

Vaimse arengu mahajäämus ja submikroskoopiline kromosoomianalüüs – kindel sammuke etioloogilise diagnoosi suunas

Inimese genoomis ehk ühes kromosoomikomplektis olev geneetiline materjal sisaldab arvukalt polümorfisme. Polümorfismi korral esinev genoomne ümberkorraldus võib piirduda vaid ühe nukleotiidse aluse vahetumisega (ühenukleotiidne polümorfism, *single nucleotide polymorphism*, SNP), aga võib esineda ka erineva pikkusega DNA lõikude kordumist või hoopis puudumist genoomis (DNA koopiaarvu variatsioon, *copy number variation*, CNV). DNA koopiaarvu variatsiooniks nimetatakse enam kui ühe kilobaasi ehk 1000 aluspaari suuruse DNA segmendi arvu erinevust mingis genoomis võrreldes referentsgenoomiga. Kui tavaliselt esineb geen kahe koopia ehk alleelina, siis CNVde puhul on struktuursete ümberkorralduste tõttu DNA koopiaarv ehk geenidoos (geeni efektiivsete koopiate arv indiviidi genotüübis) kas suurenenud või vähenenud ning vastavalt on tegu kas DNA segmendi kordistumisega (enamasti kahekordistumise ehk duplikatsiooniga) või deleteerumisega selles piirkonnas. Lisaks deletsioonidele ja duplikatsioonidele võivad ka insertioonid ja translokatsioonid anda tulemuseks DNA koopiaarvu muutuse. CNVde mõju fenotüübile avaldub muutunud geenidoosi kaudu, sest doositundlike geenide muutunud geenikoopiate arv või reguleerivate piirkondade ümberkorraldused põhjustavad muutusi geeni või geenide ekspresioonis.

Viimaste aastate jooksul on toimunud intensiivne CNVde uurimine kogu inimese genoomi ulatuses DNA mikrokiipide abil, mis põhinevad kas võrdleval genoomsel

hübridisatsioonil (*microarray-based comparative genomic hybridization*, array-CGH) või ühenukleotiidsete polümorfismide genotüüpiseerimisel (SNP-array). Seniste uuringute kohaselt moodustavad genoomsed ümberkorraldused ligikaudu 13% iga inimese genoomist. Sellised ümberkorraldused on enamasti sporaadilised ja põhjustatud *de novo* muutustest ning esinevad 1000 – 10 000 korda sagedamini kui punktmutatsioonid. Enamik ümberkorraldusi ei põhjusta muutust fenotüübis, kuid nn geenidoositundlike piirkondade CNVdel on oluline etioloogiline roll mitmete haiguste ja häirete korral (arenguhäire ja vaimse arengu mahajäämus, epilepsia, autism, skisofreenia, Parkinsoni tõbi, Alzheimeri tõbi, kasvajakasv jms) (1).

Vaimse arengu mahajäämus (VAM) (IQ < 70) esineb erinevate uuringute andmetel 1–3%-l üldrahvastikust ning on sagedasim raske puude põhjustaja lastel ja noorukitel. Täpne IQ määramine enne 5. eluaastat ei ole võimalik standarditud ning usaldusväärsete mõõdikute ja testide puudumise tõttu. Seepärast kasutatakse erialases kirjanduses mõistet „arengu hilistumine“ (*developmental delay*), mille puhul lapsel esineb mahajäämus vähemalt kahes arenguspektri ala (peen- ja jämemotoorika, tunnetus, kõne-keel, personaalne-sotsiaalne, igapäevaelulised toimingud) näitajates vähemalt kahe standardhälbe ulatuses. Arenguhäire varane avastamine ning etioloogilise diagnoosi leidmine on otsustava tähtsusega nii lapsele endale (arendusravi ning teatud juhtudel ka põhjusliku ravi õigeaegne rakendamine) kui ka kogu perele. Korrektne geneetiline diagnoos võimaldab hinnata haiguse kordusriski ning on järgnevate raseduste korral suunitletud prenatalsete uuringute aluseks.

Kromosomaalsed aberratsioonid moodustavad olulise osa nii sündroomse (kui lisanduvad kaasasündinud väärarengud) kui ka mittesündroomse ehk idiopaatilise arengu hilistumise ja/või VAMi tekkepõhjustest. Mittebalansseeritud karüotüüp avastatakse klassikaliste karüotüüpiseerimise meetodite (mikroskopeerimine, kromosoomide värvimis- ja markeerimistehnikad, mille lahutusvõime on 5–10 Mb) abil 10–16%-l juhtudest (2). Viimastel aastatel on ilmunud mitmeid töid, kus eelnevalt klassikalise karüotüüpiseerimise läbinud arengu hilistumise ja/või VAMiga patsientidel on kuni viiendikul leitud DNA mikrokiipide ehk nn submikroskoopilise kromosoomianalüüsi abil haiguspõhjuslikke genoomseid ümberkorraldusi. Haiguspõhjuslikuks peetakse CNVd siis, kui tegemist on tuntud mikrodeletsiooni või duplikatsiooni sündroomiga, CNV sisaldab tuntud haiguspõhjuslikku geeni, CNV hõlmab geenirikast piirkonda või kui tuvastatud CNV on samalaadne n-õ haigel vanemal või lähisugulasel esinevaga. Enamasti eeldab leitud muutuse haiguspõhjuslikkuse lõplik kinnitamine mõlema vanema täiendavat uurimist (3).

S. Hayashi ühes kolleegidega avaldas hiljuti ülevaate Jaapanis moodustatud konsortsiumi (23 asutust) tulemustest ebaselge etioloogiaga hulgiväärarengutega ja/või arengu hilistumise / VAMiga patsientide kaheetapilisest uurimisest. Kõiki patsiente oli eelnevalt klassikaliste karüotüüpiseerimismeetodite abil uuritud ilma haiguspõhjusliku muutuse avastamiseta. Esimeses etapis uuriti ajavahemikul 2005–2010 diagnoositud 536 patsienti põhiliselt subtelomeerseite piirkondadele suunatud mittekommertsiaalse genikiibi abil. Koopiaarvu muutused leiti 10,1%-l juhtudest ning kõik need osutusid

ka haiguspõhjuslikuks. Järgmises etapis uuriti eelmise skriiningu põhjal negatiivse tulemusega 349 patsienti kogu genoomi katva 0,7 Mb-se lahutusvõimega DNA mikrokiipi kasutades ning selle abil tuvastati 63 patsiendil 66 muutust, mis kinnitati täiendavate analüüsides. Praegusaja teadmiste alusel osutus neist selgelt haiguspõhjuslikuks 48 CNVd (13,8%) (3).

J. Wincent jt Karolinska ülikoolihaiglast kirjeldasid 160 VAMi või hulgiväärarengutega patsiendi submikroskoopilise kromosoomianalüüsi tulemusi: 22,5%-l leiti CNV, mis 13,1%-l oli haiguspõhjuslik, kuid 9,4%-l juhtudest jäi leiu kliiniline tähendus ebaselgeks. Muutusi leiti võrdselt nii kerge, mõõduka kui ka sügava VAMiga patsientide hulgas (2).

K. Männik kolleegidega Tartu Ülikoolist avaldas SNP-array tulemused võrdlevalt 77 perekondliku idiopaatilise VAMiga patsiendi ja 1000 terve isiku kohta ning haiguspõhjuslik muutus leiti 23%-l patsientidest. Koopiaarvu muutused regioonides 15q13.3, 16p11.2 ja Xp22.31 esinesid nii iseloomuliku fenotüübiga patsientidel kui ka üldrahvastikus, viidates neid piirkondi haaravate muutuste võimalikule erinevale penetrantsusele. Penetrantsusega väljendatakse sagedust protsentides, millega mingi konkreetne genotüüp avaldub selle kandjate fenotüübis: hästi kirjeldatud võrdlusrühm (Eesti geenivaramu) loob võimaluse harva esinevate CNVde usaldusväärseks hindamiseks (4).

Kommentaar

Kõik ülalpool refereeritud uuringud on tehtud patsientidel, kellele eelnevalt tehtud klassikaline kromosoomianalüüs oli ilma haiguspõhjusliku leiuta. Uuritud rühmade andmed koguti aastatel 2005–2010. Aeg on teinud oma töö, DNA mikrokiipide kliinilisse praktikasse juurdumine on kaasa toonud mitmete uute mikrodeletsiooni- ja -duplikatsioonisündroomide kirjeldamise. Vastupidi ajalooliselt kujunenud tavale on nende puhul esmalt kirjeldatud pärilikkusaine muutus, seejärel muutust iseloomustav fenotüüp. Submikroskoopiline kromosoomiuuring on tänapäeval teatud tingimustel põhjendatult saanud esmasseks ja ökonoomseks arengu hilistumise või VAMiga patsiendi uurimismeetodiks.

Submikroskoopiline kromosoomiuuring on alates 2011. aastast Eesti Haigekassa hinnakirjas. Selle teenuse osutamise eest võtab haigekassa tasu maksmise kohustuse üle järgmistel juhtudel: 1) ebaselge etioloogiaga vaimse arengu mahajäämus või peetus, 2) autism või autisnilaadsed käitumishäired, 3) kaasasündinud hulgiväärarengud. Eestis kasutusel olev SNP-array põhine submikroskoopiline kromosoomianalüüs võimaldab lisaks CNVdele avastada ka uniparentaalset disoomiat (kromosoomi või kromosoomiosa pärinemine ainult ühelt vanemalt) ja veresugulust. Nii ongi igapäevases kliinilises praktikas

alates 2011. aastast submikroskoopiline kromosoomianalüüs osutunud esmase geneetilise uuringuna aega ja raha säästvaks arenguhäirega ja/või VAMiga patsientide puhul, kui ei ole kahtlust mõne tuntud kromosoomihaiguse või fragiilse X-i sündroomi suhtes. Arenguhäire avastamine on viimasel aastakümnel nihkunud oluliselt varasemasse eaperioodi, kuid samas kujuneb paljude geneetiliste sündroomide täielik või sündroomispetsiifiline kliiniline fenotüüp välja aastatega (Angelmani, Williamsi, Smithi-Magenise sündroomid jt) ning mitmete hästi tuntud sündroomide kliiniline pilt võib varieeruda suurtes piirides (DiGeorge'i, Phelani-McDermidi, 16p11.2 sündroomid jt). Need asjaolud tegid arenguhäirega lapse uurimise keeruliseks ja kulukaks. Haiguspõhjuslik submikroskoopiline kromosoomiuuringu tulemus välistab edasiste kulukate uuringute tegemise ning selle analüüsi haigusliku leiuta vastus võimaldab diagnostikas keskenduda harva esinevatele monogeensetele haigusetele ja ainevahetushäiretele.



Eve Õiglane-Šlik
TÜ lastekliinik,
TÜ Kliinikumi
lastekliinik
eve.oglane-slik@
kliinikum.ee

ALLIKAD

1. Stankiewicz P, Lupski JR. Structural variation in the human genome and its role in disease. *Annu Rev Med* 2010;61:437–55.
2. Wincent J, Anderlid BM, Lagerberg M, Nordenskjöld M, Schoumans J. High-resolution molecular karyotyping in patients with developmental delay and/or multiple congenital anomalies in a clinical setting. *Clin Genet* 2011;79:147–57.
3. Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, et al. Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies. *J Hum Genet* 2011;56:110–24.
4. Männik K, Parkel S, Palta P, et al. A parallel SNP array study of genomic aberrations associated with mental retardation in patients and general population in Estonia. *Eur J Med Genet* 2011;54:136–43.