

Genomo persitvarkymai, esant įgimtiems centrinės nervų sistemos raidos sutrikimams: kilmė, genominiai mechanizmai, funkcinės ir klinikinės pasekmės.

Darbų apžvalga

V. Kučinskas
E. Preikšaitienė
L. Ambrozaitytė
L. Cimbalistienė
A. Utkus

Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Žmogaus ir medicininės genetikos katedra

Santrauka. Turintieji intelektinę negalią sudaro apie 1–2 % bendros populiacijos. Tai yra viena svarbiausių socialinių ir ekonominių sunkumų sričių sveikatos priežiūros sistemoje. Intelektinės negalios genolinių priežasčių tyrimai yra sudėtingi, kadangi šios būklės yra genetiškai heterogeninės. Jas lemia daug skirtingų genolinių pokyčių, kurie dažnai pasireiškia kliniškai persidengiančiais požymiais. Siekiant nustatyti šių būklių genetines priežastis, moksliniuose tyrimuose taikomos plataus masto molekulinės technologijos. Mūsų atliktų tyrimų metu, nustatant intelektinės negalios molekulinę priežastis, chromosominiai pokyčiai efektyviausiai nustatyti, taikant molekulinio kariotipavimo metodą ir naujos kartos sekoskaitos technologijomis identifikuojant patogeninius bet kurio žmogaus geno variantus. Bendradarbiaujant su kitų šalių mokslo institucijomis, atlikti retų intelektinę negalią lemiančių genolinių pokyčių klininių pasekmių molekuliniai ir funkciniai tyrimai leido išsamiau charakterizuoti retus žinomas ir naujus sindromus. Manome, kad naujos įžvalgos apie intelektinės negalios molekulinę priežastis ir patogenezės mechanizmus gali būti naudingos ateityje kuriant gydymo galimybes.

Raktažodžiai: genomo persitvarkymai, CNS raidos sutrikimai, intelektinė negalia, Alkura-Kučinskas sindromas.

ĮVADAS

Galvos smegenų raida priklauso nuo tikslų proliferacijos, migracijos ir brendimo sekos įvykių. Tikslė genetinė kontrolė yra būtina nervinio vamzdelio, iš kurio vėliau vystysis trys pūslės: *prosencephalon*, *mesencephalon* ir *rhombencephalon*, formavimuisi užtikrinti. Vėlesnių raidos įvykių metu susiformuoja smegenų pusrutuliai su šešių sluoksnių *neocortex*, specializuotu kelių milimetrų storio audiniu, svarbiu ir žmogaus elgsenai. Kiekvienas raidos ar funkcinis *neocortex* sutrikimas gali lemti psichomotorinės raidos sutrikimą, intelektinę negalią (IN) ir (ar) epilepsiją.

Adresas:

Vaidutis Kučinskas
Medicininės genetikos centras,
VUL SK, Santariškių g. 2, Vilnius
El. paštas vaidutis.kucinskas@mf.vu.lt

Žievės neuronai formuojasi ir vystosi periventriculinėje smegenų zonoje, iš kurios vėliau migruoja į smegenų pusrutulių paviršių. Net jei šie neuronai pasiekia savo galutinę migracijos vietą ir normaliai sąveikauja tarpusavyje, jie gali būti pažeisti toksinių metabolitų, sergant metabolinėmis ligomis (toksinė neurodegeneracija). Galimas ir variantas, kai neuronai pasiekia galutinę savo migracijos vietą, tačiau sutrinka tarpusavio sąveika dėl sumažėjusių brandžių sinapsių jungčių skaičiaus ir nepakankamos sinapsių transmisijos. Tai gali lemti nespecifines IN formas, susijusias su genų, esančių X chromosomoje, mutacijomis. Šie genai dalyvauja citoskeleto ir neuritų raidos ar sinapsių pūslėlių ciklo kontrolėje. Sinapsių formavimasis pirmaisiais gyvenimo mėnesiais vyksta labai greitai, jų tankio maksimumas pasiekiamas tarp 6 ir 12 mėnesių amžiaus. Vėliau jų sumažėja dėl natūralios selekcijos.

Centrinės nervų sistemos (CNS) raidos sutrikimą rodo IN. Tai taip pat vadinama protine negalia. IN yra deskrip-

© Neurologijos seminarai, 2022. Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License CC-BY 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

tyvus terminas, kuriuo apibūdinama sumažėjusi daugiau nei vidutinė intelektinė funkcija ir adaptacinių įgūdžių ribotumas, pasireiškiantis iki 18 metų amžiaus. Turintieji IN sudaro 1–2 % įvairiose populiacijose. Priklausomai nuo sunkumo laipsnio, IN gali būti lengva, vidutinio sunkumo, sunki ir labai sunki.

Dėl savo heterogeninės etiologijos IN yra vienas iš sudėtingiausių sutrikimų [1]. Aplinkos veiksniai lemia apie 20 % vidutinės bei sunkios IN ir apie 10 % lengvos IN atvejų: galvos smegenys dažniausiai pažeidžiamos prenataliai arba ankstyvoje kūdikystėje dėl infekcijos, neišnešiotumo, perinatalinės anoksijos, hipotirodizmo, alkoholio vartojimo nėštumo metu ir kitų priežasčių. Manoma, kad dviem trečdaliams pacientų IN priežastys – genetinės. Tai yra citogenetiškai matomi chromosominiai persitvarkymai ir submikroskopiniai DNR kopijų skaičiaus pokyčiai, taškinės genų mutacijos, epigenetiniai veiksniai ir daugiaveiksniai sutrikimai. Pastaruoju metu vis daugiau nustatoma naujų, su IN siejamų, genetinių priežasčių. Tai lėmė reikšminga pažanga molekulinės citogenetikos ir molekulinės genetikos srityse. Šiuo metu žinoma daugiau nei 60 chromosominių sričių, kurių mikrodelecijos ar mikroduplikacijos lemia su IN siejamus sindromus, ir daugiau nei 700 genų, kurių funkcijos sutrikimas turi įtakos IN pasireikšti. Sindrominės IN formos yra susijusios su epilepsija, paveldimomis medžiagų apykaitos ligomis, CNS bei kitų organų raidos defektais (pvz., širdies, virškinimo sistemos ir kt.) ir yra apie 2000 sindromų, kai vienas iš požymių – IN.

Didelės penetracijos, monogeninės ligos, kurių tam tikros dalies priežastis yra *de novo* mutacijos, lemia apie 20 % kūdikių mirtingumą ir 10 % visų pediatriinių hospitalizacijų. Todėl didelis finansinis krūvis tenka visai sveikatos apsaugos sistemai ir šeimoms. Daliai vaikų, kurių ligos priežastys yra genetinės, liga lieka nediagnozuota arba diagnozė nustatoma vėlai. Tai lemia adekvačios stebėsenos nepakankamumą, pakartotinės rizikos šeimoje neįvertinimą ir daromas klaidas bei neigiamos psichosocialinės aplinkos susiformavimą šeimoje. Nežinant IN genetinių priežasčių, užkertamas kelias šios patologijos patogenezės mechanizmams nustatyti ir galimoms gydymo strategijoms kurti.

Pregenominėje eroje yra brangi ir neretai – nerezultatyvi diagnostinė odisėja, atliekant vieno geno ir invazinius tyrimus, lemdavo žemą – apie 20 % IN diagnostinį slenksį. Genominiai tyrimai iš esmės pakeitė molekulinės diagnostikos principus, taikomus tiriamajam, sergančiam monogenine liga, o efektyvumas – apie 50 %. Tikimybė nustatyti IN lemiantį genetinį defektą priklauso nuo taikomų diagnostinių metodų ir IN sunkumo. Nors plataus masto genetinių tyrimų diagnostinis efektyvumas yra didesnis nei kitų metodų, nustatyti genetines priežastis yra sudėtinga dėl gausybės skirtingų genetinių defektų, pasireiškiančių dažnai kliniškai vienas nuo kito neatskiriamais fenotipais, o gautų rezultatų interpretavimas kelia naujų iššūkių. Neretai, atlikus sudėtingus molekulinis genetinius tyrimus, gaunama neaiškios klinikinės reikšmės rezultatų, kurių patogeniškumui patvirtinti ar paneigti nepakanka *in silico* vertinimo.

Paveldimos IN paplitimo mastas, ilga ligos trukmė, progresuojanti eiga, ribotos diagnostikos ir gydymo galimybės bei ilgalaikės socialinės ir ekonominės pasekmės pabrėžia mokslinių tyrimų IN priežastims nustatyti ir patogenezės mechanizmams išaiškinti poreikį. Moksliniai tyrimai šioje srityje yra aktualūs ir reikšmingi, siekiant nustatyti molekulinis mechanizmus ir genus, svarbius CNS raidai ir funkcijai. Tai savo ruožtu vėliau suteikia galimybę šias žinias pritaikyti diagnostikai ir gydymui.

DARBO TIKSLAS

Plėsti IN genomines architektūros kompleksiško išvalgą, įtraukiant molekulinis genetinius ir funkcinius tyrimus: nustatyti ir įvertinti naujus ir duomenų bazėse bei mokslinėje literatūroje aprašytus (galimai) patogeninius struktūrinius, kopijų skaičiaus pokyčių, DNR koduojančios ir nekoduojančios bei sukirpimo vietų sekos variantus centrinės nervų sistemos raidos sutrikimus lemiančiuose patvirtintuose ir naujuose genuose, taikant šiuolaikinės molekulinės genetikos technologijas tyrimo metodus.

ORIGINALUMAS

Ši darbų apžvalga apima 2007–2020 m. vykdytus mokslinius tyrimus, atliktus tarptautinių (CHERISH, UNIGENE, COST, ORPHANET) ir nacionalinių mokslinių projektų (LITGEN, INGENES) metu. Tai vienas pirmųjų tokio pobūdžio darbų Lietuvoje bei Rytų Europoje, kuris yra išskirtinis dėl tiriamųjų imties ypatumų ir atliktų tyrimų kompleksiško. Pirmą kartą buvo atliktas išsamus Lietuvos tiriamųjų, turinčių IN, genomo ir fenomo įvertinimas: tirtų asmenų, turinčių IN, patogeninių kopijų skaičiaus pokyčių charakteristikos tyrimas; tiriamųjų, kurių patogeniniai kopijų skaičiaus pokyčiai yra unikalūs, genotipo ir fenotipo ryšio analizė ir genų kandidatų IN bei kitiems klinikiniams požymiams nustatymas; naujų patogeninių variantų žinomuose IN genuose nustatymas; naujo genotipo sindromo nustatymas; epigenetinių IN mechanizmų nustatymas. Naudojant pažangiausias technologijas, buvo tirta iki 500 asmenų: siekta išsiaiškinti nesindrominės ar sindrominės IN, lydimos specifinių fenotipinių požymių, genetines priežastis. Atliekant pagal Mendelio dėsnis paveldimų retų ligų tyrimus, kiekvienas tiriamasis, kurio klinikinė ligos raiška yra nežinomos kilmės, gali būti pagrindiniu ir svarbiausiu objektu, nustatant naujus IN lemiančius patogeninius variantus ar IN genus kandidatus, nepriklausomai nuo ligos dažnumo populiacijoje, heterogeniškumo ir paveldėjimo. Siekiant nustatyti naujus kandidatinius IN genus, išsamesniuose tyrimuose buvo bendradarbiaujama su mokslininkais iš daugelio šalių (Šveicarijos, Italijos, Kipro, Estijos, Ispanijos, Prancūzijos, Nyderlandų, Singapūro, Jungtinės Karalystės, JAV ir kt.). Nustatyti patogeniniai variantai išsamiai charakterizuoti, renkant iš tarptautinių duomenų bazių didesnę kohortą tiriamųjų, turinčių panašius patogeninius variantus.

NAUJUMAS

Naujų genetinių technologijų taikymas per pastaruosius kelerius metus padėjo atskleisti daug naujų IN priežasčių. Reikšminga IN atvejų dalis, anksčiau priskirta idiopatinės IN grupei, šiuo metu klasifikuojama kaip sindrominės būklės su kliniškai atpažįstamais specifiniais fenotipais. Šio mokslinio tyrimo metu pradėti taikyti, o vėliau įdiegti diagnostinėje praktikoje molekulinio kariotipavimo ir viso egzomo sekoskaitos tyrimai. Daugelio pastaraisiais metais vykdytų tyrimų duomenimis, molekulinis kariotipavimas yra efektyvi diagnostinė technologija IN priežastims nustatyti. Informacija apie DNR kopijų skaičiaus pokyčių (KSP) pobūdį, dydį ir apimamus genus yra svarbi diagnozuojant žinomus ir naujus mikrodelecinius / mikroduplicacinius sindromus. Šis tyrimas taip pat padeda susiaurinti su žinomais sindromais susijusias svarbiausias genomo sritis ar nustatyti pagrindinius sindromą lemiančius genus, reikšmingus CNS raidai ir funkcionavimui.

Naujų sindromų diagnozavimo galimybė padidėjo pritaikius viso egzomo / genomo sekoskaitos tyrimus, leidžiančius nustatyti DNR sekos variantus, tokius kaip pakaitas, iškritas, ir tarpus visame egzome / genome. Šie tyrimai pakeitė iki naujos kartos sekoskaitos eros taikytus sankibos ir pozicinio klonavimo metodus, kuriems atlikti reikalingos didelės šeimos, turinčios, numanoma, tos pačios etiologijos IN. Išskirtiniais atvejais kritinius genus buvo galima nustatyti, dažniausiai nustačius subalansuotą translokacijų trūkių srityse esamus genus ar tiriant sergančiuosius iš giminių santuokų. Situacija pasikeitė, kai atsirado naujos kartos sekoskaitos technologijos. Pasirinkus tinkamą analizės strategiją, naujos kartos sekoskaitos metodais galima aptikti IN lemiančių patogeninių DNR sekos variantų, tiriant vieną individą, nesvarbu, koks yra ligos dažnis populiacijoje.

Šio mokslinio darbo metu taikyti funkciniai genomo tyrimai, pavyzdžiui, RNR raiškos analizė ir genomo redagavimas, suteikė unikalių galimybių patvirtinti tam tikrų ligų molekulinį pagrindą. Funkcinė genomika šiuo metu yra viena perspektyviausių genomikos mokslo sričių. Įvairūs metodai, pradedant kDNR PGR ir Sanger sekoskaita, genų raiškos tyrimai, analizuojant kDNR realiojo laiko PGR metodu, ir baigiant genomo redagavimu, taikant CRISPR-Cas9 technologiją, tampa neatskiriama mokslinių IN genetinių priežasčių nustatymo tyrimų dalimi.

Atlikti tyrimai, taikant naujausias technologijas, tokias kaip plataus masto naujos kartos sekoskaita, genų raiškos, genomo redagavimo ir kitos, suteikė galimybę pasiekti unikalių rezultatų. Jie padėjo geriau suprasti IN etiologiją bei patogenezės mechanizmus ir bus vertingi tolesniems moksliniams bei diagnostiniams tyrimams Lietuvoje.

DARBE PRITAIKYTI NAUJI TYRIMO METODAI

Fluorescencinė in situ hibridizacija (FISH) – chromosomų subtelomerų analizė FISH atliekama tiriamiesiems,

kuriems pagal klinikinius ar kitus požymius įtariami chromosomų struktūros persitvarkymai, mažesni nei 10 megabazių. Šie persitvarkymai gali būti subalansuoti ir nesubalansuoti. Chromosomų struktūros persitvarkymas yra patvirtinamas nustačius chromosomų subtelomerų žymenų išsidėstymą ne jų specifinėse hibridizacijos vietose chromosomoje ir (ar) pakitus jų skaičiui. FISH tyrimo metodas taip pat yra labai svarbus, siekiant nustatyti mozaikinio ar chimerinio kariotipo ląstelių klonų santykį.

Dauginė liguojamų zondų amplifikacija – tyrimo metodas, taikomas įgimtų ir paveldimų ligų, kurias sukelia genetinių sričių kopijų skaičiaus pokyčiai (padidėjimas arba sumažėjimas) ir (ar) metilimo pokyčiai, siekiant įvertinti atskirų genų / genomo sričių fragmentų (pvz., genų egzonų) ar visos srities delecijas ar duplikacijas. Taip pat, IN lemiančių genomo sričių metilimo sutrikimams nustatyti, nustatant hipo- ir (ar) hipermetilimo mechanizmus.

Realiojo laiko polimerazės grandininė reakcija (RL-PGR) – šiuo metodu atliekamas kiekybinis matavimas, kai tiriama genų raiška ar nustatomas genomo fragmentų kopijų skaičius; ir kokybinis matavimas, kai identifikuojami aleliai.

Molekulinis kariotipavimas – didelio našumo genomo kopijų skaičiaus pokyčių analizės sistema lustų technologija. Tai daug mažesnės skiriamosios gebos, nei rutininis kariotipas, chromosomų struktūros pokyčių – delecijų ir (ar) duplikacijų nustatymas, panaudojant DNR vektorius ar vieno nukleotido polimorfizmų žymenis. Taikant molekulinio kariotipavimo metodus, molekulinis IN mechanizmas gali būti nustatomas apie 15 % tiriamųjų su CNS raidos sutrikimais.

Viso žmogaus egzomo sekoskaita (VŽES) – visų žinomų žmogaus genomo baltymus koduojančių genų egzonų (~1,5 % viso genomo sekos) tyrimas naujos kartos sekoskaitos metodais. Mokslinių tyrimų duomenimis, VŽES metodo efektyvumas (tikimybė nustatyti paveldimą patologiją lemiančius pokyčius) yra 20–60 %, priklausomai nuo taikomos tyrimo strategijos, tiriamųjų atrankos kriterijų, taikytų tyrimo metu nustatytų sekos pokyčių filtravimo algoritmų ir kt. VŽES taikoma mokslinėje literatūroje ir duomenų bazėse naujiems (ne)aprašytiems sekos variantams jau žinomuose IN genuose nustatyti ir naujiems genams identifikuoti, pokyčiai kuriuose siejami su CNS raidos sutrikimais.

Viso genomo sekoskaita (VGS) – sudėtingiems genomo struktūros pokyčiams įvertinti nukleotidų skiriamąja geba taikomas VGS tyrimas naujos kartos sekoskaitos tyrimo metodais. Tai taip pat yra įrankis nukleotidų sekos (galimai) patogeniniams variantams nustatyti (giliai) introninėse ar reguliacinėse sekose. IN tiriamųjų grupėse VGS galima nustatyti patogeninius, klinikinius požymius lemiančius, genomo pokyčius, 40–60 % atvejų.

IN (genetinis ir klinikinis) heterogeniškumas yra didžiulis iššūkis, siekiant patvirtinti IN genus kandidatus ar naujus unikalius variantus žinomuose IN genuose. Patogeniškumui patvirtinti taikomi funkciniai biologiniai *in vivo* ir *in vitro* tyrimai, panaudojant mutavusias ar pacientų su

IN ląsteles arba gyvūnų (pvz., zebražuvės, pelės) modelius. Tyrimams panaudojant gyvūnų su redaguotu genomu modelius, galima nustatyti CNS pokyčius, lemiančius IN.

Genomo redagavimas. Įsiterpiančių trumpų pasikartojančių sekų CRISPR-Cas9 RNR nukleazų sistema jau yra vienas pagrindinių įrankių (kartu su kitomis genomo redagavimo technologijomis) genams redaguoti, pakeičiant patogeninį IN pokytį. CRISPR-Cas9 sistema taikoma žinduolių genomuose, stabdant ligos geno raišką ar redaguojant („ištaisant“) patogeninius pokyčius. IN lemiantiems genams nustatyti ir jų funkciniais tyrimams yra būtina išsiaiškinti klinikinės būklės molekulinį mechanizmą, įgalinant potencialius IN terapijos įrankius ateityje. Taikant CRISPR-Cas9 ar kitas redagavimo technologijas, turi būti griežtai laikomasi technologijos taikymo reikalavimų ir gairių, siekiant įvertinti netaikinius poveikius genomui ir galimus epigenetinius pokyčius, papildant mechanizmų išaiškinimo mokslinių tyrimų rezultatus.

DARBO REZULTATAI

Darbas vykdytas 2007–2020 m. pagal Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Žmogaus ir medicininės genetikos katedros tyrimų kryptį „Žmogaus genomo architektūros fundamentiniai tyrimai: Lietuvos populiacijos fenomo, genomo ir regulomo žymenų charakterizavimas“. Dauguma darbų atlikta vykdomų nacionalinių ir tarptautinių mokslinių projektų metu: „Intelektinės negalios ir įgimtų anomalijų genetinės architektūros identifikavimas“ (INGENES) (2017–2020) (projektas finansuojamas Lietuvos mokslo tarybos, projekto vadovė – prof. dr. Eglė Preikšaitienė); „Europos įgimtų žmogaus imprintingo ligų tinklas. Europos šalių bendradarbiavimo programa mokslo ir technologijų srityje“ (BM1208, COST) (2013–2017) (Lietuvos atstovas – akad. prof. habil. dr. Vaidutis Kučinskas); „Unikalūs genomo persitvarkymai, esant įgimtiems nervų sistemos raidos sutrikimams: kilmė, genominiai mechanizmai, funkcinės ir klinikinės pasekmės“ (*Unique genome variants in congenital neurodevelopmental disorders: origin, genomic mechanisms, functional and clinical consequences*) (UNIGENE, CH-3-ŠMM-01/04) (2012–2016) (partneriai: Lozano universitetas, Šveicarija; projekto vadovas – akad. prof. habil. dr. Vaidutis Kučinskas); „Lietuvos populiacijos genetinė įvairovė ir sandaros kitimai, susiję su evoliucija ir dažniausiai paplitusiomis ligomis“ (LITGEN) (2011–2015) (visuotinės dotacijos priemonė, finansuojama Europos socialinio fondo ir Lietuvos Respublikos bendrojo finansavimo lėšomis, projekto vadovas – akad. prof. habil. dr. Vaidutis Kučinskas); „Protinio atsilikimo diagnostikos gerinimas vaikams iš Rytų Europos ir Centrinės Azijos, taikant genetinę apibūdinimą ir bioinformatiką / statistiką“ (*Improving Diagnoses of Mental retardation in Children in Eastern Europe and Central Asia through Genetic Characterisation and Bioinformatics/Statistics*) (CHERISH, FP7-HEALTH-2007-2.2.1-10) (2009–2012) (partneriai: Italija, Estija, Čekija, Lenkija, Ukraina, Kipras, Rusija, Armėnija; Molekulinės citogene-

tinės analizės darbo grupės vadovas – akad. prof. habil. dr. Vaidutis Kučinskas).

Gauti Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimai: Nr. 158200-6-057-067LP1, Nr. 158200-17-962-469 ir Nr. 158200-05-329-79.

Šioje apžvalgoje apibendrinti rezultatai, kurie buvo gauti šio darbo autorių ir kitų Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto jaunųjų bei patyrusių mokslininkų.

STRUKTŪRINIAI GENOMO POKYČIAI

Technologijų pažanga ir molekulinio kariotipavimo taikymas diagnostikoje suteikė vertingų žinių apie DNR kopijų skaičiaus pokyčių klinikinę reikšmę. Tai yra esminis genomo variavimo šaltinis, atsakingas už žmogaus evoliuciją ir genetinę individų įvairovę. Tačiau retai pasitaikantys, dažniausiai *de novo* kilmės, kopijų skaičiaus pokyčiai gali lemti CNS raidos ir funkcijos sutrikimus, tarp jų IN, autizmą, epilepsiją bei tam tikras psichikos ligas. Nustatyta, kad chromosominiai pokyčiai yra viena iš dažniausių šiuo metu žinomų IN priežasčių. Genomo patogeninės mikrodelecijos ir mikroduplikacijos gali suardyti neurogeninius kelius ir lemti kognityvinės funkcijos sutrikimus ar įgimtų raidos defektus. Atliekant molekulinio kariotipavimo tyrimus pacientams, turintiems IN, diagnozuojami nauji mikrodeleciniai / mikroduplikaciniai sindromai ir patikslinama žinomų sindromų fenotipinių požymių įvairovė. Kadangi daugelis nustatomų chromosominių pokyčių yra reti ar net unikalūs, kiekvieno paciento, turinčio nežinomos kilmės IN, išsamus genetinės ištyrimas gali atskleisti naujas IN genetines priežastis. Molekulinis kariotipavimas gali būti rezultatyvus sindromą lemiantiems genams nustatyti, kai liga pasireiškia dėl geno haplonepakankamumo. Atkreipiamas dėmesys į mažus (<500 kb) patogeninius kopijų skaičiaus pokyčius, apimančius tik vieną geną arba dalį CNS raidos ar funkcionavimo procesuose svarbaus geno, taip susiaurinamos už fenotipines pasekmes atsakingos kandidatines sritys. Normali kognityvinė funkcija ir elgesys priklauso nuo glaudžių neuronų homeostazės kontrolės mechanizmų. Neuronų homeostazei svarbių genų dozės pokyčiai gali sutrikdyti neuroninius tinklus, normalią smegenų raidą ir lemti įvairius elgesio bei neurologinius fenotipus. Funkciškai dauguma šių genų gali būti priskirti vienai iš penkių kategorijų: neuroninių transkripcijos veiksnių genai bei sinapsių formavimosi ir išlaikymo, baltymų ubikvitinimo, chromatino remodeliavimo ir neurotransmisijos procesuose dalyvaujančius baltymus koduojantys genai. Tačiau nėra vieno raktinio, bendro kelio, kurio sutrikdymai lemtų IN. Aiškėja, kad kognityvinius sutrikimus gali lemti beveik kiekviename biologiniame procese, vykstančiame ląstelėje, dalyvaujančių baltymų koduojančių genų pokyčiai. Tai rodo, kad IN yra dėl įvairių nespecifinių priežasčių funkciškai neaktyvių neuronų galutinis pasireiškimas.

Dalis šio mokslinio darbo buvo skiriama tam, kad, ištyrus nežinomos etiologijos IN turinčių Lietuvos pacientų imtį ir atlikus tiriamųjų genominių bei fenotipinių duome-

nų analizę, būtų gauta išsamesnė informacija apie patogeninių kopijų skaičiaus pokyčių lemiamus fenotipinius požymius, nustatyti nauji dozai jautrūs IN genai kandidatai, žinomų genų reguliacinės sritys. Šios žinios yra būtinos, norint suprasti ir gydyti genetines ligas.

Tirtų asmenų, turinčių intelektualinę negalią, patogeninių kopijų skaičiaus pokyčių charakteristikos

Vykdamas žmogaus genomo projektą, buvo iššifruota žmogaus branduolio DNR nukleotidų seka ir atskleista, kad kelias nuo genotipo iki fenotipo yra gerokai sudėtingesnis, nei manyta anksčiau, todėl iškelti nauji uždaviniai. Atlikto 211 asmenų, turinčių IN, tyrimo rezultatų pagrindas – tiriamųjų klinikinių požymių ir patogeninių kopijų skaičiaus pokyčių, nustatytų atliekant molekulinį kariotipavimą, vertinimas. Tai vienas pirmųjų tokio pobūdžio darbų Lietuvoje ir Rytų Europoje. Tirta imtis pacientų, turinčių IN ir atsitiktinę fenotipinių požymių įvairovę, retrospektyviai analizuoti pacientų, turinčių IN, klausimynų duomenys, apžvelgti visų tyrime dalyvavusių pacientų, turinčių IN, klinikinių duomenų ypatumai ir palygintos pacientų, turinčių chromosominių persitvarkymų ir be jų, grupės, norėta nustatyti klinikinius požymius, būdingus pacientams, kuriems nustatyta patogeninių kopijų skaičiaus pokyčių. Etiologinė IN diagnozė, atlikus molekulinio kariotipavimo tyrimą, buvo nustatyta 29 pacientams, dalis jų buvo siejama su monogeninėmis būklėmis (del5q35.3, del2p16.1-22.1, del4q28.3). Klinikiniai požymiai buvo lyginami su kontrolinės grupės pacientų, kurių etiologinė IN diagnozė, atlikus molekulinio kariotipavimo tyrimus, liko nežinoma. Nustatyta, kad pacientų, kurie turėjo chromosominę patologiją, IN statistiškai reikšmingai dažniau buvo sindrominė. Be to, šiems pacientams dažniau buvo nustatyta bent viena įgimta anomalija. Pacientams, kuriems rasta chromosominių pokyčių, palyginti su pacientais, kurių IN etiologija nežinoma, bent viena įgimta anomalija reikšmingai teigiamai koreliavo su trimis ar daugiau fenotipinių ypatumų. Analizuojant tam tikrų organų sistemų įgimtų anomalijų ir mažųjų anomalijų dažnius, nustatyta, kad pacientams, kurie turėjo patogeninių kopijų skaičiaus pokyčių, statistiškai reikšmingai buvo dažnesnės nervų sistemos formavimosi ydos, įgimtos raumenų ir griaučių sistemos anomalijos bei bent viena iš įgimtų akies, ausies, veido ar kaklo mažųjų anomalijų. Tiriamųjų, turinčių patogeninių kopijų skaičiaus pokyčių, grupėje įgimtos nervų sistemos formavimosi ydos reikšmingai neigiamai koreliavo su bent vienos raumenų ir griaučių sistemos mažosios anomalijos pasireiškimu. Nustatyta statistiškai reikšmingų skirtumų, lyginant grupes pagal konkrečius fenotipinius požymius: pacientams, turintiems chromosominių pokyčių, yra dažnesnė hidrocefalija, didžiosios smegenų jungties formavimosi yda, įstriži žemyn vokų plyšiai, ausų mažosios anomalijos, mikrogenija, brachidaktilija, bambos išvarža, arachnodaktilija, kaktos ypatumai ir filtro srities ypatumai. Duomenų stratifikavimas pagal mikrocefalijos arba makrocefalijos buvimą atskleidė, kad chromosomi-

nio pokyčio rizika pacientams, kurių normali galvos apimtis, esant brachidaktilijai, yra didesnė 8,7 karto, bambos išvaržai – 11,1 karto, bent vienai įgimtai anomalijai – 2,9 karto. Taigi nustatyti reikšmingi skirtumai, lyginant tiriamųjų, turinčių chromosominių pokyčių, ir asmenų, kurių IN yra nežinomos etiologijos, klinikinius požymius, leido sudaryti efektyvų daugiamatės logistinės regresijos modelį – jį taikant, pagal esamus specifinius fenotipinius požymius, galima prognozuoti riziką, kad pacientui molekulinio kariotipavimo tyrimu bus nustatytas patogeninis chromosominis pokytis. Kaip nepriklausomus kintamuosius įtraukus tam tikrus fenotipinius požymius, gauti trys nepriklausomi prognostiniai rizikos veiksniai: įgimta didžiosios smegenų jungties formavimosi yda, ausų mažosios anomalijos ir brachidaktilija, didinantys patogeninio kopijų skaičiaus nustatymo riziką atitinkamai 8,5, 3,5 ir 7,4 karto.

Šiuo tyrimu atlikta pacientų, turinčių IN, klinikinių ir molekulinė duomenų analizė papildė mokslines žinias apie pacientų, turinčių chromosominės aberacijos, fenotipinius ypatumus [2–4]. Duomenys apie specifinį mažųjų anomalijų ir įgimtų anomalijų spektrą, būdingą pacientams, turintiems patogeninių kopijų skaičiaus pokyčių, gali būti naudingi, leidžia atrinkti pacientus molekulinio kariotipavimo tyrimui ir pagerinti šio tyrimo diagnostinį efektyvumą [5–10]. Dalis rezultatų gauta bendradarbiaujant su Kipro neurologijos ir genetikos instituto mokslininkais (Nikosija, Kipras).

Tiriamųjų, kuriems nustatyti unikalūs patogeniniai kopijų skaičiaus pokyčiai, genotipo bei fenotipo ryšio analizė ir genų kandidatų intelektinei negaliai bei kitiems klinikiniams požymiams nustatymas

1q21q22q23.1 mikrodelecija (1,6 Mb dydžio) nustatyta tiriamajai, turinčiai IN ir kitų požymių: žemą ūgį, mikrocefaliją, didžiosios smegenų jungties hipoplaziją ir įgimtą širdies ydą. Delecija apima 50 baltymus koduojančių genų, įskaitant ligos genus *APOA1BP*, *ARHGEF2*, *LAMTOR2*, *LMNA*, *NTRK1*, *PRCC*, *RIT1*, *SEMA4A* ir *YYIAP1*. Nors tiriamajai būdingą unikalų fenotipą galėjo lemti dozai jautraus *LMNA* geno haplonepakankamumas, negalima atmesti kitų delecijos srityje esančių genų dozės stokos poveikio. Vienas iš galimų kandidatų yra *RIT1* genas, kurio funkcijos įgijimo patogeniniai variantai aktyvina RAS/MAPK signalinį kelią [11, 12].

2q34 mikrodelecija, apimanti *ERBB4* geno 1–3 egzonus, nustatyta asmeniui, turinčiam nesindrominę IN. *ERBB4* yra 1,16 Mb ilgio genas 2q34 chromosominėje srityje, koduojantis vieną iš keturių ERBB šeimos transmembraninių tirozino kinazių narių. Iš visų ERBB baltymų centrinės nervų sistemos raidos procesams svarbiausias yra ERBB4 baltymas. Pagrindiniai ERBB4 receptoriaus ligandai – neuroregulinai, priklausantys augimo veiksmų šeimai. *NRG1-ERBB4* signalinis kelias yra svarbus daugeliui neurobiologinių procesų: interneuronams susidaryti, jų migracijai ir diferenciacijai galvos smegenų žievėje prenataliniu laikotarpiu bei neuronų signalų perda-

vimo procesams suaugusių žmonių smegenyse. Literatūroje anksčiau aprašyti du *ERBB4* geno nutraukimo atvejai, tačiau mūsų tiriamajam nustatytas pirmasis izoliuotas ir visiškai *ERBB4* geno kopijos praradimas. Nors įvairūs *NRG1-ERBB4* sistemos VNP yra siejami su šizofrenija, *ERBB4* geno haplonepakankamumas gali lemti CNS raidos ir kognityvinės funkcijos sutrikimus [13].

2p14–p16.1 ir 2p16.1–p22.1 duplikacijų klinikinis ir molekulinis charakterizavimas yra svarbus chromosominio nesubalansuotumo klinikiniam vertinimui prenataliniu bei postnataliniu laikotarpiu ir paveldimų ligų mechanizams suprasti [14].

3q26.1-qter duplikacija ir 5p13.33-pter delecija, kurių priežastis – šeiminė subalansuota translokacija, lemia nervinio vamzdelio defektą ir kitus raidos defektus. Nervinio vamzdelio defektai po įgimtų širdies defektų yra antroji pagal dažnumą įgimtų anomalijų grupė. Retai nervinio vamzdelio defektus lemia struktūriniai chromosominiai persitvarkymai. Nustatytuose chromosominiuose pokyčiuose esančių kadherino genų (*CDH6*, *CDH9*, *CDH10*, *CDH12*, *CDH18*) ir *BCHE*, *TNIK*, *SOX2*, *MAP6D1* bei *DVL* genų raiška yra didelė embriono ir vaisiaus CNS, todėl negalima atmesti šių genų dozės pokyčio įtakos CNS raidos sutrikimui [15, 16].

4q28.3 mikrodelecija (1,53 Mb dydžio), apimanti *PCDH18* geną, nustatyta tiriamajam, turinčiam sindrominę IN. *PCDH18* genas koduoja su kadherinu siejamus neuroninius receptorių ir yra svarbus ląstelių tarpusavio ryšiams smegenų audinyje. Neatmetama, kad šio geno haplonepakankamumas gali sutrikdyti smegenų raidą ir lemti struktūrinių defektų susiformavimą [14]. Rezultatai gauti bendradarbiaujant su Kipro neurologijos ir genetikos instituto mokslininkais (Nikosija, Kipras).

4p15.2 mikrodelecija (2,45 Mb dydžio) nustatyta pericentrinės inversijos 4 chromosomoje trūkio vietos trumpajame petyje srityje. FISH metodu patvirtinta, kad pericentrinės inversijos ilgajame petyje trūkio sritis sutampa su *PITX2* geno genomine sritimi. *PITX2* geno raiškos sutrikdymas tiriamajai pasireiškė Axenfeld-Rieger sindromui būdingais požymiais. 4p15.2 mikrodelecija anksčiau literatūroje nebuvo aprašyta. Mikrodelecijos srityje esančių *PPARGC1A* ir *DHX15* genų haplonepakankamumas gali lemti psichomotorinės raidos sutrikimą [17].

5q35.3 mikroduplikacija nustatyta tiriamajai, kurios fenotipas buvo nesuderinamas su iki šiol žinomais duomenimis apie šios srities duplikacijų klinikinės pasekmės. Detali pacientų su 5q35.3 mikroduplikacijomis genotipo ir fenotipo ryšio analizė padėjo atskleisti DNR sritį, kuri gali būti reikšminga gerai žinomo *NSD1* geno raiškai [18]. Rezultatai gauti bendradarbiaujant su Kipro neurologijos ir genetikos instituto mokslininkais (Nikosija, Kipras).

7p22.1 mikroduplikacija (979,8 kb dydžio), apimanti 15 genų. Literatūroje anksčiau aprašytas tiriamasis, turintis persidengiančią duplikaciją, ir trys atvejai, įtraukti į DECIPHER duomenų bazę. Tikėtina, kad 7p22.1 duplikacija lemia raidos atsilikimą, kliniškai atpažįstamą kranio-

facialinį dismorfizmą ir griaučių anomalijas. Kraniofacialiniai požymiai, pavyzdžiui, akių hipertelorizmas, įstriži žemyn vokų plyšiai, žemai prisitvirtinusios ausys, aukštas gomurys, mikrogenija, anksčiau buvo aprašyti pacientų, kuriems citogenetiškai nustatytos 7p duplikacijos. Mūsų duomenys rodo, kad 7p22.1 sritis, apimanti 9 genus (*FBXL18*, *MIR589*, *ACTB*, *FSCN1*, *RNF216*, *ZNF815*, *OCM*, *CCZ1*, *RSPH10B2*), gali būti kritinė šių klinikinų požymių raiškai. 7p22.1 mikroduplikacijos klinikinės pasekmės galimos dėl šioje srityje esančių genų per didelės dozės efekto. Stiprus kandidatinis genas, galintis sutrikdyti kraniofacialinę raidą, yra *ACTB* genas [3]. Rezultatai gauti bendradarbiaujant su Kipro neurologijos ir genetikos instituto mokslininkais (Nikosija, Kipras).

10p15.3pter mikrodelecija (4,3 Mb dydžio) ir 10q26.12qter duplikacija (13,4 Mb dydžio) nustatytos tiriamajam, turinčiam IN ir sergančiam epilepsija. Pacientų, kuriems buvo 10p15.3 delecijos ir *ZMYND11* funkcijos netekimo mutacijos, klinikinų požymių palyginimo rezultatai patvirtino, kad *ZMYND11* genas turi kritinės reikšmės 10p15.3 mikrodelecijos sindromo klinikiniam požymiui pasireikšti [19].

10q22.1q22.3 delecija (5,2 Mb dydžio) nustatyta tiriamajai, turinčiai IN ir specifinius veido požymius. Nors delecija apima 29 genus, iš kurių 9 yra siejami su ligomis, klinikinų ir molekulinų duomenų analizė atskleidė, kad *KAT6B* geno haplonepakankamumas turi didžiausią reikšmę klinikiniam požymiui pasireikšti [20].

Rec(10)dup(10p)inv(10)(p15.1q26.12) ir rec(10)dup(10q)inv(10)(p15.1q26.12) – dviejų priešingų chromosominių aberacijų pasireiškimas vienos šeimos nariams dėl pericentrinės inversijos nešiojimo. Literatūros duomenų apžvalga ir molekulinų bei klinikinų duomenų apibūdinimas suteikė naujų žinių apie 10-os chromosomos didelių pericentrinų inversijų klinikinės pasekmės [21].

16p13.11-p12.3 mikrodelecija (2,6 Mb dydžio) nustatyta tiriamajai, turinčiai IN ir sagitalinę kraniosinostozę. Nors kraniosinostozė anksčiau literatūroje nebuvo identifikuota kaip vienas iš 16p13.11 mikrodelecijos sindromo požymių, griaučių anomalijos nėra retos 16p13.11 mikroduplikacijų atveju. Delecijos regionas apima 11 baltymus koduojančių genų ir keletą mikroRNR genų. Šios nekoduojančios RNR dalyvauja potranskripciniame osteogeninės diferenciacijos procese ir gali būti reikšmingos griaučių vystymuisi [22].

16p11.2 mikrodelecijai būdinga visiškai penetrantiškumas ir įvairaus sunkumo fenotipiniai požymiai. Šio mokslinio darbo metu atliktos dviejų tiriamųjų klinikinų ir molekulinų požymių analizės duomenimis, išskirti *SEZ6L2*, *MAPK3* ir *TBX6* kandidatiniai IN genai [23]. Rezultatai gauti bendradarbiaujant su Kipro neurologijos ir genetikos instituto mokslininkais (Nikosija, Kipras).

17q21.33 mikrodelecija (1,8 Mb dydžio) anksčiau literatūroje nebuvo aprašyta. Tolesnė pacientų paieška tarptautinėse duomenų bazėse leido aptikti tris asmenis, kuriems nustatytos persidengiančios mikrodelecijos. Šioje genų gausioje srityje yra centrinės nervų sistemos raidai ir

funkcionavimui svarbių bei dozei jautrių genų. Iš 24 genų, esančių delecijoje, 17 genų raiška vyksta smegenyse: *CACNA1G*, *WFIKKN2*, *EME1*, *ANKRD40*, *LUC7L3*, *RSAD1*, *CA10*, *NME1-NME2*, *MRPL27*, *SPAG9*, *LRRC59*, *ACSF2*, *UTP18*, *TOB1*, *MYCBPAP*, *MBTD1* ir *EPN3*. Vienas iš dozei jautrių genų – *CACNA1G* genas, koduojantis nuo įtampos priklausančius kalcio kanalus, manoma, yra svarbus neuronams funkcionuoti ir nerviniams impulsams perduoti. Šio geno haplonepakankamumas gali sutrikdyti centrinės nervų sistemos raidą ir funkcionavimą [4]. Rezultatai gauti bendradarbiaujant su Tartu universiteto Molekulinės ir ląstelės biologijos instituto mokslininkais (Tartu, Estija).

Žinomų intelektualinės negalios genų naujų patogeninių variantų nustatymas

Tyrimo metu buvo analizuoti unikalūs DNR sekos variantai, atlikti išsamūs molekuliniai tyrimai, kurie leido patvirtinti ar atmesti nustatyto varianto patogeniškumą. Remiantis genotipo ir fenotipo sąsajų analizių, duomenų bazių ir literatūros duomenų apžvalga, buvo atliktas kliniškas, molekulinis ir (ar) funkcinis patogeninių variantų charakterizavimas [24, 25].

GLI3 genas. Pagal klinikinius požymius tiriamajai buvo įtartas monogeninis sindromas. Atlikus *GLI3* geno sekoskaitą, nustatytas naujas *de novo* variantas NC_000007.14(NM_000168.6):c.473+3A>T heterozigotinės būklės. Kadangi *GLI3* geno raiška kraujyje yra nepakankama funkciniais tyrimams, buvo kultivuoti tiriamosios odos fibroblastai. Atlikus kDNR mėginių PGR ir Sanger sekoskaitą, nustatyta, kad iRNR sukirpimo variantas lėmė 4-ojo egzono iškritą, dėl to susidarė skaitymo rėmelio poslinkis ir priešlaikinės baigmės kodonas. *In silico*, su trumpėjęs baltymas netenka keturių *Zinc finger* domenų [26]. Tiriamajai nustatyto introninio varianto nulemtas *GLI3* geno funkcijos netekimas lemia Greigo cefalopolisindaktilijos sindromo pasireiškimą.

CHD7 genas (1). Viso egzomo sekoskaitos tyrimas padėjo nustatyti *CHD7* geno naują variantą NM_017780:c.5535-1G>A heterozigotinės būklės. Atliktus kDNR mėginių PGR ir Sanger sekoskaitą, nustatyta, kad patogeninis variantas aktyvina alternatyvią iRNR 3' sukirpimo vietą, esančią vieno nukleotido atstumu. Dėl to susidaro skaitymo rėmelio poslinkis ir priešlaikinės baigmės kodonas. *In silico*, baltymo lygmeniu prarandami du BRK domenai [27].

CHD7 genas (2). Remiantis triados viso egzomo sekoskaitos tyrimu, nustatyta literatūroje neaprašyta *de novo* p.(Asp2119_Pro2120ins6) duplikacija konservatyvioje *CHD7* geno srityje. Apibūdinti molekuliniai ir kliniški duomenys [28]. Rezultatai gauti bendradarbiaujant su Lozanos universiteto Integratyvosios genomikos centro mokslininkais (Lozana, Šveicarija).

TREX1 genas. Patogeniniai variantai *TREX1* gene lemia Aicardi-Goutieres sindromą, priklausantį I tipo interferonopatijų grupei. Triados viso egzomo sekoskaitos tyrimu mūsų tiriamajam nustatytas literatūroje neaprašytas

TREX1 geno patogeninis variantas – p.Arg114His homozigotinės būklės. Atlikus histologinius tyrimus, nustatyta uždegiminė miopatija leido išplėsti žinomus fenotipinius ligos požymius [29]. Rezultatai gauti bendradarbiaujant su Lozanos universiteto Integratyvosios genomikos centro mokslininkais (Lozana, Šveicarija).

SOX9 genas. Atlikus tiriamojo klinikinių ir molekuli- nių duomenų analizę, nustatytas *SOX9* geno literatūroje anksčiau neaprašytas patogeninis variantas p.(Lys106Glu), lemiantis akampomelinę kampomelinę displaziją. Prenatalinio ultragarsinio tyrimo duomenimis, kampomelijos požymių buvo pastebima iki 18 gest. savaitės, tačiau vėliau matomi tiesūs galūnių kaulai. Pranykstančios kampomelijos vaizdas gali būti svarbus ultragarsinis griaučių displazijos požymis prenataliniu laikotarpiu [15].

NSDHL genas koduoja 3-hidroksisteroidinę dehidrogenazę, dalyvaujančią paskutiniame cholesterolio biosintezės etape. Šio geno mutacijos lemia su X chromosoma susijusio dominantinio paveldėjimo CHILD sindromą ir su X chromosoma susijusio recesyvaus paveldėjimo CK sindromą. Pastarojo atvejai iki šiol mokslinėje literatūroje buvo aprašyti dviejose šeimose. Mūsų tiriamajam, turinčiam sunkią IN, mikrocefaliją, epilepsiją, optinių diskų atrofiją, kurtumą ir kitus klinikinius požymius, naujos kartos sekoskaitos metodu nustatytas *NSDHL* geno p.(Gly152Asp) variantas. Jis patvirtintas visoms ligos nešiotojoms šeimoje. Šis tyrimas praplėtė žinias apie cholesterolio biosintezės ligų įvairovę ir CK sindromo klinikinę raišką [30]. Rezultatai gauti bendradarbiaujant su La Fe universitetinės ligoninės Genetikos skyriaus mokslininkais (Valensija, Ispanija).

MIDI geno patogeniniai variantai lemia genetiškai heterogeninį Opitz G/BBB sindromą. Dauguma nustatytų mutacijų yra unikalios, todėl genotipo ir fenotipo sąsajų analizė yra sudėtinga. Šiame moksliniame darbe analizuotas pasikartojančių *MIDI* geno mutacijų spektras [31].

POMK geno bialeliniai patogeniniai variantai lemia dviejų tipų distroglikanopatijas. Tai yra labai reta patologija, pasaulyje aprašyta tik 10 pacientų. Šiame moksliniame darbe nustatyti pokyčiai dviejų negiminingų tiriamųjų *POMK* gene. Vienas klinikinių požymių yra hidrocefalija, diagnozuota vaisiui 15 nėštumo savaitę. Klinikinių ir molekuli- nių tyrimų rezultatai patvirtino patogeninių pokyčių asociaciją su raumenų distrofijos – distroglikanopatijos su smegenų ir akių patologija, A12 tipo fenotipu [32].

Naujo genetinio sindromo nustatymas

Lietuvių šeimos, tetrados (dviejų IN turinčių sibsų ir jų tėvų) viso egzomo sekoskaitos tyrimu sibsams nustatyti *KIAA1109* geno variantai – c.3983A>C ir c.5599G>A sudėtinės heterozigotinės būklės. *KIAA1109* genas tyrimo metu nebuvo siejamas su ligomis. Bendradarbiaujant su tyrėjais iš kitų šalių (Šveicarijos, Saudo Arabijos, Prancūzijos, Nyderlandų, Singapūro, Italijos, Jungtinės Karalystės ir JAV), papildomai surinktos 9 negiminingos šeimos,

iš kurių 13 asmenų nustatyti *KIAA1109* geno galimai patogeniniai variantai – homozigotinės arba sudėtinės heterozigotinės būklės. Atlikus šių asmenų klinikinių ir molekulinį duomenų analizę, apibrėžtas naujas autosominio recesyvaus paveldėjimo sindromas, pavadintas Alkuraya-Kučinskas sindromu (MIM 617822). Sindromo pavadinimą sudaro dviejų šalių, kuriose atitinkamai identifiukuota sunkiausias ir lengviausias požymius turinčių sergančių asmenų, tyrimų vadovų pavardės. Pagrindiniai sindromui būdingi klinikiniai požymiai – galvos smegenų atrofiniai pakitimai ir artrogripozė. Būna įvairių galvos smegenų pakitimų: smegenų parenchimos suplonėjimas ir lisencefalija, taip pat ventrikulomegalija, smegenėlių hipoplazija, smegenų kamieno disgenezė. Be to, sindromui būdingos įgimtos širdies ydos ir akių anomalijos – mikroftalmija ir katarakta. Geno funkcijos netekimą lemiantys patogeniniai variantai yra nesuderinami su gyvybe ir lemia letalias baigtis vaisiaus periodu. *Misens* variantus turintiems asmenims buvo sunkus įvairiapusis psichomotorinės raidos sutrikimas, IN, raumenų hipotonija, dėl kurios asmenys nepajėgia savarankiškai atsistoti ar vaikščioti [33]. Atlikus zebražuvių ortologinio geno išjungimo eksperimentus, embrionams nustatyta hidrocefalija ir pakitusi kūno forma [33]. Zebražuvių *kia1109* mutantinės linijos buvo sukurtos naudojant *CRISPR Cas9* genomo redagavimo sistemą. 2020 m. tarptautinėje mokslinėje spaudoje vis daugiau dėmesio buvo skiriama naujam akad. V. Kučinsko vardu pavadintam genetiniam sindromui – Alkuraya-Kučinskas sindromui (Kumar K., Bellad A., Prasad P., Girimaji S. C., Muthusamy B. *KIAA1109 gene mutation in surviving patients with Alkuraya-Kučinskas syndrome: a review of literature. BMC Med Genet.* 2020 Jun 26, 21(1): 136; Gueneau L., Kučinskas V., Alkuraya F. S., Reymond A. *KIAA1109 Variants Are Associated with a Severe Disorder of Brain Development and Arthrogryposis. Am J Hum Genet.* 2018 Jan 4, 102(1): 116–132; Meszarosova A. U. et al. *Two novel pathogenic variants in KIAA1109 causing Alkuraya-Kučinskas syndrome in two Czech Roma brothers. Clin Dysmorphol.* 2020 Oct, 29(4): 197–201; Filatova A., Freire V. et al. *Novel KIAA1109 variants affecting splicing in a Russian family with ALKURAYA-KUČINSKAS syndrome. Clin Genet.* 2019 Mar, 95(3): 440–441).

Epigenetiniai IN mechanizmai

Įgimtas imprintingo (įspaudu) ligas lemia genų ar genomo sričių, kurių raiška vyksta priklausomai nuo chromosomos kilmės (motininės ar tėvinės), molekuliniai pokyčiai. Žinoma daugiau nei 250 žmogaus genomo genų, kurių raiška reguliuojama pagal paveldėjimą. Nemažai IN lemiančių genų yra siejama su epigenomo veiksniais – baltymais, kurių funkcija susijusi su viso genomo histonų potranslaciine modifikacija, DNR bazių modifikacija ar kitais kovalentiniais ir nekovalentiniais chromatino pokyčiais [29, 34]. Pavyzdžiui, metil-CpG jungiantis baltymas MECP2, histono H3 lizino K4 demetilazė JARID1c ir histono H3 lizino K9 histonų metiltransferazė EHMT1. Dalis IN lemian-

čių epigenomo baltymų veikia kompleksuose, kurie reguliuoja genų, svarbių normaliam neuronų vystymuisi ir veiklai, chromatino struktūrą.

15q11-13 hipo- ir (ar) hipermetilinizimas. Iširta daugiau nei 100 asmenų, kuriems įtariamas Prader-Willi sindromas (PWS) arba Angelmano sindromas (AS). PWS etiologija: 75 % – delecijos 15q11-q13 tėvinėje chromosomoje; 24 % – vientėvė motininių chromosomų disomija; 1 % – dėl imprintingo sutrikimų (imprintingo centro patogeninis pokytis). AS etiologija: 70 % – *de novo* intersticinės 4–6 Mb delecijos 15q11.2-q13 motininėje chromosomoje; 2–5 % – vientėvė tėvinių chromosomų disomija; 2–5 % – dėl imprintingo sutrikimų (imprintingo centro patogeninis pokytis); 5–10 % – dėl mutacijos E3 ubichitino proteinligazės gene (*UBE3A*); kiti mechanizmai. 17 % tiriamųjų buvo nustatytas 15q11-13 genomo srities metilinizimo sutrikimas [35, 36].

11p15.5 hipo- ir (ar) hipermetilinizimas. Silver-Russell sindromas (SRS) yra reta būklė, siejama su prenataliniu ir postnataliniu augimo atsilikimu. Kiti sindromui būdingi požymiai apima sąlyginę makrocefaliją (1,5 SN, palyginti su gimimo svoriu ir ūgiu), iškilį kaktą, kūno asimetriją ir maitinimo sunkumus. Molekulinė genetinė SRS diagnozė nustatoma tik maždaug 60 % pacientų, kuriems šis sindromas diagnozuotas kliniškai. Vieni dažniausių molekulinį SRS mechanizmų yra 11p15.5 srities hipometilinizimas (30–60 % SRS pacientų) ir *upd(7)mat* (5–10 % SRS pacientų). Beckwith-Wiedemann sindromas (BWS) yra daugelį organų sistemų pažeidžianti liga, turinti įvairių klinikinę išraišką ir sudėtingą molekulinę etiologiją. BWS pasireiškia makroglosija, pilvo sienos defektais, lateraliizuota hemihiperplazija, padidėjusiais pilvo organais ir padidėjusia embrioninės kilmės navikų rizika ankstyvoje vaikystėje. BWS dažniausiai lemia genetiniai arba epigenetiniai pokyčiai 11-osios chromosomos p15.5 regione. Šiame regione yra įspaudu (ang. *imprinted*) genai, tokie kaip *CDKN1C* ir *IGF2*, svarbūs vaisiaus augimo reguliacijai. Šio tyrimo metu ištyrus daugiau nei 30 pacientų, 40 % tiriamųjų nustatytas 11p15.5 genomo srities ICR2 (*CDKN1C*, *KCNQ1*, *KCNQ1OT1/LIT1*) hipometilinizimo molekulinis mechanizmas, 15 % – ICR1 (*H19*, *IGF2*) hipometilinizimas [36].

UPD7. Pritaikius metilinizimui specifinės dauginės li-guojamų zondų amplifikacijos metodą, nustatyta motininės kilmės vientėvė 7-osios chromosomos disomija [35], lemianti tiriamosios klinikinius SRS požymius. Rezultatai gauti bendradarbiaujant su Acheno universiteto Žmogaus genetikos instituto mokslininkais (Achenas, Vokietija).

IGF2. Viso egzomo sekoskaitos tyrimu pacientei nustatytas pokytis *IGF2* gene NM_001127598:c.381T>G, p.(C127W). Pokyčiai šiame gene siejami su SRS, *IGF2* geno raiška vyksta iš tėvo paveldėtame alelyje. Nustatyto neaprašyto varianto segregacijos analizė rodo, kad NM_001127598:c.381T>G pokytis lemia tiriamosios klinikinius SRS požymius. Rezultatai gauti bendradarbiaujant su Acheno universiteto Žmogaus genetikos instituto mokslininkais (Achenas, Vokietija) [36].

Populiacijos centrinių nervų sistemos raidos sutrikimus lemiančių genomo sričių analizė

Gamtinė atranka yra pagrindinis evoliucijos veiksnys, galintis keisti genomo struktūrą. Mikroevoliuciniai ir aplinkos veiksniai lemia populiacijos gebėjimą prisitaikyti prie kintamų ir skirtingų aplinkos sąlygų. Teigiamas gamtinės atrankos nustatymas žmonių populiacijoje suteikia galimybę suprasti šiuolaikinių žmonių fenotipus ir gebėjimą prisitaikyti prie kintamų aplinkos sąlygų. Gamtinės atrankos veikiančių genomo sričių identifikavimas gali padėti nustatyti jų poveikį fenotipui ir identifikuoti adaptyvius alelius. Tokie tyrimai ne tik papildo fundamentaliojo mokslo žinias, bet ir padeda geriau suprasti egzistuojančius ryšius tarp gamtinės atrankos bei ligų ir evoliucinius mechanizmus, dėl kurių polinkis sirgti tam tikromis ligomis yra skirtingas tiek individų, tiek populiacijos lygmeniu [37, 38].

IN lemiančių variantų patogeniškumo vertinimas vis dar yra didelis iššūkis šiuolaikinėje medicininėje genomikoje. Vienas iš būdų vertinti nustatytų kopijų skaičiaus pokyčių ar DNR sekos variantų galimą įtaką IN raiškos mechanizmomams yra tiriamos populiacijos struktūros charakterizavimas [24, 39]. Pakankamas variacijos apibūdinimas leidžia panaudoti gaunamus duomenis tiriamųjų fenotipo kontekste [40], tiriant paveldimus ir įgimtus CNS raidos sutrikimus. Plataus masto viso genomo asociacijų analizės duomenys yra naudojami išaiškinti persidengiančių centrinių nervų sistemos raidos sutrikimų kilmę ir funkcinės bei klinikinės raiškos veiksnius [41–50]. Atlikti tyrimai leidžia patvirtinti nustatytus patogeninius (paveldėtus ir *de novo*) variantus lemiančius IN klinikinius požymius.

Centrinių nervų sistemos raidos neurologinių ir susijusių fenotipų išskyrimo ir genetinio pagrindo išaiškinimas leidžia ištirti jų raiškos biologinius mechanizmus [1]. Tačiau išsamus tiriamųjų fenotipų apibūdinimas, skirtingas klinikinių požymių pasireiškimo amžius, IN sunkumas ir raiška yra didelis iššūkis, nes panašius klinikinius požymius lemia skirtingi ir nepersidengiantys mechanizmai [48–50].

Intelektinės negalios genomines architektūros kompleksiško tyrimų praktinė vertė

Atliktas mokslinis darbas turi neabejotiną praktinę vertę. Mokslinio tyrimo metu įvaldžius molekulinio kariotipavimo ir naujos kartos sekoskaitos metodus, buvo atnaujintos pacientų, turinčių IN, ištyrimo gairės [51]. Šie modernūs tyrimai įdiegti diagnostikoje ir pradėti rutiniškai taikyti, tiriant IN turinčius pacientus.

Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Medicininės genetikos centro Molekulinės genetikos ir citogenetikos laboratorijoje (VULSK MGC MGCL) molekulinio kariotipavimo metodas įdiegtas 2015 m. Ištyrus daugiau nei 1500 pacientų, kurių dauguma turi centrinių nervų sistemos raidos sutrikimų, nustatyta, kad diagnostinis šių tyrimų efektyvumas yra 12 %. Nustatytų (galimai) patogeninių kopijų skaičiaus pokyčių ir sudėtingų struktūrinių

persitvarkymų interpretaciją palengvina ir šio darbo mokslininkų gauti rezultatai. Taip pat sukurta ir nuolat atnaujinama nustatytų pokyčių duomenų bazė. Tai leidžia vertinti Lietuvos pacientams nustatomus pokyčius populiacijos kontekste.

Visos koduojančios žmogaus genomo sekos (egzomo) tyrimas diagnostikoje (Lietuvoje) taikomas nuo 2018 m. Diagnostinis šio tyrimo efektyvumas VULSK MGC MGCL yra daugiau nei 50 %, kai identifikuojami patogeniniai variantai, kurie galėtų paaiškinti tiriamųjų klinikinių požymių priežastis.

Epigenetinių mechanizmų veiksniams nustatyti VULSK MGC MGCL taikomi molekulinio kariotipavimo, metilinizacijai specifinės liguojamų zondų amplifikacijos, realiojo laiko polimerazės grandininės reakcijos, viso žmogaus egzomo sekoskaitos tyrimo metodai.

Lietuvoje asmens sveikatos priežiūros įstaigų genetinius tyrimus atliekančios laboratorijos yra licencijuojamos pagal Lietuvos Respublikos sveikatos ministerijos 2007 m. gruodžio 5 d. įsakymą Nr. V-998 ir kitus laboratorijos bei jose dirbančių specialistų (medicinos genetikų ir gydytojų genetikų) kompetencijas ir kvalifikaciją apibrėžiančius teisės aktus. Visi genetinių tyrimų laboratorijose taikomi metodai yra validuojami ir vertinami tarptautiniu mastu, dalyvaujant išorinės kokybės tarplaboracinėse lyginamosiose programose, taip pat laikantis tarptautinio standarto ISO EN 15189 „Medicinos laboratorijos. Kokybės ir kompetencijos reikalavimai“ reikalavimų. Naujų šiuolaikinių technologijų metodų (į)diegimas ir diagnostinis taikymas kelis kartus padidino asmenų, turinčių IN, molekulinės diagnozės nustatymo efektyvumą.

Pacientui, jo šeimai ir gydytojui genetinio konsultavimo kontekste yra neabejotinai svarbu žinoti molekulinę diagnozę. Tam tikrais atvejais pacientui gali būti skiriamas gydymas, tam tikros intervencijos, konsultacijos, išankstinis patikrinimas dėl galimų ligos komplikacijų ir funkcinių sutrikimų, sudarytas mokymo planas bei išvengiama įvairių nereikalingų tyrimų. Šeimai yra naudingas ligos nešiotojų išaiškinimas, prognozės šeimai pateikimas, efektyvi prenatalinė ir preimplantacinė diagnostika, įtraukimas į atitinkamas medicinines, socialines, paramos organizacijas, konkretus mokymas ir bendravimas su tokią pat diagnozę turinčiomis šeimomis. Žinodamas diagnozę, gydytojas gali stebėti mokslo pažangą ir naujas mokslo galimybes, koreguoti paciento priežiūros planą ir gydymą.

Neabejojama, kad artimoje ateityje diagnostinius tyrimus papildys viso genomo ir transkriptomo sekoskaitos tyrimai. Remiantis šiais tyrimais ir pasitelkiant tam tikrus funkcinius tyrimus, bus efektyviai interpretuojami tiek koduojančiose, tiek nekoduojančiose DNR srityse nustatomi variantai.

APIBENDRINIMAS

Šioje darbų apžvalgoje aptariama naujausios technologijos, taikytos didelei imčiai tiriamųjų IN genominiams priežastims tirti. Molekulinio kariotipavimo tyrimų rezultatai

suteikė išsamesnės informacijos apie pacientų, turinčių patogeninių kopijų skaičiaus pokyčių, fenomeną. Išaiškintų chromosominių persitvarkymų analizė atskleidė naujų patogeninių kopijų skaičiaus pokyčių (pvz., 7p22.1 mikroduplicacijos, 17q21.33 mikrodelecijos ir kt.) klinikinius ypatumus. Nustatyti reti submikroskopiniai pokyčiai papildė žinomų genetinių sindromų fenotipų spektrą. Dauge- liu atvejų buvo išskirti nauji IN kandidatiniai genai, analizuoti jų signaliniai keliai ir raiškos ypatumai. Vieno geno ar jo dalies iškritų nustatymas (2q34 mikrodelecija, apimanti dalį *ERBB4* geno, 4q28.3 mikrodelecija, apimanti *PCDH18* geną) patvirtino šių genų haplonepakankamumo reikšmę IN patogenezėje. 5q35.3 mikroduplicacijos anali- zė buvo svarbi atskleisti DNR sritį, galimai reikšmingą *NSD1* geno raiškai.

Naujos kartos sekoskaitos metodais buvo nustatyti nauji žinomų IN genų patogeniniai variantai. Klinikinių ir molekulinį duomenų charakterizavimas žinomų sindromų atvejais yra svarbus genotipo ir fenotipo ryšio analizei, karštųjų mutacijų taškams ir funkciškai svarbiems balty- mo domenams nustatyti. Atlikto mokslinio darbo metu aprašyta trečioji šeima pasaulyje, kurios kelių kartų asme- nims buvo diagnozuotas CK sindromas. Šios šeimos tiri- mųjų fenotipo ir molekulinį rezultatų analizė praplėtė ži- nias apie cholesterolio biosintezės svarbą CNS raidai ir su ja susijusių ligų įvairovę. Nustačius naują patogeninį *SOX9* geno variantą, apibūdintas pranykstančios kampome- lijos fenotipas prenataliniu akampomelinės kampome- linės displazijos formavimosi laikotarpiu. Tiriamajam, tu- rėjusiam anksčiau neaprašytą *TREX1* geno variantą, atli- kus histologinius tyrimus, nustatyta uždegiminė miopati- ja praplėtė fenotipinį Aicardi-Goutieres sindromo aprašymą. Darbo metu taip pat išaiškintas splaisingo variantų *GLI3* ir *CHD7* genuose poveikis iRNR sukirpimui.

Epigenetinių veiksnių įtaka IN patogenezei patvirtinta nustačius molekulinį pokyčius žinomose su įspaudu (imprintingo) ligomis siejamose žmogaus genomo srityse (15q11-13, 11p15), taip pat naujus iki šiol duomenų bazė- se ar mokslinėje literatūroje neaprašytus patogeninius se- kos variantus.

Taikant šiuolaikinės technologijos molekulinį gene- tinį tyrimo metodus IN lemiantiems etiopatogenezės mechanizms išaiškinti, variantų (ne)patogeniškumui vertinti taikoma ir vidupopuliacinė bei tarppopuliacinė va- riantų dažnių analizė – variantų dažnis, pasiskirstymas ir paveldėjimas, genealogijų segregacijos analizė. Centrinės nervų sistemos raidos sutrikimų kilmei ir funkcinės bei kli- nikinės raiškos veiksniams nustatyti buvo pasitelkti pla- taus masto viso genomo asociacijos tyrimų biostatistiniai metodai; taip pat išplėsti naujų genomo sričių asociacijos su IN tolesni tyrimai. Lietuvos populiacijai būdingų speci- finių genomo variantų katalogas papildė kuriamą referen- tinio lietuvių genomo duomenų bazę ir yra svarbus toles- nių bendros Lietuvos populiacijos ar klinikinių kohortų ty- rimų pagrindas.

Bendradarbiaujant su kitų šalių mokslininkais, nusta- tytas naujas IN genas, *KIAA1109*, kurio patogeninių va- riantų lemiamas genetinis sindromas pavadintas Alkura-

ya-Kučinskas sindromu (MIM 617822) [33]. Tai yra vie- nas iš nedaugelio genetinių sindromų, kuriam suteiktas lie- tuvių mokslininko vardas. Sindromui būdingi specifiniai klinikiniai požymiai leis jį diagnozuoti kitiems tiriamie- siems, turėjusiems iki šiol idiopatinei priskirtą IN.

Genetinės diagnozės nustatymas yra svarbus, norint suprasti IN problemos esmę, šių sutrikimų etiologiją ir pa- togenezės mechanizmus. Šios žinios, kartu su molekulinės diagnostikos ir funkcinį tyrimų galimybių plėtra, yra svarbios naujoms diagnostikos ir gydymo strategijoms kurti ateityje.

PADEKA

Darbo autoriai dėkoja kolegoms už bendradarbiavimą ir jų indėlį. Tai:

dr. Beata Aleksūnienė, Justas Arasimavičius, dr. Biru- tė Burnytė, dokt. Evelina Dagytė, dr. Vaidas Dirsė, dr. In- grida Domarkienė, dokt. Kristina Grigalionienė, doc. dr. Dovilė Karčiauskaitė, dr. Ingrida Kavaliauskienė (Uk- tverytė), dr. Jūratė Kasnauskienė, prof. habil. dr. Zita Auš- relė Kučinskienė, doc. dr. Živilė Maldžienė (Čiuladaitė), doc. dr. Aušra Matulevičienė, dr. Violeta Mikštienė, doc. dr. Alma Molytė, doc. dr. Aušra Morkūnienė, dokt. Gunda Petraitytė, doc. dr. Erinija Pranckevičienė, dr. Laura Pranckėnienė, dr. Tautvydas Rančelis, dr. Evelina Siavrie- nė (Gasperskaja), dr. Vytautas Šliužas, dr. Birutė Tumie- nė, dr. Alina Urnikytė, Evelina Vaitėnienė (Blažytė).

Taip pat užsienio kolegoms ir mokslininkų grupėms: prof. Giovanni Romeo, prof. Alexandre Reymond, prof. Thomas Eggermann, prof. Andres Metspalu, prof. Philippos C. Patsalis, prof. Ségolène Aymé.

Literatūra

1. Brainstorm Consortium, Anttila V, Bulik-Sullivan B, Finucane HK, et al. Analysis of shared heritability in common disorders of the brain. *Science* 2018; 360(6395): eaap8757. <https://doi.org/10.1126/science.aap8757>
2. Čiuladaitė Ž, Preikšaitienė E, Kasnauskienė J, et al. Moleku- linis kariotipavimas ir intelektinės negalios genetinės prie- žastys: klinikiniai atvejai. *Sveikatos mokslai* 2012; 1: 67–72. <https://doi.org/10.5200/sm-hs.2012.010>
3. Preikšaitienė E, Kasnauskienė J, Čiuladaitė Ž, et al. Clinical and molecular characterization of a second case of 7p22.1 microduplication. *Am J Med Genet A* 2012; 158A(5): 1200–3. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35300>
4. Preikšaitienė E, Männik K, Dirsė V, et al. A novel de novo 1.8 Mb microdeletion of 17q21.33 associated with intellec- tual disability and dysmorphic features. *Eur J Med Genet* 2012; 55: 656–9. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2012.07.008>
5. Preikšaitienė E, Kučinskas V. Molekulinės citogenetikos kli- nikinis pritaikymas nustatant protinio atsilikimo etiologiją. *Laboratorinė medicina* 2010; 3(47): 132–6.
6. Kalibataitė I, Rutkauskas V, Preikšaitienė E, et al. Establish- ing genetic diagnosis of intellectual disability in children: di- agnostic yield of various genetic approaches. *Acta Med Litu* 2012; 19(4): 409–15. <https://doi.org/10.6001/actamedica.v19i4.2550>

7. Molytė A, Kučinskas V, Matulevičienė A, et al. Genotipo ir fenotipo duomenų analizė ir vizualizavimas. *Computational Science and Techniques* 2013; 1(2): 141–54. <https://doi.org/10.15181/csar.v1i2.78>
8. Preikšaitienė E, Molytė A, Kasnauskienė J, et al. Considering specific clinical features as evidence of pathogenic copy number variants. *J Appl Genet* 2014; 55(2): 189–96. <https://doi.org/10.1007/s13353-014-0197-x>
9. Dapkutė A, Preikšaitienė E. Su X chromosoma susijusi intelektinė negalia: literatūros apžvalga. *Laboratorinė medicina* 2017; 19(4): 255–62.
10. Blažytė E, Preikšaitienė E. Phelan-McDermid sindromo klinikinis apibūdinimas. *Laboratorinė medicina* 2017; 19(3): 174–7.
11. Aleksūnienė B, Matulevičiūtė R, Matulevičienė A, et al. Opposite chromosome constitutions due to a familial translocation t(1;21)(q43;q22) in 2 cousins with developmental delay and congenital anomalies: a case report. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96(16): e6521. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000006521>
12. Aleksūnienė B, Preikšaitienė E, Morkūnienė A, et al. A de novo 1q22q23.1 interstitial microdeletion in a girl with intellectual disability and multiple congenital anomalies including congenital heart defect. *Cytogenet Genome Res* 2018; 154(1): 6–11. <https://doi.org/10.1159/000486947>
13. Kasnauskienė J, Čiuladaitė Ž, Preikšaitienė E, et al. A new single gene deletion on 2q34: ERBB4 is associated with intellectual disability. *Am J Med Genet A* 2013; 161(6): 1487–90. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35911>
14. Kasnauskienė J, Čiuladaitė Ž, Preikšaitienė E, et al. A single gene deletion on 4q28.3: PCDH18 – a new candidate gene for intellectual disability? *Eur J Med Genet* 2012; 55(4): 274–7. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2012.02.010>
15. Preikšaitienė E, Benušienė E, Matulevičienė A, et al. SOX9 p.Lys106Glu mutation causes acampomelic campomelic dysplasia: prenatal and postnatal clinical findings. *Am J Med Genet A* 2016; 170(3): 781–4. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37466>
16. Preikšaitienė E, Ambrozaitytė L, Maldžienė Ž, et al. Identification of genetic causes of congenital neurodevelopmental disorders using genome wide molecular technologies. *Acta Med Litu* 2016; 23(2): 73–85. <https://doi.org/10.6001/actamedica.v23i2.3324>
17. Maldžienė Ž, Preikšaitienė E, Ignotienė S, et al. A de novo pericentric inversion in chromosome 4 associated with disruption of PITX2 and a microdeletion in 4p15.2 in a patient with Axenfeld-Rieger syndrome and developmental delay. *Cytogenet Genome Res* 2017; 151(1): 5–9. <https://doi.org/10.1159/000456695>
18. Kasnauskienė J, Cimbalistienė L, Čiuladaitė Ž, et al. De novo 5q35.5 duplication with clinical presentation of Sotos syndrome. *Am J Med Genet A* 2011; 155(10): 2501–7. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.34179>
19. Tumienė B, Maldžienė Ž, Preikšaitienė E, et al. Phenotype comparison confirms ZMYND11 as a critical gene for 10p15.3 microdeletion syndrome. *J Appl Genet* 2017; 58(4): 467–74. <https://doi.org/10.1007/s13353-017-0408-3>
20. Preikšaitienė E, Tumienė B, Maldžienė Ž, et al. Features of KAT6B-related disorders in a patient with 10q22.1q22.3 deletion. *Ophthalmic Genet* 2017; 38(4): 383–6. <https://doi.org/10.1080/13816810.2016.1227452>
21. Čiuladaitė Ž, Preikšaitienė E, Utkus A, et al. Relatives with opposite chromosome constitutions, rec(10)dup(10p)inv(10)(p15.1q26.12) and rec(10)dup(10q)inv(10)(p15.1q26.12), due to a familial pericentric inversion. *Cytogenet Genome Res* 2014; 144(2): 109–13. <https://doi.org/10.1159/000368863>
22. Maldžienė Ž, Bulanovaitė E, Aleksūnienė B, et al. 16p13.11-p12.3 microdeletion identified in a patient with sagittal craniosynostosis and developmental delay. *Clin Dysmorphol* 2019; 4(4): 195–7. <https://doi.org/10.1097/MCD.0000000000000285>
23. Čiuladaitė Ž, Kasnauskienė J, Cimbalistienė L, et al. Mental retardation and autism associated with recurrent 16p11.2 microdeletion: incomplete penetrance and variable expressivity. *J Appl Genet* 2011; 52(4): 443–9. <https://doi.org/10.1007/s13353-011-0063-z>
24. Rančelis T, Arasimavičius J, Ambrozaitytė L, et al. Analysis of pathogenic variants from the ClinVar database in healthy people using next-generation sequencing. *Genetics Research* 2017; 99: E6. <https://doi.org/10.1017/S0016672317000040>
25. Gasperskaja E, Kučinskas V. The most common technologies and tools for functional genome analysis. *Acta Med Litu* 2017; 24(1): 1–11. <https://doi.org/10.6001/actamedica.v24i1.3457>
26. Siavrienė E, Mikštienė V, Radzevičius D, et al. Novel GLI3 variant causes Greig cephalopolysyndactyly syndrome in three generations of a Lithuanian family. *Mol Genet Genomic Med* 2019; 7(9): e878. <https://doi.org/10.1002/mgg3.878>
27. Siavrienė E, Petraitytė G, Mikštienė V, et al. A novel CHD7 variant disrupting acceptor splice site in a patient with mild features of CHARGE syndrome: a case report. *BMC Medical Genetics* 2019; 20: 127. <https://doi.org/10.1186/s12881-019-0859-y>
28. Pranckėnienė L, Preikšaitienė E, Gueneau L, et al. De novo duplication in the CHD7 gene associated with severe CHARGE syndrome. *Genomics Insights* 2019; 12: 1178631019839010. <https://doi.org/10.1177/1178631019839010>
29. Tumienė B, Voisin N, Preikšaitienė E, et al. Inflammatory myopathy in a patient with Aicardi-Goutières syndrome. *Eur J Med Genet* 2017; 60(3): 154–8. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2016.12.004>
30. Preikšaitienė E, Caro A, Benušienė E, et al. A novel missense mutation in the NSDHL gene identified in a Lithuanian family by targeted next-generation sequencing causes CK syndrome. *Am J Med Genet A* 2015; 167(6): 1342–8. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36999>
31. Preikšaitienė E, Krasovskaja N, Utkus A, et al. R368X mutation in MID1 among recurrent mutations in patients with X-linked Opitz G/BBB syndrome. *Clin Dysmorphol* 2014; 24(1): 7–12. <https://doi.org/10.1097/MCD.0000000000000059>
32. Preikšaitienė E, Voisin N, Gueneau L, et al. Pathogenic homozygous variant in POMK gene is the cause of prenatally detected severe ventriculomegaly in two Lithuanian families. *Am J Med Genet A* 2020; 182(3): 536–42. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.61453>
33. Gueneau L, Fish RJ, Shamseldin HE, et al. KIAA1109 variants are associated with a severe disorder of brain development and arthrogryposis. *Am J Hum Genet* 2018; 102(1): 116–32. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.12.002>
34. Hübner CT, Meyer R, Kenawy A, et al. HMG2 variants in Silver-Russell syndrome: homozygous and heterozygous occurrence. *J Clin Endocrinol Metab* 2020; 105(7): 2401–7. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa273>

35. Sachwitz J, Meyer R, Fekete G, et al. NSD1 duplication in Silver-Russell syndrome (SRS): molecular karyotyping in patients with SRS features. *Clinical Genetics* 2017; 91(1): 73–8. <https://doi.org/10.1111/cge.12803>
36. Sachwitz J, Strobl-Wildemann G, Fekete G, et al. Examinations of maternal uniparental disomy and epimutations for chromosomes 6, 14, 16 and 20 in Silver-Russell syndrome-like phenotypes. *BMC Medical Genetics* 2016; 17: 20. <https://doi.org/10.1186/s12881-016-0280-8>
37. Urnikytė A, Domarkienė I, Stoma S, et al. CNV analysis in the Lithuanian population. *BMC Genetics* 2016; 17: 64. <https://doi.org/10.1186/s12863-016-0373-6>
38. Urnikytė A, Flores-Bello A, Mondal M, et al. Patterns of genetic structure and adaptive positive selection in the Lithuanian population from high-density SNP data. *Scientific Reports* 2019; 9: 9163. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45746-3>
39. Pranckevičienė E, Rančelis T, Pranculis A, et al. Challenges in exome analysis by LifeScope and its alternative computational pipelines. *BMC Res Notes* 2015; 8: 421. <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1385-4>
40. Pranckėnienė L, Jakaitienė A, Ambrozaitytė L, et al. Insights into de novo mutation variation in Lithuanian exome. *Front Genet* 2018; 9: 315. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00315>
41. Ripke S, Neale B, Corvin A, et al. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 2014; 511: 421–7. <https://doi.org/10.1038/nature13595>
42. Bulik-Sullivan BK, Loh PR, Finucane H, et al. LD Score regression distinguishes confounding from polygenicity in genome-wide association studies. *Nat Genet* 2015; 47(3): 291–5. <https://doi.org/10.1038/ng.3211>
43. Vilhjalmsón BJ, Yang J, Finucane HK, et al. Modeling linkage disequilibrium increases accuracy of polygenic risk scores. *Am J Hum Genet* 2015; 97(4): 576–92. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.09.001>
44. Loh PR, Bhatia G, Gusev A, et al. Contrasting genetic architectures of schizophrenia and other complex diseases using fast variance-components analysis. *Nat Genet* 2015; 47(12): 1385–92. <https://doi.org/10.1038/ng.3431>
45. Franke B, Stein JL, Ripke S, et al. Genetic influences on schizophrenia and subcortical brain volumes: large-scale proof of concept. *Nat Neurosci* 2016; 19(3): 420–31. <https://doi.org/10.1038/nn.4228>
46. McLaughlin R, Schijven D, van Rheenen W, et al. Genetic correlation between amyotrophic lateral sclerosis and schizophrenia. *Nat Commun* 2017; 8: 14774. <https://doi.org/10.1038/ncomms14774>
47. Ni G, Moser G, Wray NR, et al. Estimation of genetic correlation via linkage disequilibrium score regression and genomic restricted maximum likelihood. *Am J Hum Genet* 2018; 102(6): 1185–94. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.03.021>
48. Ruderfer DM, Ripke S, McQuillin A, et al. Genomic dissection of bipolar disorder and schizophrenia, including 28 subphenotypes. *Cell* 2018; 173(7): 1705–15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.05.046>
49. Huckins LM, Dobbyn A, Ruderfer DM, et al. Gene expression imputation across multiple brain regions provides insights into schizophrenia risk. *Nature Genetics* 2019; 51(4): 659–74. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0364-4>
50. Kamitaki N, Sekar A, Handsaker R E, et al. Complement genes contribute sex-biased vulnerability in diverse disorders. *Nature* 2020; 582: 577–81. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2277-x>
51. Preikšaitienė E, Kasnauskienė J, Utkus A, et al. Asmenų su intelektine negalia genetinio ištyrimo gairės. *Neurologijos seminarai* 2012; 16(54): 283–8.

V. Kučinskas, E. Preikšaitienė, L. Ambrozaitytė,
L. Cimbalištienė, A. Utkus

**GENOME REARRANGEMENTS
IN NEURODEVELOPMENTAL DISORDERS
OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM: ORIGINS,
GENOMIC MECHANISMS, FUNCTIONAL AND
CLINICAL CONSEQUENCES. REVIEW ARTICLE**

Summary

Intellectual disability affects about 1-2% of the general population worldwide, and this is the leading socio-economic problem of the healthcare system. Research into the genetic causes of intellectual disability is challenging because these conditions are genetically heterogeneous with many different genetic alterations resulting in clinically indistinguishable phenotypes. Extensive molecular technologies are being used in research to determine the genetic causes of these conditions. In our research, the detection of chromosomal aberrations by molecular karyotyping and whole exome sequencing capable of uncovering pathogenic variants in any of the human genes were the main technologies used to identify the molecular causes of intellectual disability. Collaboration with foreign scientific institutions for further clinical, molecular and functional investigations of rare causes of intellectual disability has allowed the characterisation of rare known and new syndromes. We believe that new insights into the molecular causes and pathogenesis mechanisms of the intellectual disability may be useful in developing treatment options in the future.

Keywords: genome rearrangements, congenital developmental disorders, intellectual disability, Alkuraya-Kucinskas syndrome.

Gauta:
2022 03 21

Priimta spaudai:
2022 03 22