7	0.939
48	UBE3A-exon 7	166.4	1.011
49	UBE3A-exon 9	146.7	1.002
50	X-fragment	100.4	1.007
51	Y-fragment	118.5	1.053

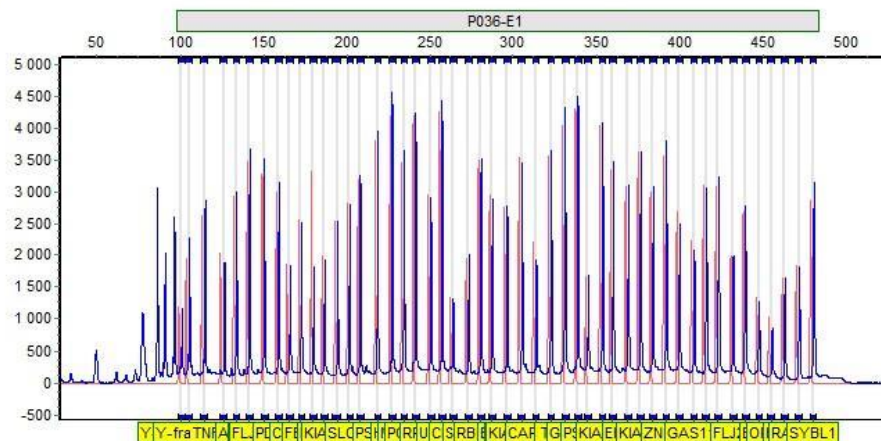
del i dup:

- 15q11-q13
- **UBE3A**
- **GABRB3**
- 15q13
- **CHRNA7**
- 16p11
- 22q13
- **SHANK**

MLPA subtelomerowe

MLPA Analysis Report - SoftGenetics	
Software: GeneMarker V1.75	Analysis Type: MLPA
Project: Untitled	Compare Type: MLPA Ratio
Technician:	Normalization By: Population Normalization
Report Time: 10/30/2014 - 13:01:18	Quantification By: Peak Height
Panel: P036_E1_30_03	Classification: Loss < 0.75 <= Equivalent <= 1.30 < Gain
Control: Synthetic Control Sample	Report Value Type: Peak Ratio
Synthetic Used: gm_2420_1.fsa /// gm_3461_1.fsa /// gm_3644_1.fsa /// gm_4066_1.fsa /// gm_4093_1.fsa /// gm_4118_1.fsa /// gm_4125_1.fsa /// gm_4181_1.fsa /// gm_4238_1.fsa /// gm_4239_1.fsa ...	

gm_4181_1.fsa

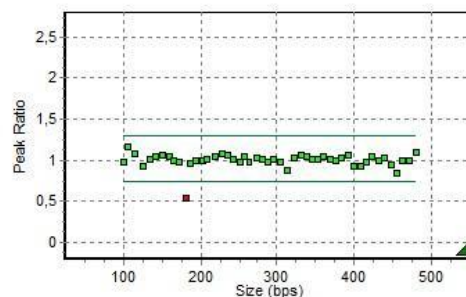


Sample Name: 4184

Machine: 3130-19335-037

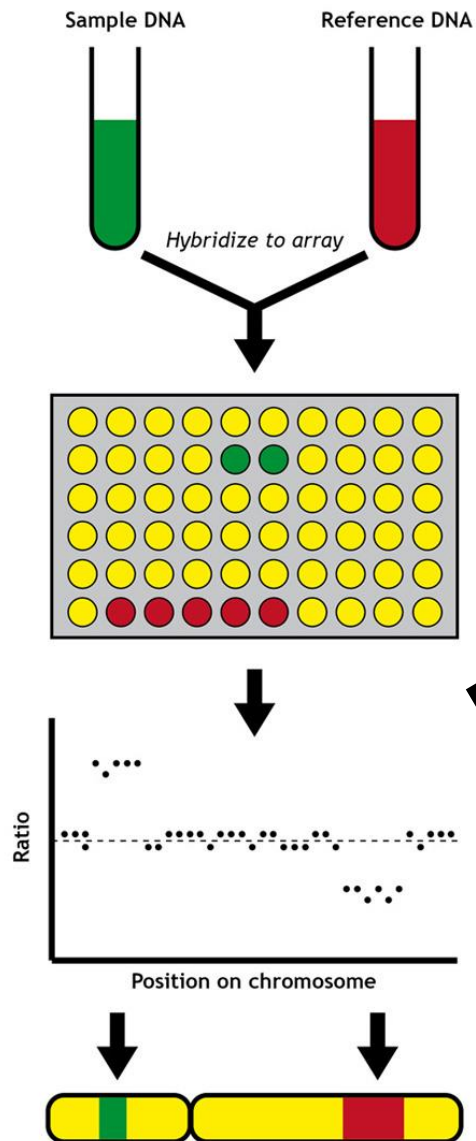
Run Time: 10/29/2014 - 17:50:19 -> 10/29/2014 - 18:21:13

Conclusion		
	Date	Initial
Authorization 1		
Authorization 2		



	Probe Name	Bin Size	gm_4181_1
1	ACP1	133.9	1.022
2	ALDH1A3	416.0	0.988
3	BC-2	447.9	0.949
4	BDH	323.3	1.025
5	BID	288.0	0.977
6	CAPN10	314.1	0.871
7	CDC34	264.4	0.982
8	CENTA1	172.9	0.980
9	CHL1	142.0	1.050
10	DMRT1	186.8	0.968
11	EHMT1	369.4	1.008
12	F7	400.2	0.929
13	FBXO25	180.3	0.547
14	FLJ20265	150.8	1.072
15	FLJ21172	439.9	1.030
16	GAS11 / GAS8	423.6	1.046
17	GNB2L1	339.3	1.047
18	HEH10	227.5	1.089
19	HMT1	463.4	0.993
20	IRF4	165.6	0.997
21	KIAA0056	384.3	1.027
22	KIAA0150	360.4	1.039
23	KIAA0934	194.5	0.998
24	KIAA1720	305.6	0.978
25	MKRN3	234.4	1.059
26	MTA1	408.8	0.934
27	OPRL1	455.2	0.839
28	PAO	376.9	1.003
29	POCD6	159.4	1.050
30	POLR3K	241.4	1.010
31	PSMB1	345.5	1.006
32	PSPC1	218.6	1.042
33	RABL2B	471.7	0.988
34	RBM11	281.3	1.005
35	RIC-8	202.0	0.998
36	RPH3AL	250.3	0.984
37	SHOX	296.8	1.007
38	SLC6A12	208.3	1.020
39	SOX12	273.9	1.027
40	SYBL1	480.3	1.096
41	TBCD	432.5	0.998
42	TNFRSF4	125.8	0.924
43	TRIML2	331.7	1.068
44	USP14	257.0	1.041
45	VIPR2	354.0	1.013
46	X-fragment	100.9	0.987
47	Y-fragment-01	105.3	1.170
48	Y-fragment-02	114.7	1.088
49	ZNF10	392.3	1.067

del 8p23.3



array
CGH

Scanning

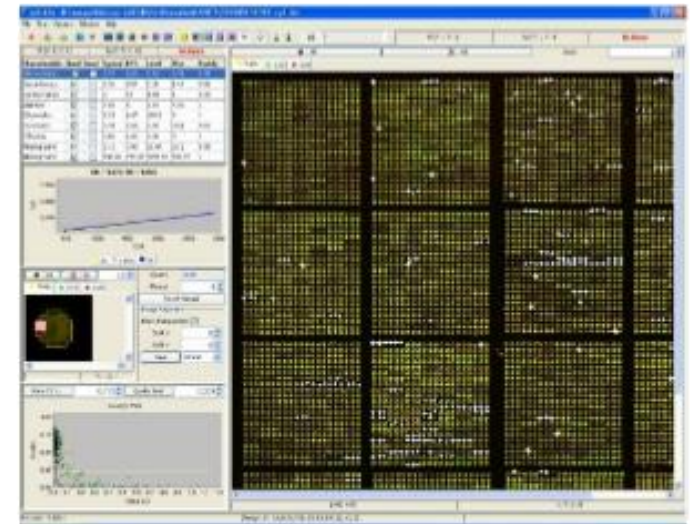
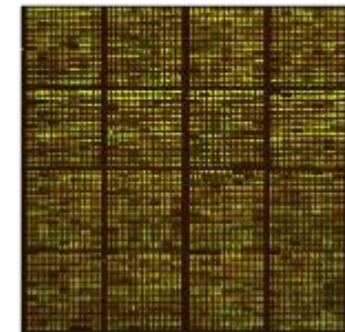


Image analysis software



Image



Fundusze
Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



edu-metgen.imid.med.pl

Analiza metodą aCGH

Zalety

- obejmuje cały genom
- automatyzacja
- nie wymaga hodowli komórkowej
- badane są wszystkie kom jądrowe krwi
- czas badania
- wysoka czułość: od 5-10 kpz (średnio 30kpz)

Wady

- nie wykrywa aberracji zrównoważonych
- nie wykrywa mozaicyzmu poniżej kilkunastu - 20%
- cena

aCGH przeznaczone m.in. dla pacjentów z:

- NI
- padaczką
- autyzmem

aCGH aberration report

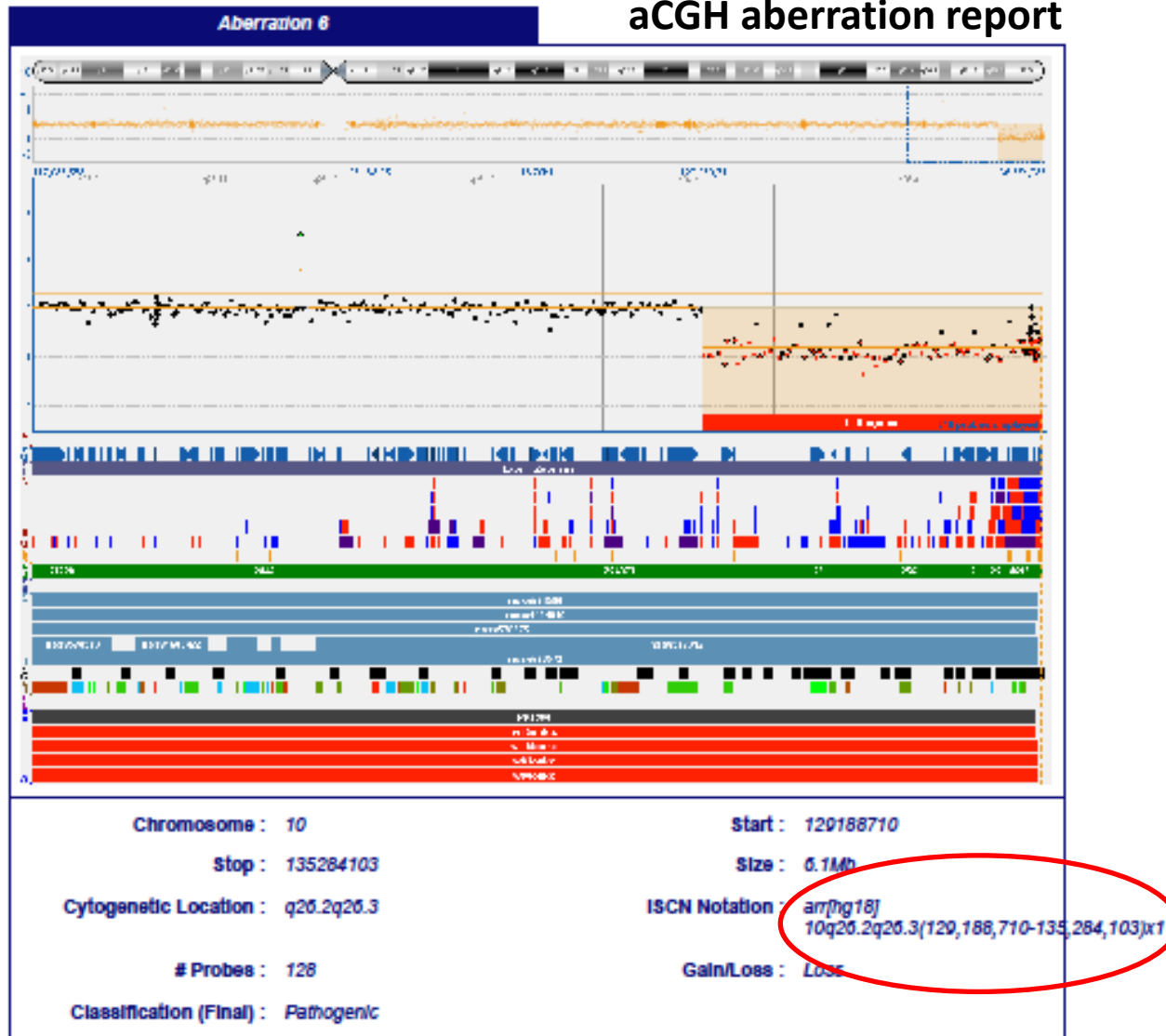
	Chromosome	Cytogenetic Location	Start	Stop	Size	Gain/Loss	Classification (Final)
1	1	q31.3	195011544	195212089	200.54Kb	Gain	Benign
2	1	q44	244072156	247179289	3.11Mb	Gain	Pathogenic
3	5	q11.1	50075700	50177203	101.5Kb	Loss	Benign
4	7	q11.21	61469279	61668195	198.92Kb	Gain	Benign
5	7	q36.3	158742576	158750796	8.22Kb	Loss	Benign
6	10	q26.2q26.3	129188710	135284103	6.1Mb	Loss	Pathogenic
7	14	q32.33	106219757	106253696	33.94Kb	Gain	Benign
8	17	q21.31	41404333	41706932	212.6Kb	Gain	Benign
9	X	p22.33	756072	1287659	531.59Kb	Gain	Benign
10	X	p22.33	1715648	1718985	3.34Kb	Gain	Benign
11	X	p22.33	1896244	1901095	4.85Kb	Gain	Benign



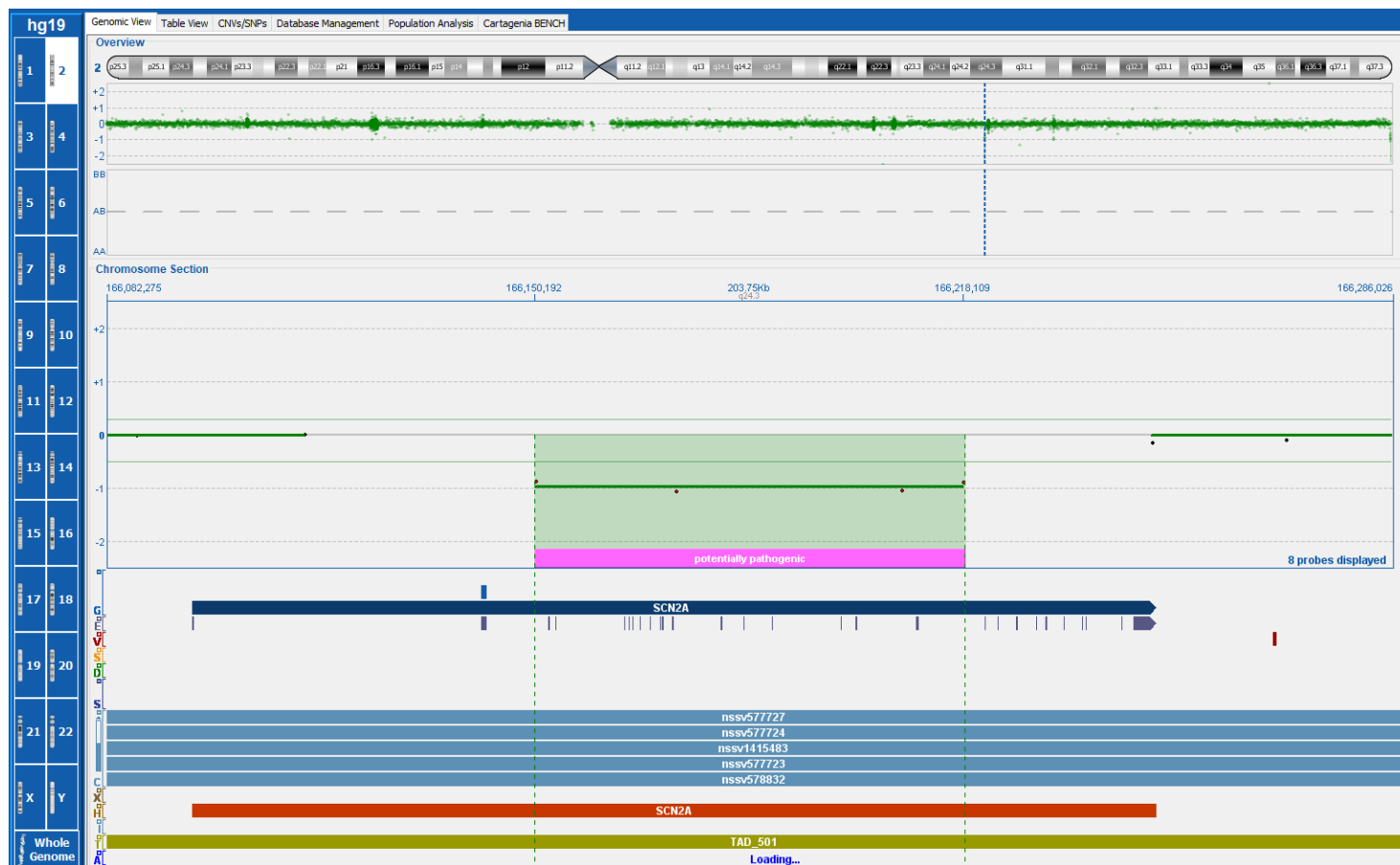
aCGH aberration report



aCGH aberration report



arr[GRCh37] 2q24.3(166150192_166218109)x1



Stwierdzono nie zrównoważenie genomu w postaci delecji długiego ramienia chromosomu 2 w regionie 2q24.3 o wielkości ~68 kpz.

Delecja obejmuje eksony 1-17 genu **SCN2A** (OMIM: 182390)¹. Mutacje tego genu opisywane są u pacjentów z wczesnodziecięcą encefalopatią padaczkową typu 11 (OMIM: 613721)¹, łagodnymi rodzinnymi drgawkami dziecięcymi typu 3 (OMIM: 607745)¹ oraz zaburzeniami ze spektrum autyzmu¹.