

Генетика умственной отсталости

А.В. Лавров^{1,2}, А.В. Банников¹, А.И. Чаушева¹, Е.Л. Дадали¹¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

Genetics of mental retardation

A.V. Lavrov^{1,2}, A.V. Bannikov¹, A.I. Chausheva¹, E.L. Dadali¹¹Research Center for Medical Genetics, Moscow;²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Умственная отсталость встречается, по разным оценкам, у 1–3% населения. Клинически принято классифицировать умственную отсталость по тяжести, однако нозологическая классификация до сих пор остается нерешенной задачей. От 25 до 50% случаев умственной отсталости являются результатом генетических нарушений на хромосомном или геномном уровне. Известны возможные варианты генетически обусловленных заболеваний — хромосомные, аутосомно-доминантные, аутосомно-рецессивные, X-сцепленные и многофакторные. В большинстве случаев клинически невозможно заподозрить конкретную причину умственной отсталости. До недавнего времени эта неопределенность не позволяла провести прицельную ДНК-диагностику и пациенты оставались без молекулярного диагноза, а семьи с такими пациентами — без возможности планирования рождения здорового ребенка. С приходом технологий высокопроизводительного параллельного секвенирования стало возможно проводить анализ не только отдельных мутаций или генов, но и целого экзоса и даже генома в клинико-диагностических целях. В обзоре рассмотрены эпидемиологические, клинические и генетические аспекты гетерогенности умственной отсталости. Приведены расчеты числа генов, дефекты которых связаны с умственной отсталостью и показаны перспективы ее диагностики новыми высокопроизводительными методами.

Ключевые слова: дети, умственная отсталость, молекулярно-генетическая диагностика, высокопроизводительное секвенирование, NGS.

Для цитирования: Лавров А.В., Банников А.В., Чаушева А.И., Дадали Е.Л. Генетика умственной отсталости. Рос вестн перинатол и педиатр 2016; 61: 6: 13–20. DOI: 10.21508/1027-4065-2016-61-6-13-20

According to various estimates, mental retardation occurs in 1–3% of the population. Mental retardation is customary to clinically classify in terms of its severity; however, its classification still remains a challenge. Gene or chromosome abnormalities are responsible for 25 to 50% of mental retardation cases. Possible variants of genetically determined disorders are known as chromosomal, autosomal dominant, autosomal recessive, X-linked, and multifactorial ones. The specific cause of mental retardation cannot be clinically suspected in most cases. Until recently, this uncertainty has not allowed for target DNA diagnosis and the patients have remained without molecular diagnosis, and the families of these patients could not plan the birth of a healthy child. With the advent of a high-performance parallel sequencing technology, it has become possible to analyze not only individual mutations or genes, but whole exome and even genome for clinical and diagnostic purposes. The review considers the epidemiological, clinical, and genetic aspects of the heterogeneity of mental retardation. It gives calculations of the number of genes, defects of which are associated with mental retardation and shows prospects for its diagnosis using the new high-performance diagnostic techniques.

Key words: children, mental retardation, molecular genetic diagnosis, high-performance sequencing, next-generation sequencing.

For citation: Lavrov A.V., Bannikov A.V., Chausheva A.I., Dadali E.L. Genetics of mental retardation. Ros Vestn Perinatol i Pediatr 2016; 61: 6: 13–20 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2016-61-6-13-20

Умственная отсталость является одной из самых распространенных форм инвалидности в мире и встречается у 1–3% населения [1, 2]. Умственная отсталость — врожденная или приобретенная в раннем детском возрасте (до 3 лет) задержка развития психики, проявляющаяся нарушением интеллекта и социальной адаптации.

© Коллектив авторов, 2016

Адрес для корреспонденции: Лавров Александр Вячеславович — к.м.н. — зав. лабораторией мутагенеза, Медико-генетического научного центра, доцент кафедры молекулярной и клеточной генетики медико-биологического факультета РНИМУ имени Н.И. Пирогова 117997 Москва, ул. Островитянова, д.1

Банников Артем Владимирович — научн. сотр. лаборатории Чаушева Алина Ибралиевна — к.м.н., ст.н.с. лаборатории Дадали Елена Леонидовна — д.м.н., проф., гл. научн.сотр. научно-консультативного отделения

115478 Москва, ул. Москворечье, д.1

Клинически умственную отсталость принято классифицировать по степени тяжести: легкая, среднетяжелая, тяжелая степень и глубокая [3]. Классификация по этиологическому принципу позволяет выявить 6 типов причин умственной отсталости:

- 1) генетические нарушения;
- 2) пороки развития ЦНС или синдромы множественных пороков развития неизвестного происхождения;
- 3) внешние факторы воздействия в пренатальный период;
- 4) перинатальные расстройства;
- 5) постнатально приобретенные нарушения;
- 6) идиопатическая умственная отсталость [4].

Многие авторы отмечают, что почти в половине всех случаев причины установить не удастся [5, 6], а среди установленных причин лидирует умственная

отсталость при синдроме Дауна и умственная отсталость как следствие алкоголизма [7]. Дети, у родственников которых имеется отставание интеллекта, уже изначально подвергаются большему риску возникновения ряда нарушений психики. Исключительно генетическими причинами обусловлено от 25% [8] до 50% случаев тяжелой умственной недостаточности [9]. При оценке распространенности в популяции средней и тяжелой умственной отсталости ($IQ < 50$) от 0,3 до 0,5% [10] генетически обусловленные случаи имеют частоту не менее 0,7–2,5 на 1000 новорожденных. Очевидно, более правдоподобной является верхняя граница интервала, так как только синдром Дауна дает вклад в частоту умственной отсталости не менее 1 на 700 новорожденных, т.е. 1,4:1000.

В других работах по оценке генетического вклада в причины умственной отсталости получены в целом аналогичные показатели. Например, в недавнем исследовании определяли вклад генетических факторов в умственную отсталость у детей в возрасте от 2 до 4 лет [11]. Под наблюдением находился 4231 ребенок и 214 из них были включены в исследование. По итогам наблюдений и с учетом различных обстоятельств в окончательное исследование вошел 151 ребенок с умственной отсталостью, причины которой были: экологические факторы ($n=67$), неонатальные осложнения ($n=20$), следствие других заболеваний ($n=14$), идиопатические ($n=19$) и генетические ($n=31$). Авторы отмечают, что умственная отсталость, вызванная генетическими причинами, в их исследовании составила 20,5%, что согласуется с данными других авторов о генетических причинах умственной отсталости (15–50%) [12–16]. Распространенность генетически обусловленной умственной отсталости в исследуемой когорте составила 0,82% по оценке авторов [11], т.е. 8,2 на 1000 новорожденных, общая распространенность умственной отсталости – 3,56%.

Эпидемиология и классификация генетически обусловленной умственной отсталости

Генетически обусловленная умственная отсталость встречается при трех группах заболеваний:

- хромосомные;
- моногенные;
- многофакторные.

К группе *хромосомных болезней* относятся все случаи умственной отсталости с доказанными хромосомными абберациями, включая трисомии по хромосомам 21, 18, 13, синдромы Ангельмана, Прадера–Вилли, Вильямса, кошачьего крика и другие микроделеционные синдромы.

К группе *моногенных заболеваний* относят случаи умственной отсталости, сопровождающей болезни, вызванные генными мутациями. Тип наследования при этом может быть аутосомно-доминантным, аутосомно-рецессивным, X-сцепленным и митохондриальным. Например, к этой группе причисляют

умственную отсталость при туберозном склерозе, фенилкетонурии, болезни Тея–Сакса, синдроме Смита–Лемли–Опица, синдроме Мартина–Белла, синдроме MELAS.

К группе *многофакторных заболеваний* относят случаи умственной отсталости с семейной интеллектуальной инвалидностью и дефектами нервной трубки. Умственная отсталость при этом развивается в результате гипоксии и травм в неонатальном периоде при наличии предрасположенности, оценить которую в настоящее время невозможно, так как формирование головного мозга обусловлено многими генами, а полиморфизмы в них имеют различные популяционные частоты и разную функциональную роль, что затрудняет поиск корреляций фенотипа с генотипом.

Оценки распространенности и заболеваемости крайне противоречивы и неполны. Хромосомная патология и синдромальные формы занимают первое место в структуре умственной отсталости. Самой частой причиной генетически обусловленной умственной отсталости является синдром Дауна с частотой 1:700–800 новорожденных [17]. Также вносят свой вклад и другие частые синдромы: синдром Эдвардса (трисомия хромосомы 18) – 1:6000–8000 и синдром Патау (трисомия хромосомы 13) – 1:7800–14000. По-видимому, существенный вклад в структуру умственной отсталости вносят микроделеционные синдромы, однако точно оценить их значение пока не удастся. С одной стороны, методы их диагностики остаются дорогими и данных недостаточно для оценки частоты, с другой стороны, микроделеции нередко встречаются в норме [18, 19], что затрудняет определение их этиологической роли в умственной отсталости. Примеры хорошо изученных синдромов, связанных в части случаев с делецией фрагмента хромосомы 15, – синдром Прадера–Вилли с частотой 1:10 000–30 000 новорожденных [20] и синдром Ангельмана с частотой 1:10 000–20 000 новорожденных [21]. От 5,1 до 6,8% случаев среднетяжелой и тяжелой синдромальной умственной отсталости могут быть связаны с субтеломерными перестройками [22].

Среди моногенных и предположительно моногенных случаев лидирует X-сцепленная умственная отсталость, которая является второй по частоте после синдрома Дауна формой умственной отсталости, ее частота составляет 1:1000 новорожденных мальчиков [23]. Вероятно, X-сцепленная умственная отсталость составляет 8–12% случаев умственной отсталости у мальчиков [10, 24, 25]. По данным R. Lehrke [26], X-сцепленная умственная отсталость является наиболее распространенной причиной моногенной умственной отсталости, затрагивающей в основном мужчин. У женщин-носителей мутации в некоторых случаях в результате инактивации хромосомы с нормальным аллелем может развиваться мягко выраженная умственная недостаточность [27, 28]. Наиболее

распространенная форма X-сцепленной умственной отсталости — синдром ломкой хромосомы X [24].

X-сцепленная умственная отсталость является одной из самых изученных форм. G. Neri и P. Chiurazzi на протяжении 17 лет (1990—2007) опубликовали 7 обзоров и в последнем из них перечислили 215 форм X-сцепленной умственной отсталости [23]. В зависимости от клинических проявлений авторы выделили 149 случаев со специфическими клиническими данными (98 синдромов и 51 нервно-мышечное состояние) и 66 неспецифических форм. Также авторы перечислили 82 гена на хромосоме X, мутации в которых были обнаружены хотя бы в одной семье с несколькими больными умственной отсталостью [23].

У девочек частой причиной умственной отсталости является синдром Ретта [29], частота которого составляет 1 на 10 000—15 000 девочек, а в отдельных регионах — 1 на 3000 [29—31]. Это позволяет говорить о синдроме Ретта как об одной из наиболее частых причин умственной отсталости у девочек.

Среди аутосомно-доминантных заболеваний, сопровождающихся умственной отсталостью, одной из частых причин является туберозный склероз — 1:30 000—50 000 новорожденных [32], что составляет 0,5% от числа случаев тяжелой умственной отсталости. Умственная отсталость при туберозном склерозе наблюдается в 48% случаев [33] и варьирует от умеренной до глубокой степени. Унаследованные формы туберозного склероза встречаются в 28% случаев, таким образом, внося вклад в семейную умственную отсталость.

Фенилкетонурия является распространенной аутосомно-рецессивной болезнью, приводящей к умственной отсталости. В странах с отсутствующей программой национального неонатального скрининга это заболевание является основной причиной аутосомно-рецессивной умственной отсталости [34]. В России и других странах с внедренным неонатальным скринингом, благодаря своевременной диагностике и профилактике, фенилкетонурия потеряла свою роль в развитии аутосомно-рецессивной умственной отсталости. Однако на данный момент насчитывают не менее 150 генов, мутации в которых могут приводить к несиндромальной аутосомно-рецессивной умственной отсталости [35]. Список этих генов постоянно расширяется и обновляется.

По данным авторов обзора о генетике рецессивной умственной отсталости, такие формы в европейских странах составляют 13—24% от общего числа случаев умственной отсталости [36]. В странах, где близкородственные браки являются обычным явлением, аутосомно-рецессивные заболевания встречаются чаще, соответственно доля таких случаев умственной отсталости выше. В странах Ближнего Востока в семьях с умственной отсталостью аутосомно-рецессивные варианты встречаются почти в 3 раза чаще среди инбредных браков, чем в неинбредных [37]. В некоторых странах аутосомно-рецессивная

умственная отсталость наблюдается в 32% консультируемых семей [38] и таким образом является наиболее распространенной причиной интеллектуальной недостаточности.

Выше перечислены наиболее изученные и распространенные синдромы и заболевания, сопровождающиеся умственной отсталостью. Однако считается, что основную долю генетической умственной отсталости по-прежнему диагностировать не удастся, так как генные мутации и тонкие хромосомные перестройки играют главную роль в этиологии интеллектуальной недостаточности [24]. При этом каждая отдельная мутация и перестройка встречается редко, и поэтому их диагностика до последнего времени была невозможна. Сложности с детальной оценкой эпидемиологических данных по умственной отсталости отражены в таблице. Противоречивость и разрозненность эпидемиологических данных не позволяет рассчитать вклад редких мутаций в генетическую структуру умственной отсталости. Оценка значимости мутаций осложняется еще и тем, что в клинической практике установить точный диагноз генетически обусловленной умственной отсталости зачастую невозможно. Такие случаи относят к синдромальной недифференцированной умственной отсталости (при наличии признаков синдромальной патологии) или к изолированной умственной отсталости (когда никаких других специфических симптомов наследственной патологии выявить не удастся).

Гены, вовлеченные в развитие умственной отсталости

С целью систематизации генетических причин умственной отсталости мы провели поиск по базе данных OMIM по ключевой фразе «mental retardation» и получили 2224 записи (на 05 сентября 2016 г.) [39]. При этом часть записей — так называемые фенотипы, а часть — гены. Многие записи генов имеют по несколько связанных записей фенотипов, из-за плейотропного действия генов. Встречаются фенотипы в развитии которых играют роль более одного гена. Кроме того, многие фенотипы объединены в фенотипические серии — генокопии, некоторые из них до сих пор не картированы до уровня гена. Все это затрудняет оценку точного числа генов, связанных с умственной отсталостью. Мы соотнесли информацию из разных записей OMIM и построили сводную таблицу всех фенотипов и генов, связанных с умственной отсталостью (mental retardation), а также дополнили ее связями с фенотипическими сериями и подразделом OMIM — «клинический синопсис» (Clinical synopsis), в котором в стандартизированной форме описан фенотип. Удалось выявить 632 гена, которые имеют связь с умственной отсталостью. Из них 474 связаны с 576 фенотипами с умственной отсталостью. А 158 генов не имеет связанных с ними фенотипов OMIM с описанием умственной отсталости.

Таблица. Частота отдельных форм умственной отсталости (УО)

Форма УО	Оценка по источнику	Частота среди новорожденных*
УО	1–3% населения [1; 11]	10–35:1000
Средняя и тяжелая УО (IQ<50)	0,3–0,5% населения [10]	3–5:1000
Генетическая УО	25–50% от тяжелой УО [8, 9] 20,5% от общей УО у новорожденных и 0,82% от числа новорожденных [11]	0,7–2,5:1000 8,2–1000
Синдромальная УО	Собственная оценка: ~2:1000*	~2:1000**
Синдром Дауна	1:700 новорожденных [7]	1,4:1000
синдром Эдвардса	1:6000–8000 новорожденных	0,13–0,17:1000
синдром Патау	1:7800–14 000 новорожденных	0,07–0,13:1000
синдром Прадера-Вилли; синдром Ангельмана	1:10 000–30 000 новорожденных [20] 1:10 000–20 000 новорожденных [21]	0,03–0,1:1000 0,05–0,1:1000
Микроделеции	Собственная оценка: <0,03:1000**	<0,03:1000#
Субтеломерные перестройки	7% синдромальной УО [22]	~0,14:1000
ХсцУО	1:1000 новорожденных мальчиков [23] 8–12% от УО у мальчиков [10]	0,5:1000
FRAX	1–2% от УО [22]	0,1–0,7:1000
Синдром Ретта	1:10 000–15 000 девочек [29–31]	0,07–0,1:1000
Туберозный склероз	1:30 000 – 50 000 [32]	0,02–0,03:1 000

Примечание. Жирным шрифтом выделены частоты среди новорожденных по опубликованным данным, светлым шрифтом – частоты среди новорожденных, пересчитанные исходя из других опубликованных эпидемиологических показателей.

* – Эпидемиологические данные приведены к единому виду для удобства сравнительной оценки распространенности различных форм УО.

** – Суммированы частоты частых хромосомных синдромов с УО и дополнены 7% субтеломерных перестроек.

– Одни из самых изученных микроделений – синдром Прадера-Вилли и Ангельмана, частота остальных микроделений меньше частоты этих синдромов.

В дополнение к ним удалось выявить еще 545 генов, ассоциированных с умственной отсталостью, и, таким образом, общее число генов, предположительно связанных с развитием умственной отсталости, составило 1177. Из 2224 записей 289 являлись фенотипами умственной отсталости, для которых связь с каким-либо геном не установлена. Многие фенотипы в OMIM объединены в так называемые фенотипические серии (PS). Существует 7 серий таких фенотипов: аутосомно-доминантная умственная отсталость (PS156200) – 47 фенотипов; аутосомно – рецессивная (PS249500) – 50 фенотипов; X-сцепленная синдромальная (PS309510) – 40 фенотипов; X-сцепленная несиндромальная (PS309530) – 47; синдром алопеции с умственной отсталостью (PS203650) – 3; умственная отсталость с мозжечковой атаксией (PS224050) – 4; синдром гиперфосфатазии с умственной отсталостью (PS239300) – 6. Для 1016 фенотипов имеются данные клинического синописа, и такая таблица может служить подспорьем в работе как врача-генетика при осмотре больного, так и врача-лаборанта генетика при анализе результатов массового параллельного секвенирования генов, связанных с умственной отсталостью,

или экзомных данных (таблица с дополнительными материалами доступна по адресу <http://ngs.med-gen.ru/MentalRetardationSuppl.xlsx>).

Анализ обогащения с помощью web-сервиса Enrichr [40, 41] по данным генам позволил оценить, в какие клеточные процессы и структуры они вовлечены. Анализ обогащения оценивает, насколько больше генов из анализируемого списка относится к процессу, функции или клеточной структуре по сравнению с тем, как это могло бы быть со случайно выбранными генами. Большая группа генов (рис. 1, а) участвует в эмбриональном морфогенезе (GO:0048598*, GO:0048562, GO:0009887), метаболизме аминокислот (GO:0006520, GO:1901605, GO:0008652), поведении (GO:0007610, GO:0044708, GO:0030534), восприятии (GO:0050890), запоминании (GO:0007611, GO:0007612). При этом среди анализируемых генов достоверно больше, чем можно ожидать при случайном распределении, генов, кодирующих белки, вовлеченные в работу митохондрий (митохондрии – GO:0005739, митохон-

* Здесь и далее указаны номера по каталогу Консорциума онтологии генов (<http://geneontology.org>)

дриальный матрикс — GO:0005759, мембрана митохондрий — GO:0005743, GO:0044455 и GO:0031966, комплекс дыхательной цепи — GO:0005747) и формирование хроматина (GO:0000790, GO:0000785, GO:0044454). Среди функций, в которые вовлечены отобранные гены, больше всего обогащены те, которые связаны с регуляцией транскрипции, и NADH-ассоциированные функции (рис. 1,б). Следует также отметить, что по классификации органов и тканей атласа генов человека в первой десятке наиболее значимо обогащенных тканей находятся фетальный мозг, префронтальная кора головного мозга, миндалевидное тело, верхний шейный ганглий и мозжечок, а также печень, почки, плацента и сердце — органы, от работы которых в первую очередь зависит правильное развитие и функционирование мозга. Больше всего генов (147) находится на хромосоме X, что подтверждает наиболее значимую роль X-сцепленных форм в структуре умственной отсталости.

Представленные данные говорят о том, что генетическая структура причин умственной отсталости не позволяет выявить наиболее часто встречающиеся гены (и тем более мутации), анализ которых мог бы лечь в основу молекулярно-генетической диагностики. За исключением нескольких хорошо изученных форм умственной отсталости диагноз возможно поставить, только проведя секвенирование сотен генов, что достижимо с использованием технологий высокопроизводительного параллельного секвенирования.

Клинический полиморфизм, генетическая гетерогенность и диагностический алгоритм при умственной отсталости

Умственная отсталость часто ассоциирует с психиатрическими и неврологическими расстройствами. По разным оценкам, от 14 до 39% людей с интеллектуальной недостаточностью имеют сопутствующие психиатрические диагнозы. У многих пациентов с умственной отсталостью (5,5–35%) встречается эпилепсия [42]. В некоторых случаях это позволяет определять умственную отсталость как следствие таких

заболеваний и проводить молекулярно-генетическую диагностику, например, используя имеющиеся панели для эпилепсии [43].

Наиболее полное исследование клинических проявлений хронических заболеваний у детей с умственной отсталостью было опубликовано В. Oeseburg и соавт. в 2011 г. [42]. Проведен систематический обзор 31 статьи, отобранной из 2994 включенных в первоначальный анализ. Авторы сделали заключение, что при умственной отсталости у детей наблюдают как минимум 18 различных хронических заболеваний, многие из которых сами включают умственную недостаточность как один из симптомов (например, синдром Дауна), а другие рассматриваются как сопутствующие (например, аутизм). Авторы выявили 6 наиболее часто встречающихся хронических заболеваний у детей с умственной отсталостью: эпилепсия (22%), детский церебральный паралич (19,8%), тревожные расстройства (17,1%), оппозиционно-вызывающее расстройство (12,4%), синдром Дауна (11,0%) и аутизм (10,1%) [42].

Данная работа подчеркивает, что основная сложность в диагностике умственной отсталости заключается в том, что последняя является не нозологической единицей, а сложным симптомокомплексом, характерным для крайне гетерогенной группы болезней, которые имеют разнообразную и сложно классифицируемую структуру клинических проявлений и сопутствующих хронических заболеваний. Это означает, что направляющий диагноз «умственная отсталость» не позволяет проводить целевой поиск мутаций в конкретном гене или небольшой группе генов. Напротив, мутации необходимо искать по всему перечню генов, связанных с умственной отсталостью. Анализируя потенциальные мутации в таких генах, необходимо опираться на описания аналогичных случаев и знания о функциональной роли генов с обнаруженными мутациями и искать у обследуемого больного клинические проявления, укладывающиеся в патогенетическую модель повреждения того или иного гена.

Такой подход является также более выгодным с экономической точки зрения. Были показаны преиму-

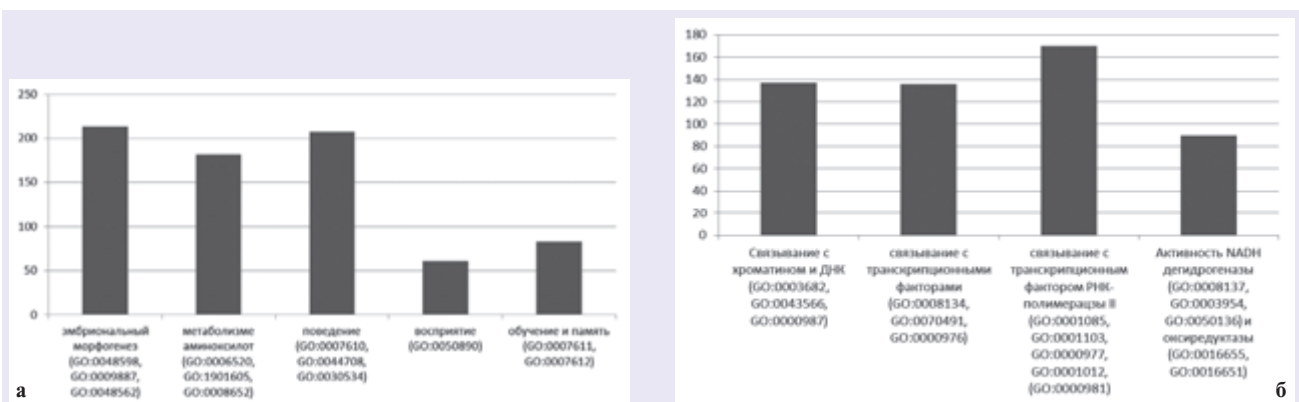


Рис. 1. Распределение генов, связанных с умственной отсталостью, по биологическим процессам в клетке (а) и по функциональным группам (б) в терминологии Консорциума по онтологии генов (Gene Ontology Consortium).

щества технологий высокопроизводительного секвенирования при проведении клинико-экономической оценки диагностической значимости традиционной комплексной клинической диагностики с последующим таргетным молекулярно-генетическим исследованием в условиях рутинного медико-генетического консультирования [12]. Авторы проанализировали данные пациентов, обратившихся за консультацией генетика. У 46% из них генетический диагноз был установлен в первое обращение, опираясь на традиционный клинический подход. Однако в остальных случаях повторные обращения и последовательные назначения анализов на отдельные гены и заболевания резко повышали стоимость диагностического поиска: средний расход для лабораторных исследований в недиагностированной группе составил \$ 4720, а для пациентов с диагнозом — \$ 3285. Авторы показали, что при ожидаемом диагностическом успехе высокопроизводительного секвенирования 50% его применение уже после первого клинического визита при неустановленном генетическом расстройстве приведет к значительной экономии средств и при этом позволит в целом повысить долю случаев с установленным молекулярно-генетическим диагнозом [12]. На основании своих данных авторы предложили схему диагностического поиска, которую можно с поправками применить к диагностике умственной отсталости (рис. 2).

Современные методические подходы к диагностике умственной отсталости

Как следует из предыдущих разделов, наследственные синдромы с умственной отсталостью остаются недифференцированными в связи с отсутствием доступной подтверждающей молекулярно-генетической диагностики. Использование рутинного кариотипирования позволяет выявлять хромосомный дисбаланс размером не менее 3–5 Mb [44]. Широко используемые молекулярно-цитогенетические методы — флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH) [45], сравнительную геномную гибридизацию (CGH) [46] и спектральное кариотипирование (SKY) [47], — применяют для обнаружения дополнительных сложных или субмикроскопических нарушений. Однако такие технологии не подходят в качестве рутинного метода диагностики — они или не имеют необходимого разрешения или являются строго специфичными и требуют наличия предварительного клинического диагноза. При этом методы весьма трудоемкие и/или дорогостоящие.

Геномные микрочипы, используемые для оценки наиболее частой причины синдромальной патологии, в том

числе умственной отсталости — изменения числа копий ДНК (CNV), — мощный диагностический инструмент, рекомендуемый в качестве теста первой линии для пациентов с дефицитом интеллекта, расстройствами аутистического спектра и/или множественными врожденными аномалиями [48, 49]. Геномные микрочипы, используемые в клинической практике, обеспечивают полногеномное покрытие для выявления хромосомного дисбаланса с более высоким разрешением по сравнению с рутинным кариотипированием.

В случаях изолированной генетической умственной отсталости отсутствуют показания к анализу хромосомных мутаций и увеличивается шанс наличия моногенного заболевания, обусловленного мутацией в одном из нескольких сотен генов, связанных с умственной отсталостью. В такой ситуации рекомендуется проводить анализ сотен генов или вместо этого — полноэкзомный анализ. В силу технических особенностей создания панелей во многих случаях секвенирование экзона экономически выгоднее секвенирования таргетных панелей генов. Секвенирование экзона человека — эффективный способ увеличения соотношения цена/качество при проведении исследований генома человека. Данный подход позволяет существенно снизить стоимость секвенирования, при этом получить максимум информации, так как для секвенирования берется только 1% всего генома, который содержит большинство известных мутаций, вызывающих наследственные заболевания. В настоящее время стандартные наборы по извлечению из геномной ДНК человека последовательности экзона позволяют получить более 50 млн нуклеотидов. Эти последовательности включают не только экзоны, но и в некоторых случаях небольшие фланкирующие по-

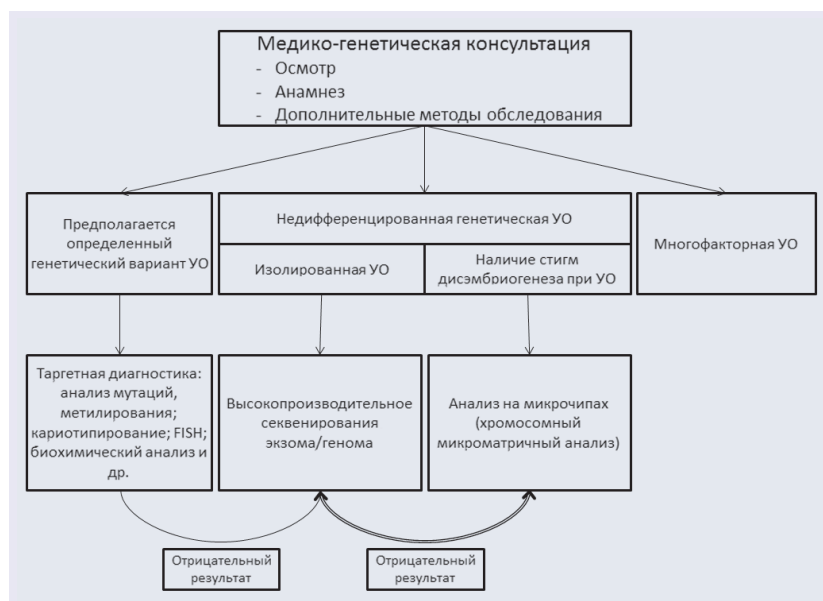


Рис. 2. Алгоритм молекулярно-генетического диагностического поиска при подозрении на генетически обусловленную умственную отсталость (УО) на основе алгоритма, предложенного V. Shashi и соавт. [12].

следовательности, не кодирующие белки. Тем не менее, в целом можно считать, что при секвенировании экзона получают данные о той части генома, которая непосредственного кодирует белки. При этом стоимость секвенирования по сравнению с секвенированием полного генома в несколько раз меньше.

Для целевого секвенирования экзона применяют как метод одновременной амплификации всех необходимых фрагментов (более 290 тысяч пар праймеров используются для проведения полимеразной цепной реакции всего в 12 отдельных пробирках), так и метод гибридизации предварительно фрагментированной ДНК пациента с пулом специально подготовленных зондов, комплементарных экзонам. Секвенирование экзона возможно на всех основных платформах параллельного высокопроизводительного секвенирования: Illumina, Life Technologies, Roche.

Несмотря на некоторые различия технологий, метод параллельного секвенирования имеет общую схему исполнения и состоит из трех основных этапов: 1) подготовка библиотеки ДНК; 2) амплификация ДНК-библиотеки; 3) параллельное секвенирование нескольких сотен тысяч клонов амплифицированной ДНК-библиотеки. Для подготовки библиотеки предварительно амплифицированные или расщепленные фрагменты ДНК лигируют со специальными адаптерами, которые служат матрицей для последующей амплификации и секвенирования библиотеки. На втором этапе молекулы ДНК-библиотеки амплифицируют в эмульсии или на твердой подложке таким образом, что каждая молекула дает пространственно ограниченные клоны идентичных молекул. Это делается для того, чтобы на следующем этапе усилить регистрируемый в ходе секвенирования сигнал от каждой анализируемой молекулы. На третьем этапе десятки миллионов клонов секвенируют одновременно.

Несмотря на впечатляющую производительность данной технологии, она далеко не всегда позволяет найти мутацию, вызвавшую заболевание, что, по всей видимости, связано с нашими неполными знаниями

о функции некодирующей части генома, где могут находиться пока не описанные клинически мутации. Полногеномный анализ также не позволяет установить диагноз в большей части случаев. Так, в одной из работ полногеномное секвенирование у 50 детей с умственной отсталостью и их здоровых родителей выявило 84 однонуклеотидных замены и 8 CNV de novo, что позволило диагностировать молекулярную причину заболевания суммарно у 20 пациентов. По мнению авторов, в пересчете на предварительно не отобранную выборку пациентов с интеллектуальной недостаточностью полногеномное секвенирование позволяет установить диагноз в 62% случаев генетически обусловленной умственной отсталости, а мутации de novo являются основной причиной тяжелой умственной отсталости [50].

Таким образом, применение как микрочипов, так и экзомного/геномного секвенирования показало, что зачастую вариации числа копий (CNV) и точечные мутации при умственной отсталости являются de novo. Это означает, что при данном заболевании пока нет альтернативных методов диагностики, и каждый раз необходимо использовать один из высокопроизводительных методов.

Заключение

В диагностике умственной отсталости существует ключевая проблема сочетания клинического полиморфизма и генетической гетерогенности заболевания. Это ведет к тому, что во многих случаях наследственной умственной отсталости не удается установить мутацию, вызвавшую заболевание, а значит, дать семье информацию о рисках и прогнозах и помочь в планировании семьи. Применение высокопроизводительного секвенирования может существенно увеличить число диагностированных случаев генетической умственной отсталости и существенно повысить эффективность профилактических мероприятий в отягощенных семьях.

Конфликт интересов не представлен.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Leonard H., Wen X. The epidemiology of mental retardation: challenges and opportunities in the new millennium. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2002; 8: 117–134.
2. King B.H., Toth K.E., Hodapp R.M., Dykens E.M. Intellectual Disability. In: *Comprehensive Textbook of Psychiatry*. B.J. Sadock, V.A. Sadock, P. Ruiz (eds). 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2009; 3444–3474.
3. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем. 10-й пересмотр. ВОЗ, Женева. М.: Медицина, 1995; 1: 373–375. (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems. WHO, Geneva. Moscow: Meditsina, 1995; 1: 373–375. (in Russ.))
4. Komor A.C., Kim Y.B., Packer M.S. et al. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature* 2016; 61: 5985–5991.
5. Schaefer G.B., Bodensteiner J.B. Evaluation of the child with idiopathic mental retardation. *Pediatr Clin North Am* 1992; 39: 929–943.
6. Curry C.J., Stevenson R.E., Aughton D. et al. Evaluation of mental retardation: recommendations of a Consensus Conference: American College of Medical Genetics. *Am J Med Genet* 1997; 72: 468–477.
7. Armatas V. Mental retardation: definitions, etiology, epidemiology and diagnosis. *J Sport Health Res* 2009; 1: 2: 112–122.
8. Daily D.K., Ardinger H.H., Holmes G.E. Identification and evaluation of mental retardation. *Am Fam Phys* 2000; 61: 1059–1067.
9. McLaren J., Bryson S.E. Review of recent epidemiological studies of mental retardation: prevalence, associated disorders, and etiology. *Am J Ment Retard* 1987; 92: 243–254.
10. Stevenson R.E., Schwartz C.E., Schroer R.J. Emergence of the concept of X-linked mental retardation. In: *X-linked*

- mental retardation. R.E. Stevenson, C.E. Schwartz, R.J. Schroer. New York: Oxford University Press, 2000; 23–67.
11. Karam S.M., Riegel M., Segal S.L. *et al.* Genetic causes of intellectual disability in a birth cohort: a population-based study. *Am J Med Genet A* 2015; 167: 1204–1214.
 12. Shashi V., McConkie-Rosell A., Rosell B. *et al.* The utility of the traditional medical genetics diagnostic evaluation in the context of next-generation sequencing for undiagnosed genetic disorders. *Genet Med* 2014; 16: 176–182.
 13. González G., Raggio V., Boidi M. *et al.* Advances in the identification of the aetiology of mental retardation. *Rev Neurol* 2013; 57: Suppl 1: S75–83.
 14. Moeschler J.B., Shevell M. American Academy of Pediatrics Committee on Genetics. Clinical genetic evaluation of the child with mental retardation or developmental delays. *Pediatrics* 2006; 117: 2304–2316.
 15. Chelly J., Khelfaoui M., Francis F. *et al.* Genetics and pathophysiology of mental retardation. *Eur J Hum Genet* 2006; 14: 701–713.
 16. Hunter A.G. Outcome of the routine assessment of patients with mental retardation in a genetics clinic. *Am J Med Genet* 2000; 90: 60–68.
 17. Weijerman M.E., de Winter J.P. Clinical practice. The care of children with Down syndrome. *Eur J Pediatr* 2010; 169: 1445–1452.
 18. Mather C.A., Qi Z., Witta A.P. False positive cell free DNA screening for microdeletions due to non-pathogenic copy number variants. *Prenat Diagn* 2016; 36: 584–586.
 19. van Bon B.W.M., Mefford H.C., Menten B. *et al.* Further delineation of the 15q13 microdeletion and duplication syndromes: a clinical spectrum varying from non-pathogenic to a severe outcome. *J Med Genet* 2009; 46: 511–523.
 20. Crockett D.J., Ahmed S.R., Sowder D.R. *et al.* Velopharyngeal dysfunction in children with Prader-Willi syndrome after adenotonsillectomy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2014; 78: 10: 1731–1734.
 21. Luk H.M., Lo I.F.M. Angelman syndrome in Hong Kong Chinese: A 20 years' experience. *Eur J Med Genet* 2016; 59: 6-7: 315–319.
 22. Flint J., Knight S. The use of telomere probes to investigate submicroscopic rearrangements associated with mental retardation. *Curr Opin Genet Dev* 2003; 13: 3: 310–316.
 23. Chiurazzi P., Schwartz C.E., Gecz J., Neri G. XLMR genes: update 2007. *Eur J Hum Genet* 2008; 16: 4: 422–434.
 24. Ropers H.-H., Hamel B.C.J. X-linked mental retardation. *Nat Rev Genet* 2005; 6: 1: 46–57.
 25. Chiurazzi P., Hamel B.C., Neri G. XLMR genes: update 2000. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 2: 71–81.
 26. Lehrke R. Theory of X-linkage of major intellectual traits. *Am J Ment Defic* 1972; 76: 6: 611–619.
 27. Amos-Landgraf J.M., Cottle A., Plenge R.M. *et al.* X chromosome-inactivation patterns of 1,005 phenotypically unaffected females. *Am J Hum Genet* 2006; 79: 3: 493–499.
 28. Plenge R.M., Stevenson R.A., Lubs H.A. *et al.* Skewed X-chromosome inactivation is a common feature of X-linked mental retardation disorders. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 1: 168–173.
 29. Hagberg B. Condensed points for diagnostic criteria and stages in Rett syndrome. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 1997; 6: Suppl 1: 2–4.
 30. Kozinetz C.A., Skender M.L., MacNaughton N. *et al.* Epidemiology of Rett syndrome: a population-based registry. *Pediatrics* 1993; 91: 2: 445–450.
 31. Hagberg B. Rett's syndrome: prevalence and impact on progressive severe mental retardation in girls. *Acta Paediatr Scand* 1985; 74: 3: 405–408.
 32. Au K.-S., Williams A.T., Gambello M.J., Northrup H. Molecular genetic basis of tuberous sclerosis complex: from bench to bedside. *J Child Neurol* 2004; 19: 9: 699–709.
 33. Curatolo P., Moavero R., de Vries P.J. Neurological and neuropsychiatric aspects of tuberous sclerosis complex. *Lancet Neurol* 2015; 14: 7: 733–745.
 34. Khemir S., El Asmi M., Sanhaji H. *et al.* Phenylketonuria is still a major cause of mental retardation in Tunisia despite the possibility of treatment. *Clin Neurol Neurosurg* 2011; 113: 9: 727–730.
 35. Najmabadi H., Hu H., Garshasbi M. *et al.* Deep sequencing reveals 50 novel genes for recessive cognitive disorders. *Nature* 2011; 478: 7367: 57–63.
 36. Musante L., Ropers H.H. Genetics of recessive cognitive disorders. *Trends Genet* 2014; 30: 1: 32–39.
 37. Hoodfar E., Teebi A.S. Genetic referrals of Middle Eastern origin in a western city: inbreeding and disease profile. *J Med Genet* 1996; 33: 3: 212–215.
 38. Hamamy H.A., Masri A.T., Al-Hadidy A.M., Ajlouni K.M. Consanguinity and genetic disorders. Profile from Jordan. *Saudi Med J* 2007; 28: 7: 1015–1017.
 39. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®, McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD), 05/09/2016/http://omim.org/
 40. Kuleshov M.V., Jones M.R., Rouillard A.D. *et al.* Enrichr: a comprehensive gene set enrichment analysis web server 2016 update. *Nucleic Acids Res* 2016; 44: W1: W90–97.
 41. Chen E.Y., Tan C.M., Kou Y. *et al.* Enrichr: interactive and collaborative HTML5 gene list enrichment analysis tool. *BMC Bioinformatics* 2013; 14: 128.
 42. Oeseburg B., Dijkstra G.J., Groothoff J.W. *et al.* Prevalence of chronic health conditions in children with intellectual disability: a systematic literature review. *Intellect Dev Disabil* 2011; 49: 2: 59–85.
 43. Дадали Е.Л., Шаркова И.В., Воскобоева У.Ю. Клинико-генетическая характеристика моногенных идиопатических генерализованных эпилепсий. *Нервные болезни* 2014; 1: 15–21. (Dadali E.L., Sharkova I.V., Voskoboeva E.Yu. Clinical and genetic characteristics of monogenic idiopathic generalized epilepsies. *Nervnye bolezni* 2014; 1: 15–21. (in Russ.))
 44. Shaffer L.G., Lupski J.R. Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans. *Annu Rev Genet* 2000; 34: 297–329.
 45. Trask B.J. Fluorescence in situ hybridization: applications in cytogenetics and gene mapping. *Trends Genet* 1991; 7: 5: 149–154.
 46. Rao P.H., Houldsworth J., Dyomina K. *et al.* Chromosomal and gene amplification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 1998; 92: 1: 234–240.
 47. Lu X.Y., Harris C.P., Cooley L. *et al.* The utility of spectral karyotyping in the cytogenetic analysis of newly diagnosed pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2002; 16: 11: 2222–2227.
 48. Miller D.T., Adam M.P., Aradhya S. *et al.* Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 2010; 86: 5: 749–764.
 49. Manning M., Hudgins L. Professional Practice and Guidelines Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med* 2010; 12: 11: 742–745.
 50. Gilissen C., Hehir-Kwa J.Y., Thung D.T. *et al.* Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature* 2014; 511: 7509: 344–347.

Поступила 03.10.16

Received on 2016.10.03