

**Mental retardasjon  
og  
genomisk variasjon:**

**mental retardasjon forårsaket av  
kopitallsvariasjon**

Prosjektoppgave

skrevet av

Marie Johanne Einejord

Profesjonsstudiet i medisin, UiO, høst 2011

## Innholdsfortegnelse:

Abstract/Sammendrag.....	s 3
Innledning.....	s 4
Metode.....	s 4
Mental retardasjon.....	s 5
Definisjon, diagnose og kliniske kjennetegn.....	s 5
Prevalens og etiologi.....	s 7
Genom-anatomi.....	s 9
Strukturell variasjon.....	s 10
Definisjon.....	s 10
Normal strukturell variasjon.....	s 12
Metoder for analyse av kromosomer.....	s 12
Mutasjonsmekanismer.....	s 14
Mutasjonsraten for de novo CNV.....	s 15
Mikrodelesjons-/duplikasjonssyndromer og patogen variasjon.....	s 16
Strukturell variasjon av ukjent betydning.....	s 19
Redusert penetrans og variabel ekspressivitet.....	s 20
Komorbiditet.....	s 23
Vanlige alleler med liten effekt, og sjeldne alleler med moderat eller stor effekt .....	s 24
Referanser.....	s 26

## Abstract

Mental retardation (MR), with a prevalence of 1-3% in the industrialized countries, is defined by an IQ<70 with deficits in adaptive skills with onset in childhood before the age of 18. In addition to genetic factors, MR can be caused by environmental factors such as prematurity, complications during delivery and infectious diseases. In more than half of the cases, however, the causes remain unknown (13).

In the last ten years there has been an increase in the percentage of cases in which an etiologic diagnosis can be established, due to the development of new techniques for analysis of chromosome aberrations, for example array Comparative Genomic Hybridisation (aCGH). This method has made it possible to detect chromosome deletions and duplications, which may involve losses or gains of genes. Copy number variation, CNV, can be inherited or de novo (new), and is an example of structural variation in the genome. Structural variation is caused by genomic rearrangements and is now known to be a major source of genetic variation among humans, estimated to involve approximately 13% of the human genome (23).

De novo recurrent deletions and duplications are causes of genomic syndromes: An example is Williams-Beuren syndrome, which is due to loss of 25 genes on chromosome 7q11.23. The underlying reason for the recurrence rate is that segmental duplications, which are long stretches of DNA, often up to several hundred kb long, with more than 90% sequence identity, contribute to genomic instability. Genomic syndromes have a highly variable penetrance and expressivity, and are estimated to account for 15% all cases of MR.

## Sammendrag

Mental retardasjon har en prevalens på 1-3 % i industrialiserte land iflg. WHO. Årsakene til mental retardasjon er mange og kan variere fra prematuritet, asfyksi, miljø/teratogene faktorer til genetiske avvik. Til tross for grundig utredning forblir årsaken ukjent hos en stor del av tilfellene, spesielt hos individer med lett mental retardasjon.

Utviklingen av nye metoder for kromosomanalyse, blant annet komparativ genomisk hybridisering ("array-based Comparative Genomic Hybridization", aCGH) har medført at genomisk variasjon, spesielt mikrolelesjoner og –duplikasjoner av DNA-tråden, i økt grad diagnostiseres som årsak til MR. Delesjonene og duplikasjonene går også under navnet kopitallsvariasjon ("copy-number variation", CNV), som defineres som endringer i antall kopier av regioner av DNA-tråden som varierer i størrelse fra ca. 1 kb til flere Mb.

En kopitallsvariant kan forårsake sykdom dersom den for eksempel endrer antall kopier av et dosesensitivt gen, eller f.eks forårsaker forskyvning i leserammen for genet. En variant som er stor, nyoppstått (dvs ikke funnet hos foreldrene), samt tidligere vist å være assosiert med kjente syndromer (26) er med stor sannsynlighet patogen.

En del nyoppståtte, relativt hyppige delesjoner og duplikasjoner forårsaker

genomiske syndromer. Disse syndromene, som kan vise redusert penetrans og variabel ekspressivitet, er i dag estimert til å utgjøre 15 % av alle individer med mental retardasjon. Syndromene oppstår fordi bestemte rearrangeringer, med samme størrelse, og med samme bruddsteder, inntreffer med en viss gjentakelses-frekvens og resulterer i en gitt prevalens av en fenotype. Årsaken til at disse hendelsene gjentar seg er at segmentduplikasjoner lengre enn 10 kb og med mer enn 97 % sekvenslikhet forårsaker genomisk ustabilitet (21).

En del tilfeller av mental retardasjon er forårsaket av "private", dvs svært sjeldne delesjoner og duplikasjoner som kun er funnet i et eneste individ eller innen én enkelt familie. Hvor stor andel av populasjonen av mentalt retarderte disse sjeldne kopitallsvariantene forårsaker, finnes det pr i dag ikke tall over.

## Innledning

Normal kognitiv funksjon avhenger av at nevronene i hjernen klarer å danne komplekse nettverk, samt av at disse nettverkene har evnen til å endre seg som respons på læring og erfaring. Å identifisere gener og molekylære mekanismer som bidrar til normal utvikling av hjernen er et stort satsningsområde innenfor nevrobiologisk forskning idag. Ved å studere genomet til individer med kognitiv dysfunksjon kan en få innsikt i hvilke gen og molekylære signalveier som, dersom de endres eller brytes, kan føre til unormal hjerneutvikling og som dermed kan gi utslag i nevrokognitive tilstander som mental retardasjon, autisme, schizofreni, bipolar sykdom og ADHD.

Formålet med denne litteraturstudien er å belyse hva strukturell variasjon i genomet er, og hvordan genomisk variasjon, i dette tilfellet hovedsakelig kopitallsvariasjon, kan forårsake mental retardasjon. Videre belyses årsaker til at mental retardasjon kan vise redusert penetrans og variabel ekspressivitet, samt hvordan kopitallsvariasjon kan gi opphav til komorbiditet mellom mental retardasjon og andre nevrokognitive tilstander. Hovedfokus er på kopitallsvariasjon, siden dette er den formen for strukturell variasjon det finnes mest informasjon om.

## Metode

Studien baserer seg på både strukturerte og ustrukturerte søk i PubMed etter publikasjoner om genetiske årsaker til mental retardasjon, fortrinnsvis oversiktsartikler. Størstedelen av artiklene ble publisert i år 2009. MESH-termer som er brukt er mental retardation (genetic), kombinert med følgende søkeord; structural variation, CNV, copy-number variation, array CGH. Søk er også utført med CNV, CNV AND autism, og CNV AND schizophrenia som søkeord.

# Mental retardasjon

## Definisjon, diagnose og kliniske kjennetegn

Mental retardasjon (MR) er en tilstand som gjennom tidene har gått under mange navn både innenfor faglitteraturen og på folkemunne, og benevnelsene har ofte hatt nedsettende betydning. På norsk har terminologien i løpet av de siste tiårene endret seg fra mental retardasjon via psykisk utviklingshemning til nå kun utviklingshemning, men i de medisinske fagmiljøene og i søkebasene for medisinsk litteratur benyttes fortsatt betegnelsen mental retardasjon. På engelsk brukes konsekvent termen "developmental delay" om en person som er under 5 år, mens "learning disability" og "intellectual disability" er forbeholdt eldre barn og voksne, for hvem resultatene fra intelligens tester er vurdert som pålitelige (1). På norsk finnes ikke samme konsekvente språkbruk, men termen global utviklingsforsinkelse eller utviklingsavvik er til en viss grad i bruk.

Mental retardasjon er en betegnelse på medfødt, eller tidlig ervervet kognitiv svikt. Kognitiv svikt fører til at funksjoner som tenking, oppmerksomhet, hukommelse, arbeidsminne, språkforståelse, læring og psykomotorisk tempo er redusert. Svikten kommer gjerne til uttrykk i spedbarnsperioden eller barnealderen som forsinket utvikling i forhold til normale utviklingsmilepæler, eller som lærevansker på skolen.

Kognitiv funksjon måles med standardiserte aldersavhengige intelligens tester, uttrykt som IQ (intelligens kvotient). IQ er et uttrykk for en persons kognitive funksjon i forhold til gjennomsnittet i normalpopulasjonen. Gjennomsnittet er satt til 100, både for tester som måler IQ direkte og for tester som måler IQ avledet, d.v.s. omregnet via mental alder. Eksempler på tester (2);

1. Bayley-III: Test for allsidig utviklingsvurdering av barn
2. WISC-III: (beregnet for barn 6-16 år) Tester verbal-, utførings- og fullskala-IQ ved hjelp av 13 deltester som omhandler: informasjon, bildeutfylling, koding, likheter, tegneserier, regning, terningmønster, ordforståelse, puslespill, resonnering, tallhukommelse, labyrinter og symbolleting.
3. Leiter eller Ravens matriser (4-11 år) er eksempler på ikke-verbale tester

Det finnes også utgaver av WISC som er beregnet på voksne med allerede dokumenterte utviklingsavvik.

Diagnosen psykisk utviklingshemning stilles i flg ICD-10 på bakgrunn av tre kriterier: Redusert kognitiv funksjon, vesentlige avvik i adaptive ferdigheter (d.v.s. tilpasningsferdigheter), og at tilstanden skal ha debutert før fylte 18 år.

Redusert kognitiv funksjon innebærer IQ under 70, d.v.s. to standardavvik under gjennomsnittet for normalpopulasjonen.

Adaptive ferdigheter viser i hvilken grad en person klarer å tilpasse seg sitt miljø og ivareta seg selv i dagliglivet, og kartlegges ofte med testen Vineland-II (3). Ved hjelp av Vineland-II vurderes fire sentrale områder i en persons liv:

1. Motorisk utvikling (grovmotorikk, finmotorikk, forflytning og bevegelighet).
2. Dagligdagse ferdigheter (husarbeid, påkledning, renslighet og matlaging)
3. Kommunikasjon (ekspressivt og reseptivt språk, lese- og skriveferdigheter og pengeforståelse)
4. Sosial kompetanse (etablering og vedlikehold av vennskap, interaksjon med andre).

Ved vurdering av adaptive ferdigheter bør man alltid ta i betraktning alder, sosiokulturell bakgrunn, fysiske og sensoriske handikap, så vel som mentale sykdommer. I tillegg til kriteriene over kreves at diagnosen baseres på en samlet vurdering av intellektuelle ferdigheter, bedømt av en erfaren kliniker.

ICD-10 har 6 hovedkategorier for psykisk utviklingshemming. Fire av disse omfatter en gradering av mestringsevne (3,4):

1. Lett psykisk utviklingshemming  
IQ mellom 50 og 69 (mental alder fra 9 til under 12 år), fører vanligvis til lærevansker i skolen og kan være vanskelig å skille fra spesifikke lærevansker eller atferdsproblemer. Mange vil kunne lære å lese, skrive og kunne enkel regning, men oppgaver der en mengde faktorer spiller sammen kan være vanskelige å takle. Mange har problemer med abstrakte begreper og med å sette seg inn i hvordan andre tenker. Full selvstendighet oppnås som oftest når det gjelder egenomsorg, praktiske og huslige gjøremål, og mange er i stand til å utføre manuelt arbeid. Følelsesmessig og sosial umodenhet gjør at evnen til å imøtekomme krav som følger ekteskap og barneoppdragelse kan være begrenset. Denne gruppen utgjør den største gruppen av psykisk utviklingshemmede (ca. 85 %).
2. Moderat psykisk utviklingshemming  
IQ mellom 35 og 49 (mental alder fra 6 til under 9 år). Oftest sent utviklet språkforståelse og språkbruk, og den endelige språklige mestringen vil være begrenset. Spesialundervisning kan bidra til mestring av de mest grunnleggende ferdigheter som å lese, skrive og telle, men tolkning av lesingen kan være begrenset. Vansker med å generalisere, samt å forstå tidsbegreper. Forstår sitt nærmiljø ut fra egne erfaringer og konkrete opplevelser. Evne til egenpleie og motoriske ferdigheter er hemmet, og de fleste vil trenge varierende grad av støtte for å kunne leve og arbeide ute i samfunnet. Som voksne vil mennesker med moderat psykisk utviklingshemming vanligvis kunne utføre enkelt manuelt arbeid så lenge oppgavene er strukturert og under faglært ledelse. Fullstendig uavhengighet i voksen alder oppnås sjelden. Evne til mobilitet og fysisk aktivitet er likevel til stede, og de fleste viser tegn til sosial utvikling i evnen til å etablere kontakt, kommunisere og delta i enkle sosiale aktiviteter.

3. Alvorlig psykisk utviklingshemming  
IQ anslagsvis mellom 20 og 34 (hos voksne, mental alder fra 3 til under 6 år), fører vanligvis til kontinuerlig omsorgsbehov.
4. Dyp psykisk utviklingshemming  
IQ under 20 (hos voksne, mental alder under 3 år), fører til alvorlige begrensninger av egenomsorg, kommunikasjon og bevegelighet. Inkontinens.

Inndelingen illustrerer at psykisk utviklingshemmede utgjør en svært heterogen gruppe pasienter, hvor de kliniske funnene varierer fra kun nedsatt IQ, altså nonsyndromisk mental retardasjon, til nedsatt IQ med multiple medfødte utviklingsavvik/dysmorfe trekk, altså syndromisk mental retardasjon. Medfødte utviklingsavvik innebærer varierende grad av organmisdannelser, noe som kan resultere i f.eks. mikrocephali, dysplastiske lunger, hjertefeil og agenese av nyrene. Med dysmorfe trekk menes ansiktstrekk og kroppsform som er avvikende, for eksempel lavtsittende ører, sammenvokste øyenbryn, eller kun en bøyefure i håndflaten. Funn av bestemte medfødte utviklingsavvik/dysmorfe trekk kan gi mistanke om et spesielt syndrom eller årsak til utviklingsavviket og kan ha betydning for valg av diagnostiske tester i en klinisk utredning.

## Prevalens og etiologi

Prevalensen av mental retardasjon anslås av WHO til 1-3 %, med en høyere insidens i u-land enn i den vestlige verden (8). Estimater varierer fra 1-10 % i forskjellige studier (5,6)

NAV oppga at antallet personer med diagnosen psykisk utviklingshemming, barneautisme og Downs syndrom var 21052 i Norge i 2008 (7). Antallet omfatter de som er mottakere av uførepensjon, tidsbegrenset uførepensjon, grunnstønad og hjelpestønad. Tallet er basert på hvor mange personer med utviklingshemming hver enkelt kommune rapporterer inn til Helsedirektoratet. Dette tallet er trolig den beste indikatoren vi har over dem som i praksis omtales som utviklingshemmede, og det utgjør 0,45 % av den norske befolkningen (7).

I Norge har det vært gjennomført to undersøkelser av prevalens av psykisk utviklingshemming (7). Strømme fant at prevalensen av psykisk utviklingshemmede blant barn i Akershus, født 1980-85, var 6,2 pr 1000 (9), mens Skjellum beregner en prevalens på 0,3 % på bakgrunn av kjente tilfeller i Akershus i 1995 (10). At prevalensen i Norge er mindre enn prevalensen oppgitt av WHO, kan være forårsaket av underrapportering av tilfeller med lett psykisk utviklingshemming i Norge.

Det er mange årsaker til mental retardasjon, og disse varierer fra prematuritet, asfyksi, miljø/teratogene faktorer til genetiske avvik. Det er stor grad av diskrepans i estimatene over den prosentvise andelen av tilfeller hvor det har vært mulig å fastslå en etiologisk diagnose, og også stor diskrepans i tall over hva de ulike årsakene utgjør i prosent (11). Dette kan ha sammenheng med at ulike studier baserer seg på ulike utvalg, og at nye analysemetoder er tatt i bruk og forbedret i løpet av en tiårs periode. Prematuritet er anslått å

forårsake 2-10 % av tilfellene, og miljø/teratogene faktorer, som for eksempel infeksjon, 5-13 % (12). Genetiske avvik er den oftest identifiserte årsaken til mental retardasjon, og generelt kan sies at jo mer alvorlig mental retardasjon og jo flere medfødte misdannelser og dysmorfe trekk en person har, med desto større sannsynlighet finner man en genetisk årsak til utviklingshemmingen (14). Genetiske faktorer anslås å forårsake 25-50% av tilfellene av alvorlig utviklingshemming (57)

En stor andel av tilfellene forblir uten en etiologisk diagnose. Etter grundige genetiske analyser er årsaken fortsatt ukjent i 50-80 % av tilfellene med idiopatisk MR (13). Idiopatisk MR betyr at årsaken til utviklingshemmingen er ukjent, d.v.s. at tradisjonell karyotyping er negativ og at prenatale- og miljø/teratogene årsaker er utelukket. Enkelte studier hevder at ved alvorlig mental retardasjon klarer man å fastslå årsaken i 65 % av tilfellene, men ved mild mental retardasjon forblir årsaken ukjent i 80% av tilfellene (5).

De genetiske årsakene til MR kan variere fra aneuploidier, for eksempel Downs syndrom, til trinukleotidexpansjoner, mikrolelesjoner og -duplikasjoner, og enkeltgenmutasjoner. Enkeltgenmutasjoner kan for eksempel forårsake metabolske sykdommer.

Trisomi 21 (Downs syndrom) er den hyppigste enkelt-årsaken og utgjør ca 9 % av totalpopulasjonen av mentalt retarderte (5). Tall fra det europeiske fødselsregistersamarbeidet, EUROCAT (European Surveillance of Congenital Anomalies), viser at den totale gjennomsnittlige insidensen av Downs syndrom i Europa er relativt stabil fordi effekten av at kvinner idag får barn senere i livet enn tidligere blir oppveid av økt bruk av prenatal diagnostikk (56). Gjennomsnittlig prevalens av levendefødte med Downs syndrom i 2007 var 0,97 pr 1000 (56). Prevalensen av levendefødte med Downs i de europeiske landene varierer med en faktor på fire; dette gjenspeiler de ulike landenes variasjon i aldersprofiler ved fødsel, samt lovverk og praksis rundt fosterdiagnostikk og abort (56).

Fragilt X syndrom er en av over 100 X-kromosombundne tilstander som medfører MR. X-kromosombundne tilstander er en av årsakene til at det er en overvekt av menn blant psykisk utviklingshemmede, med forholdstall 1,4-1,6 menn pr kvinne (12).

Pr i dag er mutasjoner i mer enn 400 gen assosiert med mental retardasjon. Av disse er ca 35 assosiert med nonsyndromisk MR (15). Mutasjonene er både enkeltbase- og genomiske mutasjoner. Genomiske mutasjoner betyr at strukturelle endringer har oppstått i DNA-tråden. De strukturelle endringene kan for eksempel være tap eller ekspansjon av spesielle sekvenser av DNA, ofte oppstått som følge av rearrangeringer av DNA-tråden under meiosen eller mitosen. Mutasjonene kan deles inn i to hovedgrupper:

1. Mutasjoner som fører til misdannelse i hjernen. Dette er oftest mutasjoner i gener som virker inn på grunnleggende mekanismer bak nevrogenesen og nevronmigrasjon under hjernens utvikling.
2. Mutasjoner i gener som har betydning for normal funksjon og plastisitet i nevronenes synapser. Disse genene har betydning for intracellulære signalveier, fra synaptiske membranreseptorer til cellekjernen og til cytoskjelettet. Signalveiene sikrer optimal respons til pre- og postsynaptiske elementer og optimal remodellering av de nevronale nettverkene.



Utviklingen av nye metoder for kromosomanalyse har medført at genomiske mutasjoner i økt grad diagnostiseres som årsak til idiopatisk MR. Genomisk variasjon kan være både benign og patogen. Variasjon som resulterer i delesjons- og duplikasjonssyndromer, er eksempel på at strukturell variasjon i det humane genom kan forårsake genomiske sykdommer.

Jeg vil nå utdype hva genomisk variasjon er, og hvordan genomiske mutasjoner oppstår. Men først gir jeg en kort oppsummering vedrørende genomets oppbygning.

## Genom-anatomi

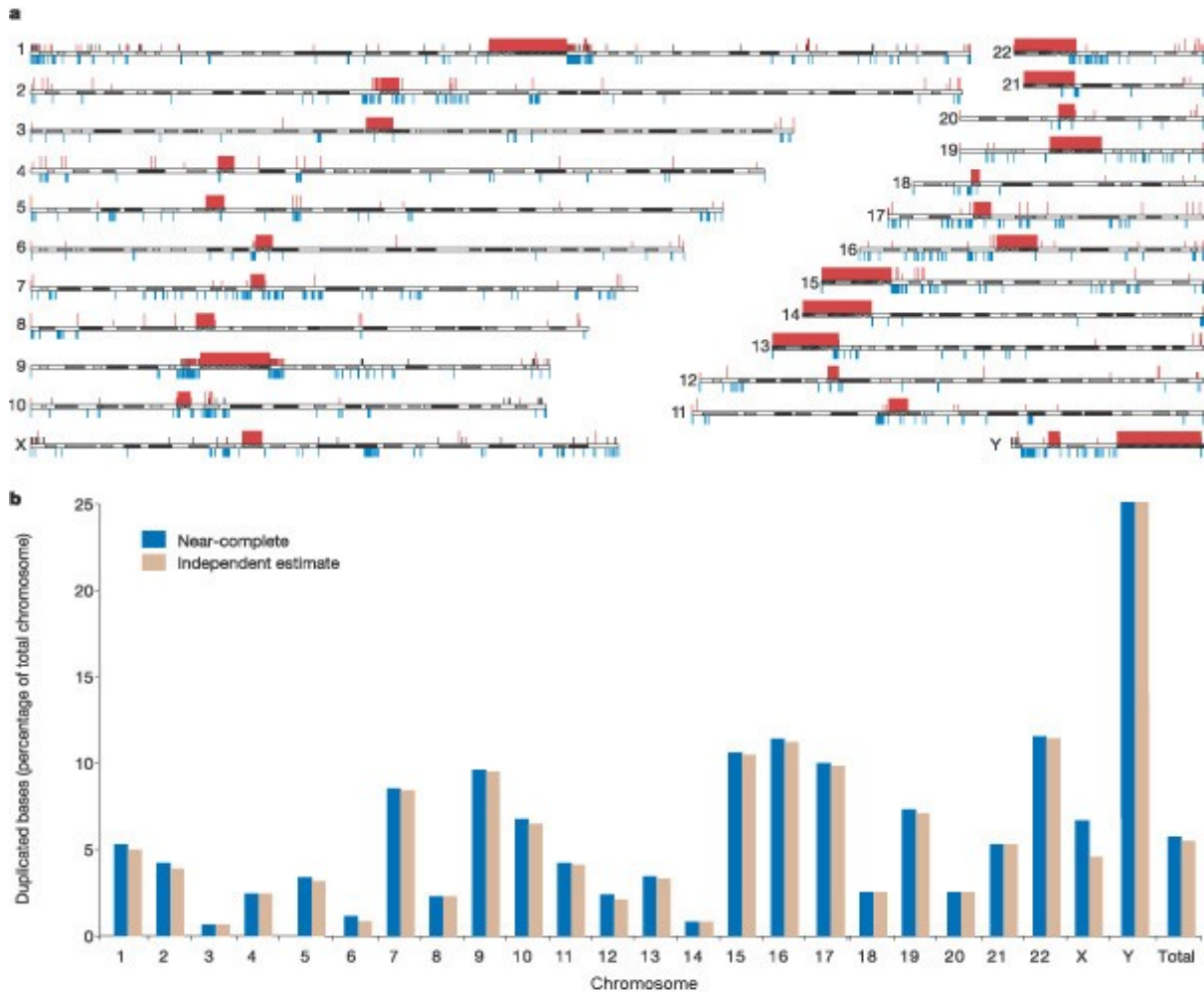
Det humane genomet består av ca. 3200 Megabaser(Mb) DNA som inneholder over 20.000 gener (OMIM pr. juni 2011), hvis lengde varierer fra under 1 til 2300 kb. Den transkriberte og spleisede delen av genene, exonene, utgjør ca 1-2 % av genomet (16).

Resten av genomet består først og fremst av ulike former for repetert DNA: Mikrosatellitter er enheter på 2-9 basepar repetert titalls ganger. Minisatellitter er 10-100 baser lange enheter repetert hundre til mange tusen ganger flerfordige steder i genomet. En minisatellit har hos mennesker ofte en lengde 1-5 kb og finnes oftest i intron eller mellom gener (75). Betegnelsen "Variable Number of Tandem-Repeats" (VNTRs) benyttes også om denne typen repetitiv DNA for å understreke at antallet repetisjoner varierer svært mye individer imellom. Satellit-DNA er korte sekvenser repetitiv DNA som det finnes svært mye av nær sentromerene og telomerene. Det høye antall repetisjoner fører til at dette DNAet særegne base-sammensetning kan separeres som såkalte satellit-bånd ved sentrifugering av prøver av DNA.

Transposonlignende repeterte elementer ("Interspersed Repetitive Sequences") er kopier av mobile genetiske elementer, transposoner, som ofte er degenererte. Disse repeterte elementene varierer i størrelse fra noen hundre til noen tusen basepar. Evnen til å amplifisere seg selv har i løpet av millioner år ført til at de transposonlignende elementene idag sammenlagt utgjør 45% av det humane genom (17). Idag er elementene hovedsakelig ikke mobile lengre, men de få som fortsatt er det betegnes ofte som "hoppende gener". De deles inn i to undergrupper; klasse I elementer (Retro-elementer; feks retrotransposoner, retrovirus, "Long Interspersed Nucleotide Elements" (LINE) og "Short Interspersed Nucleotide Elements", (SINE)), som forflytter seg ved hjelp av revers transkribering av RNA, og klasse II elementer (DNA-transponerbare elementer) som transponerer direkte fra et sted i DNA til et annet. SINE er sekvenser som er 75-500 basepar lange, mens LINE vanligvis er 6-7000 baser lange. Det vanligste transposonlignende elementet hos mennesker er Alu-sekvensen. Dette er en SINE ca. 300 baser lang som er repetert mer enn en million ganger, slik at den estimeres til å utgjøre mer enn 10 % av genomet (18).

I tillegg finnes elementer som er repetert i et moderat antall; f.eks. finnes over tusen forskjellige små ribosomale RNA-gener, lokalisert i p-armene på de akrosentriske kromosomene, samt segmentduplikasjoner. Segmentduplikasjonene består av lange blokker av DNA, ofte flere hundre kb lange, som ofte har mer enn 90 % sekvenslikhet (19).

Segmentduplikasjonene finnes spredt i genomet, men med økt tetthet nær sentromerene og telomerene (se fig.1). Sammenlagt utgjør segmentduplikasjoner 5 % av genomet.



**Fig. 1 a)** Segment duplikasjoner. Segmentduplikasjoner er angitt nedenfor kromosomene i blått (lengde >10 kb og sekvenslikhet 95%). **b)** Segmentduplikasjoner vist som prosentandel av kromosomene. Dette omfatter både interkromosomale og intrakromosomale duplikasjoner med lengde >1 kb og sekvens identitet 90%. Figurene er hentet fra The International Human Genome Sequencing Consortium, 2004 (20).

# Strukturell variasjon

## Definisjon

Det humane genom viser betydelig variasjon mellom individer. Variasjonen kan spenne fra enkeltbaseforskjeller til å omfatte hele kromosomer. Antall kopier av repetisjonsenheter i mikro- og minisattelitter varierer også betydelig mellom individer og dette benyttes bl.a. innenfor rettsmedisin til identifisering. Variasjonen kan være normal, sannsynlig normal eller patogen interindividuell variasjon.

De siste 15 årene er man blitt klar over at strukturell variasjon forekommer i genomet i mye større omfang enn tidligere antatt.

Med strukturell variasjon menes rearrangeringer i kromosomstrukturen som forårsaker at to genom skiller seg fra hverandre innen en art (21). Rearrangeringene kan være duplikasjoner, delesjoner, inversjoner, translokasjoner eller komplekse endringer av DNA-tråden, og de kan være nedarvet eller nyoppståtte (de novo).

Duplikasjoner, triplikasjoner og delesjoner forårsaker en endring i antallet kopier av en bestemt DNA-sekvens og dette har gitt opphav til betegnelsen kopitallsvariasjon ("copy-number variation", CNV). Kopitallsvariasjon defineres som endringer i DNA-tråden som varierer i størrelse fra 1 kb til flere Mb.

Kopitallsvariasjon kan involvere noen få, mange eller ingen gener. Strukturelle endringer som medfører tap eller økning i mengden DNA kalles ubalanserte, mens translokasjoner og inversjoner, som ikke innebærer noen endring i DNA-mengden, kalles balanserte. Gener som forårsaker sykdom når antallet avviker fra to, kalles dosesensitive gener.

En kopitallsvariant kan være nøytral eller medføre genomisk sykdom. Med en polymorfisme mener man et locus med minst to alleler, hvor allelene er tilstede i mer enn 1% av populasjonen. Ofte vet man ikke med sikkerhet om en bestemt kopitallsvariasjon er en polymorfisme, fordi frekvensen av varianten i normalpopulasjonen ofte er ukjent, og dessuten kan frekvensen variere mellom populasjoner. Benevnelsen kopitallspolymorfisme benyttes derfor ikke i nevneverdig grad. I stedet benyttes betegnelsen "variant", og det om både benign og patogen variasjon i kopitall.

En variant antas ofte å være benign dersom den er arvet fra et friskt foreldre og derfor med overveiende sannsynlighet ikke er sykdomsframkallende. Derimot kan patogen betegne en variant som er nyoppstått, stor, og som tidligere er vist assosiert med kjente syndromer (26). En variant med usikker patogenitet kalles for VOUS (variants of uncertain significance).

## Normal strukturell variasjon

Mange forskningsprosjekter har hatt som mål å kartlegge omfanget av strukturell variasjon i genomet. I 2009 foretok Conrad et al. (23) analyser av genomet med svært høy oppløsning, og påviste nesten 8000 CNVer, som inneholdt over 1000 gener. De fant at to friske individers genom er forskjellige p.g.a. gjennomsnittlig ca. 1100 CNV (og indels). Andre artikler bekrefter disse funnene (24,25). Conrad et al. fant at 95 % av CNVene de detekterte var mindre enn 100 kb (median 2,9 kb). Tidligere studier har overestimert størrelsen på de fleste av kopitallsvariasjonene (46), og nye studier har vist at bare 1-2 % av alle CNVer i normalpopulasjonen er større enn 1 Mb (23,46).

I sum utgjør områdene i et individs DNA som er involvert i strukturell variasjon ca. 13 % av genomet (23)

Omfanget av strukturell variasjon kan også belyses av at i "The Database of Genomic variants", som er en database over normal strukturell variasjon, var det pr 25. mars 2010 meldt inn tilsammen 57 000 forskjellige kopitallsvarianter, fordelt på 11.000 loci. Den samlede mengden registrerte varianter i databasen dekker totalt 29 % av det humane genomet (29).

I dag er det allment akseptert at strukturell variasjon i stor grad bidrar til fenotypisk variasjon hos mennesker (27), samt disponerer for mange multifaktorielle folkesykdommer, d.v.s. sykdom som har mange årsaksfaktorer, både genetiske og miljømessige, slik som diabetes, kreft, astma og autoimmun sykdom. På hvilken måte strukturell variasjon forårsaker normal fenotypisk variasjon og vanlig sykdom, er ikke avklart (30). Kopitallsvariasjon forekommer hyppig i områder av genomet med gener som har med sensorisk informasjon og miljøtilpasning å gjøre; olfaktoriske reseptorer, immun- og inflammasjonsresponsgener, signalveier og adhesjonsmolekyler, strukturelle proteiner og ionekanaler. Dette tror man har vært funksjonelt betydningsfullt for menneskets evne til å tilpasse seg et stadig skiftende miljø i løpet av evolusjonen (31).

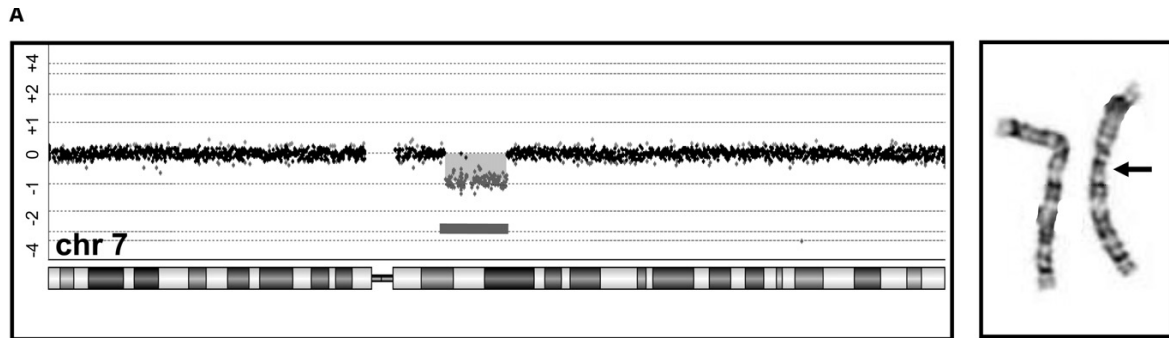
## Metoder for analyse av kromosomer

Påvisning av strukturell variasjon går hånd i hånd med de siste 10 årenes tekniske fremskritt.

Ved vanlig karyotyping, d.v.s. kromosomanalyse utført med mikroskop, ser man sjelden kromosomendringer som er mindre enn 5-10 Mb i størrelse (32). Med dagens DNA-matrisebaserte metoder, både komparativ genomisk hybridisering (array-based Comparative Genomic Hybridization, aCGH) og singelnukleotidpolymorfisme(SNP-) genotyping, er det mulig å påvise CNVer under 10 kb, d.v.s. endringer innenfor enkeltgener (26).

aCGH baserer seg på en "omvendt" FISH (fluorescence in situ hybridisering)-teknikk brukt i mikromatriseformat. Matrisen består oftest av en glass- eller silikonplate på ca 1,5x1,5 cm, hvor prober som representerer kjente loci i genomet er fiksert. DNA-materiale fra en testperson og referanse-DNA blir merket (gjort fluorescerende), blandet, denaturert og hybridisert til matrisen. Deretter sammenlignes fluoresensintensiteten for hver probe, d.v.s.

fluoresens fra testgenomet måles mot fluoresens fra referansegnet, og ved hjelp av programvare blir resultatene normaliseret og gjengitt som et logaritmisk-ratio. Økning eller minskning i signalratio mellom test og referansegnet indikerer økt eller minsket antall kopier av et DNA-segment, se eksempel; fig:



**Fig. 2.** Eksempel på submikroskopisk kromosomaberrasjon oppdaget med aCGH men ikke med G-båndes karyotyping: En 10.9 Mb delesjon, som inneholder mer enn 60 gener, resulterer i Williams-Beuren syndrome. Pilen peker på delesjonsstedet, funnet ved ny analyse av kromosomet etter at delesjonen var påvist med aCGH. Figuren er hentet fra Miller D T, et al. 2010 (26).

Matriser med SNP-genotyping er i prinsippet likt aCGH, men i tillegg til intensitetsignal for en gitt SNP leser analysen også av hvilke baser som er tilstede for hver SNP.

Probene er i dag oftest oligonukleotidsekvenser på 25-60 baser, designet for å være identisk med deler av en kjent DNA-sekvens. Probene kan være jevnt fordelt i genomet, eller dekke områder av spesiell interesse (target-arrays/ ROIs, "specific regions of interests"). Områder av spesiell interesse kan være områder flankert av segmentduplikasjoner, "hot-spots", hvor genomiske rearrangeringer gjentatte ganger inntreffer fordi sekvenslikheten i segmentduplikasjonene forårsaker feil i kromosomenes rekombinasjon under meiosen. Avstanden mellom probene bestemmer oppløsningen, og dagens matriser, som inneholder opptil 2 millioner prober, innebærer at avstanden mellom hver probe kan være ned mot 1 kb, alt etter hvordan probene fordeles over de 3,2 milliarder basene i genomet. De matrisene som ofte benyttes i dag i diagnostikk er laget for å finne CNVer i størrelsesorden 20-50 kb i "target"områder, og 100-250 kb store endringer i analyser av genomet utenfor "target"områdene (26).

En oppløsning på 400 kb er tilstrekkelig for å oppdage kopitallsvariasjoner som forårsaker kjente genomiske syndromer, samt andre avvik som man utfra størrelsen med stor sikkerhet kan anta er patogene (26). De minste genomiske rearrangeringene som forårsaker genomiske syndromer, for eksempel delesjon 17q21.31 (MIM 614439) og 16p11.2 (MIM 611913), er over 500 kb (26). Mindre endringer kan selvfølgelig være patogene, men empiriske data over størrelsesfordelingen til kopitallsvariasjon i det humane genom viser at 95 % av CNVer som er mindre enn 100 kb er benigne (23).

For direkte analyse av en spesiell genomisk region, med høyere oppløsning enn det som er mulig med bruk av CGH-teknologi, kan man benytte for eksempel "multiplex ligation-

dependent probe amplification (MLPA).

Andre analyseverktøy med enda høyere oppløsning enn CGH-teknikk er også utviklet (23). "Neste-generasjons-sekvenseringsteknikker" (NGS) gjør det mulig å analysere både hele genomet eller det komplette innholdet av RNA-transkripter i for eksempel et vev, ned på enkeltbasenivå. Dette skjer ved massiv parallell sekvensering av fragmenter med DNA fra et genom som er "klippet opp" hvor på sekvensen kan settes satt sammen med metoder som går ut på å finne overlapp i fragmentenes baserekkefølge ved bruk av et referanse genom. Disse metodene gjør det i prinsippet mulig å påvise både enkeltbasemutasjoner og strukturell variasjon i samme eksperiment (32).

Mikromatriseteknikken er dag førstehånds diagnostisk verktøy ved utredning av idiopatisk MR (30). Teknikken har den fordelen at en ikke trenger en spesifikk klinisk diagnose før den diagnostiske testen utføres, og den har ført til en endring i den diagnostiske tankegangen fra "fenotype først" til "genotype først".

En fordel med aCGH-teknikken er at den gjør det mulig å oppdage mosaikk, bl. a. fordi en benytter DNA fra udyrkede celler. Mosaikk betyr at en strukturell variant er tilstede kun i en andel av individets celler. Mosaikken må være tilstede i mer enn 30 % av cellene som testes for å kunne påvises med aCGH (33).

Ulempen med aCGH er at teknikken ikke fanger opp balanserte kromosomendringer. Det er uvisst hvor stor andel balanserte kromosomendringer utgjør av årsakene til MR, men store balanserte endringer, som er synlige med vanlig lysmikroskopisk karyotyping, er relativt sjeldne: En studie utført med G-båndsanalyse, d.v.s. lysmikroskopisk karyotyping, av store kohorter av individer med mental retardasjon viste at 1:500 har en tilsynelatende balansert endring, og at kun 1:2000 av individene har en nyoppstått translokasjon (26) En nederlandsk studie anslo at bruk av aCGH, og ikke vanlig karyotyping, medførte at balanserte translokasjoner og inversjoner forble udetekterte kun hos 0,78 % av alle som var henvist for utredning av idiopatisk MR. (Familiære balanserte translokasjoner og inversjoner utgjorde 0,48 %, de novo 0,23 %) (13).

## Mutasjonsmekanismer

Strukturell variasjon kan oppstå på mange måter, men mekanismen ikke-allelisk rekombinasjon (Non-allelic homologous recombination, NAHR) er en viktig årsak til at mikrolelesjons- og duplikasjonssyndromer opptrer med en relativt høy prevalens i ulike populasjoner, estimert til 1:10.000 i 2002 (19). Syndromene oppstår fordi bestemte rearrangeringer, med samme størrelse, og med samme bruddsteder, inntreffer med en viss gjentagelses-frekvens og resulterer i en gitt prevalens av en fenotype. Årsaken til at disse hendelsene gjentar seg er at segmentduplikasjoner lengre enn 10 kb og med mer enn 97 % sekvenslikhet forårsaker genomisk ustabilitet (21). Pga sekvenslikheten kan segmentduplikasjoner, spesielt hvis de er mindre enn 10 Mb fra hverandre, forårsake paring mellom ikke-homologe områder i homologe kromosompar under meiosen, slik at det overføres ulike mengder DNA ved overkrysningene. NAHR mellom inverterte segmentduplikasjoner vil føre til en inversjon av DNA-segmentet mellom dem, mens NAHR mellom segmentduplikasjoner med både inverterte og direkte områder vil føre til komplekse

rearrangeringer.

Mental retardasjon kan også være forårsaket av "private" mikrolelesjoner og -duplikasjoner, eller komplekse kromosomrearrangeringer. Disse er svært sjeldne (ofte kun påvist i et eneste individ eller i en eneste familie, derav betegnelsen privat), enkeltprevalensen deres er ofte ukjent, men samlet utgjør de majoriteten av patogene kopitallsendringer (35). Typisk for disse er at de ikke finnes i tilknytning til hot-spots, men finnes spredt i hele genomet (35). Den underliggende årsaken til disse CNVene kan være mikrohomologi-baserte mekanismer, for eksempel "fork stalling and template switching" (FoSTeS) (35) og "microhomologi-mediated break-induced replication" (MMBIR) (21), som forårsaker replikasjonsfeil i mitosen. Mikrohomologi defineres som korte, dvs inntill 75 baser lange, enheter av DNA med 100 % sekvenslikhet. (En studie fant at 2 til 75 bp mikrohomologi mellom DNA strengene fantes i 79 % av bruddstedene (35)).

Kopitallsvariasjon kan også oppstå der det ikke er sekvens-likhet mellom DNA trådene, ved at brudd i dobbelt-trådet DNA blir upresist reparert ved ikke-homolog skjøting av tråd-endene, såkalt "non-homologous end-joining" (NHEJ) (21). Reparasjon av bruddet fører da til tap eller tillegg av nukleotider.

I tillegg nevnes at det finnes andre mekanismer; retrotransposisjon og NAHR mellom repeterte sekvenser som LINE og SINE elementer (59). I hvilken grad disse mekanismene forårsaker at "private" patogene CNVer oppstår er fortsatt uklart (35,59).

## Mutasjonsraten for *de novo* CNV.

Mutasjonsraten for *de novo* CNV fra en generasjon til den neste er beregnet å være høyere enn mutasjonsraten for enkeltnukleotidpolymorfismer, anslått til  $1,7 \times 10^{-6}$  pr. lokus pr. generasjon for CNVer, mot  $1,8 \times 10^{-8}$  for punktmutasjoner (37,58). Andre artikler estimerer mutasjonsraten for genomiske rearrangeringer til å være mellom  $10^{-4}$  og  $10^{-5}$  (21). Kopitallsvariasjon kan derfor betraktes som en av de mest hyppigst forekommende formene for genetisk variasjon når en sammenligner en generasjon med den neste (37). Den høye mutasjonsraten kan forklare det evolusjonsgenetiske paradokset at prevalensen av mental retardasjon, holder seg på et jevnt (høyt) nivå til tross for svært redusert fitness.

Små CNVer har en høyere mutasjonsrate enn større. Lupski estimerer at en ny delesjon oppstår i 1 av 8 nyfødte, mens en duplikasjon oppstår i 1 av 50 nyfødte, og at de fleste av disse nye kopitallsendringene må antas å være benigne (58). Til sammenligning vil 50 til 100 nye enkeltbasemutasjoner ha oppstått hos en nyfødt, og disse resulterer i gjennomsnittlig 0,86 nye aminosyreendringer (36).

## Mikrodelesjons-/duplikasjonssyndromer og patogen variasjon

Den store mengden strukturell variasjon i et individs genom representerer en stor utfordring for kliniske genetikere med hensyn til å skille mellom patogene og benigne varianter.

Genomisk sykdom kan oppstå f. eks hvis delesjoner eller duplikasjoner endrer antall kopier av et dosesensitivt gen, forårsaker forskyvning i leserammen for genet, eller når bruddpunktene til inversjoner og translokasjoner går gjennom gener slik at disse ikke lenger blir uttrykt normalt. Genomisk variasjon kan også forårsake sykdom ved å forstyrre regulatoriske områder og dermed påvirke genekspressjonen.

Ved nyoppståtte rearrangeringer på flere megabaser er det ofte liten tvil om at en hendelse er patogen. Dette er strukturendringer som er så store at genomiske syndromer oppstår, som oftest som følge av gendose-effekter. For oversikt over en del genomiske syndromer, se tabellen:

TABLE 1. Representative Recurrent Copy Number Variants (CNV)

CNV Locus	Size (kb)	Del/Dup	Classic Genomic Disorder?	ID	Autism Symptoms	Schizophrenia	Epilepsy	OMIM Number <sup>a</sup>
1q21.1	1,350	del		Mild to moderate	Yes	Yes	Yes	612474
	1,350	dup		Mild to moderate	Yes	ND	ND	612475
3q29	1,500	del		Mild to moderate	ND	Yes	ND	609425
	453-1,780	dup		Mild to moderate	Yes	ND	ND	611936
7q11.23	2,284	del	Williams-Beuren syndrome	Mild to severe	No	ND	ND	194050
	2,284	dup		Mild to severe	Yes	ND	Yes	609757
15q11-q13	4,770-8,147	del-maternal	Prader-Willi syndrome	Mild to severe	No	ND	Yes	176270
	4,700-8,147	del-paternal	Angelman syndrome	Mild to severe	Yes	ND	Yes	105830
		dup		Mild to severe	Yes	ND	Yes	608636
15q13.3	1,930	del		Mild to severe	Yes	Yes	Yes	612001
	1,930	dup		Mild to moderate	Yes	Yes	No	
16p11.2	700	del		Mild to moderate	Yes	ND	Yes	611913
	700	dup		Mild to moderate	Yes	Yes	ND	611913
17p11.2	3,775	del	Smith-Magenis syndrome	Moderate to severe	No	No	Yes	182290
	3,775	dup	Potocki-Lupski syndrome	Mild to moderate	Yes	ND	ND	610883
22q11.2	1,500-3,000	del	Velocardiofacial syndrome	Mild to severe	Yes	Yes	Yes	188400
	1,500-3,000	dup		None to mild	Yes	ND	ND	608363
Xq28		del		Moderate to severe	Yes	No	Yes	300260
	215-640	dup	MECP2 duplication	Moderate to severe	Yes	No	Yes	300815

Tabell over kopitallsvariasjon som forårsaker mental retardasjon og samtidig er en medvirkende årsak til autisme, schizofreni og epilepsi (ID; Intellectual Disability). (NB! Tabellen inneholder feil i kolonnen til venstre for Prader-Willi og Angelman syndrom; Prader-Willi syndrom skyldes tap av paternelt 15q11-q13, mens Angelman skyldes tap av maternelt 15q11-q13); Tabellen er hentet fra Morrow 2010 (37).

Genomiske syndromer kjennetegnes av følgende: De skyldes en mikrodelesjon/duplikasjon med bruddsteder flankert av segmentale duplikasjoner, delesjonen/duplikasjonen er oftest nyoppstått i det affiserte individet og ikke gjenfunnet i kontrollutvalg, og individer med samme delesjon/duplikasjon har til en stor grad lik fenotype (33). Syndromene har velkjente kliniske manifestasjoner, hvorav mental retardasjon ofte er den hyppigste kjennetegnet, og de underliggende genomiske variasjonene er for de fleste godt undersøkt. Et eksempel er Williams-Beuren syndrom, som er forårsaket av en heterozygot delesjon av rundt 25 gener på kromosom 7q11.23. Typiske trekk er



lærevansker, MR, visuospatiale problemer, upassende hypersosial oppførsel, oppmerksomhetsproblemer, dysmorfe ansiktstrekk, samt kardiovaskulære- og bindevevsdefekter. Den kardiovaskulære fenotypen, ofte supra-avalvulær aortastenose, er forårsaket av tap (haploinsuffisiens) av et elastin-gen (39)

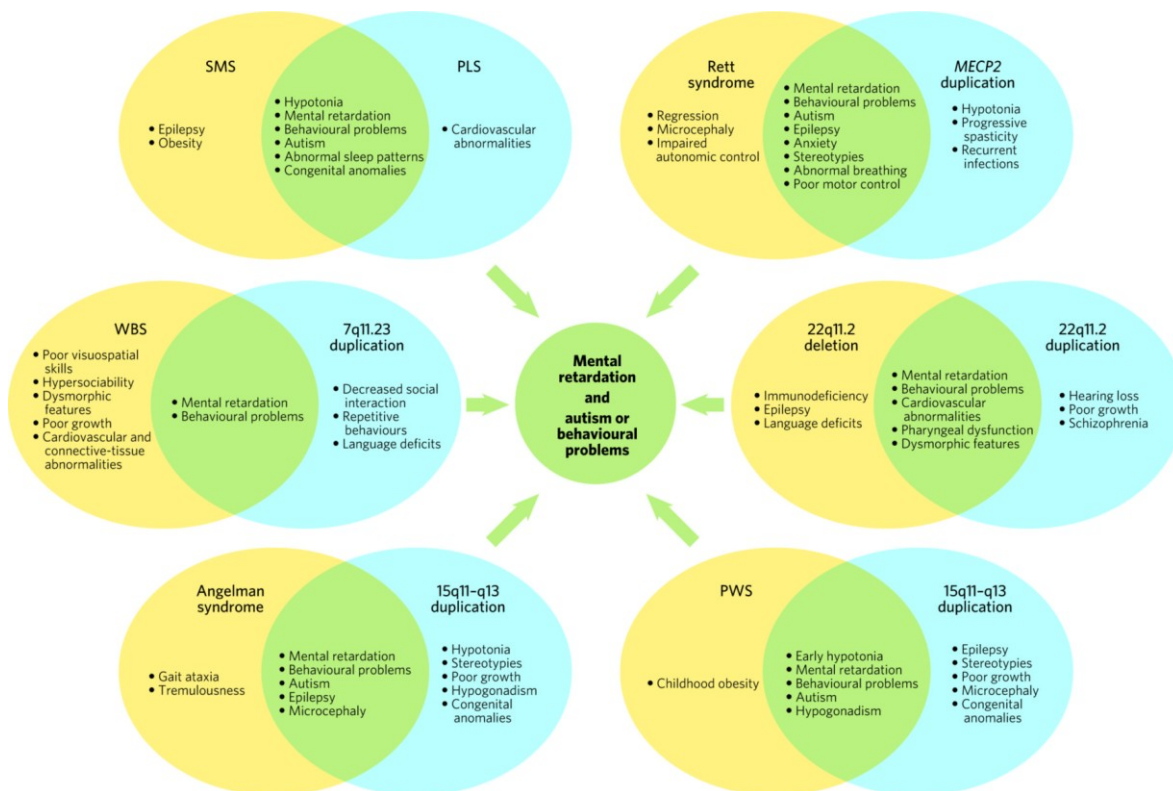
Når strukturendringen fører til gendose-endring i mange gen, og disse endringene samlet bidrar til den patologiske fenotypen, kalles syndromene kontinuerlige gensyndromer. Et eksempel på dette er et tap av et område på 3,7 Mb innen kromosom 17p11.2 som fører til Smith Magenis syndrom.

Både duplikasjon og delesjon av samme genomiske region kan medføre mental retardasjon, og begge disse strukturelle endringene er derfor eksempler på at både for mye og for lite av et transkript kan resultere i patologi. Generelt er patogene duplikasjoner ikke så hyppig forekommende som delesjoner (med unntak av på X-kromosomet) i kliniske studier av mentalt retarderte (38). Duplikasjonene medfører oftest en mildere fenotype enn delesjoner, flesteparten er nedarvet, og vanligvis ligger de dupliserte områdene tandem invertert etter hverandre (orientert speilvendt etter hverandre) (38). Kliniske kan en del duplikasjons-syndromer, samt deres resiproke delesjons-syndromer, ha felles fenotypiske trekk (33), (se fig. 3, neste side).

En delesjon kan også være patogen fordi den avdekker et resessivt allel på det andre kromosomet. Et beskrevet eksempel er hemizygot tap av 4q16 regionen i en pasient, hvor tapet avdekket en mutasjon i WFS1 genet på det andre strukturelt normale kromosom 4, og dette forårsaket en kompleks klinisk fenotype (både Wolfram- og Wolf-Hirshhorns-syndrom) (40).

Genomisk imprinting er en mekanisme for å fin-justere gendosen og dermed nivået av transkriptet fra genet (39). Genomisk imprinting er et fenomen hvor kun maternelle eller paternelle kopier av bestemte gener er uttrykt som et resultat av ulik cytosinmetylering av homologe regioner, alt etter som kromosomene er arvet fra mor eller far. Kromosomregionen 15q11-q13 er den mest studerte regionen for denne mekanismen, fordi gendose-endringer p.g.a. uniparental disomi, imprinting-sentertutasjoner, eller hemizygot delesjoner resulterer i to helt forskjellige syndromer: Angelmann syndrom (f.eks. ved delesjon av maternelt kromosom 15q11-q13), eller Prader-Willi syndrom (f.eks. ved tap av paternelt 15q11-q13) (51).

Den samlede mengden de-novo CNV i et individ kan også ha betydning for patogenisitet. I en CNV-assosiasjonsstudie over barn med autismspektrum-tilstander fant man en uforholdsmessig økt frekvens av de novo mutasjoner i forhold til kontrollgruppen (41). En lignende studie over forekomst av sjeldne CNVer i hele genomet til schizofrene, (i dette tilfelle CNVer som ikke fantes i "The Database of Genomic variants"), fant at mikroduplikasjoner/delesjoner var tilstede i 15 % av schizofreni-tilfellene, en frekvens som var tre ganger høyere enn i kontrollgruppen (64). Et tredje eksempel er en liten studie over psykometrisk intelligens hos alkoholikere, som fant at jo større mengden av sjeldne delesjoner var (d.v.s. det samlede tapet av baser) desto lavere var personens psykometriske IQ (42). Trolig gjelder samme mekanisme også for mental retardasjon, men dette har jeg ikke funnet studier på.



**Fig. 3.** Duplikasjon eller delesjon av samme område forårsaker delvis overlappende fenotyper (resiproke syndromer). Fenotyper forårsaket av delesjoner i gult. Fenotyper forårsaket av duplikasjoner i blått. Felles fenotyper i grønt. Begge typer kopitallsendring forårsaker endring i nevronfunksjon som fører til mental retardasjon eller autisme og adferdsvansker. WBS; Williams-Beuren syndrom, SMS; Smith-Magenis syndrom, PLS; Potocki-Lupski syndrom, PWS; Prader Willi syndrom. Figuren er hentet fra (39).

Utredning av mental retardasjon og andre nevropsykiatriske tilstander med aCGH teknikken har ført til at man har diagnostisert helt nye genomiske syndromer. Mefford illustrerer dette ved å vise at fra 2005 til 2009 ble det oppdaget 18 nye "diagnoser", hvorav 16 var assosiert med mental retardasjon (33). Et av de første syndromene som ble diagnostisert var kromosom 17q21.31 mikrodelesjonssyndrom og dette syndromet har vist seg å være en hyppig årsak til MR med en prevalens på 1:16.000 (33). Pr. juni 2009 var 107 "hotspot"-regioner identifisert, og 31 % av disse var assosiert med et vidt spekter av sykdommer (33). Den lange armen til kromosom 22 er spesielt rik på segmentduplikasjoner som forårsaker at genomiske rearrangeringer oppstår relativt hyppig under meiosen i denne regionen. Sykdom som velocardiofacialsyndrom, resiproke 22q11 duplikasjoner og kattøyesyndrom er derfor relativt hyppige (33).

Bruk av mikromatrisebaserte metoder for DNA analyse gir en mye høyere deteksjonsrate (15-20%) for kromosomavvik hos individer med uforklarlig mental retardasjon, autisme spektrum tilstander og multiple misdannelser, enn vanlig karyotyping (~3 % når

tilfeller med Downs syndrom og andre lett gjenkjennelige syndromer holdes utenfor), forutsatt tilstrekkelig oppløsning til å detektere endringer med størrelse 100 kb (26). Enkelte andre meta-analyser oppgir en deteksjonsrate ved bruk av aCGH som varierer fra 10 % til 19 % alt etter om utvalget består av individer med mental retardasjon og medfødte misdannelser, eller pasienter med idiopatisk mental retardasjon (43,44). På bakgrunn av disse tallene estimerer Mefford at mikrodelesjoner og -duplikasjoner som forårsaker genomiske syndromer, er årsak til >15 % av alle tilfeller av MR (33). Rauch (5) fant at ubalanserte kromosomendringer, både aneuploidier og patogene CNVer, er årsaken til 29 % av tilfeller av mental retardasjon, hvorav halvparten av avvikene var detekterbare med G-bånds-analyse, dvs de var større enn 5Mb. Strukturell variasjon er derfor i stor grad assosiert med mental retardasjon.

## Strukturell variasjon av ukjent betydning

Mikromatrisenes økte oppløsning har ført til at en økt mengde kopitallsvarianter med usikker patogenisitet, VOUS ("Variant of Unknown Significance) har blitt påvist (40),

For klinisk utredning av pasienter med mental retardasjon er det utviklet mange algoritmer og diagnostiske prosedyrer for å bøte på vanskelighetene med å avgjøre om en bestemt variant er patogen eller ikke.

Generelt kan sies at en variant som er relativt stor, inneholder mange proteinkodende gener, er sjelden (ingen polymorfisme) og nyoppstått (d.v.s. påvises ikke ved undersøkelse av foreldre) indikerer sterkt at denne er klinisk signifikant. Denne kombinasjonen er ekstremt sjelden i normalpopulasjonen fordi den strukturelle mutasjonsraten generelt er lav utenfor "hot-spot" regionene (28,58). Populasjonsstudier viser dessuten at de fleste patogene endringer er nyoppståtte og større enn 1M, mens de fleste benigne varianter er under 500 kb. En arvet CNV er benign i 99 % av tilfellene (26), med unntak av CNVer på X-kromosomet.

Allikevel finnes det mange unntak fra denne tesen. For eksempel kan ett enkelt gen i en liten kopitallsendring være tilstrekkelig til å gi sykdom, mens store benigne kopitallsendringer (>1Mb) slett ikke er så sjeldne som tidligere antatt: I en studie med 2500 friske individer, fant Itsara et al. (46) at store CNVer også kan være del av normal variasjon. De fant fenotypisk nøytrale varianter større enn 500 kb hos 5-10 % av individene, og varianter større enn 1 Mb hos 1-2 % av individene (46).

Den kliniske tolkingen av mikroduplikasjoner med ukjent betydning kan være spesielt vanskelig fordi virkningen av disse genomiske endringene er lite undersøkt (38). Spesielt vanskelig er det å tolke betydningen av en strukturell variant som inneholder flere gener, eller kun en del av et gen (38).

En rekke databaser er opprettet for å lagre informasjon om påviste kopitallsvarianter, både baser med data over normal variasjon, for eksempel "The Database of Genomic variants", samt databaser som er laget for å dokumentere patogen variasjon, slik som ECARUCA, DECIPHER, KEGG, OMIM og Genophepia/phenopedia.

DECIPHER er laget med det for øyet å samle informasjon om fenotyper som kan kobles med genotyper. En annen database, Copy Number Variation Project, dokumenterer funksjonelt relevante CNVer for assosiasjonsstudier. Disse basene kan fungere som hjelpeverktøy for klinikere, og konsulteres for å få en indikasjon om hvorvidt en påvist CNV er patogen eller ikke.

Hvorvidt prevalensen av en bestemt CNV registrert i en "normal variasjons"-database er gyldig, kan være uvisst, og om varianten er klinisk relevant kan også være uklart. Usikkerheten rundt validiteten til databasene skyldes at de inneholder anonyme oppsummeringer av store populasjonsbaserte studier hvor DNA givene er antatt å være friske, men hvor det kan tenkes at givene ikke er blitt grundig nok undersøkt (fenotypet) (24). I tillegg har DNA-et i disse studiene i mange tilfeller blitt isolert fra Epstein-Barr-virus transformerte lymfoblastcellekloner, som i seg selv kan gi opphav til transformasjons-induserte genomiske rearrangeringer (24). For øvrig kan grensene for forskjellige CNVer (i for eksempel "The Database of Genomic variants") ikke sammenlignes fordi dataene fra de forskjellige studiene baserer seg på analysemetoder med ulik oppløsning, noe som gjør det vanskelig å si om en bestemt CNV påvist i en pasient med én oppløsning overlapper med en CNV påvist med en annen oppløsning (47).

For å avgjøre om en CNV er sykdomsgivende eller benign kan man også vektlegge det genomiske innholdet i CNVen og den genomiske plasseringen. Benigne CNVer har ofte høyt innhold av repeterte sekvenser som LINE og segmentale duplikasjoner, mens CNVer assosiert med MR ofte har et høyt innhold av gener (48). 40 % av arvede CNVer finnes i regioner av genomet med få gener, og de er oftest lokalisert utenfor ultrakonserverte områder av genomet. Denne informasjon brukes også i utviklingen av algoritmer for evaluering av en VOUS, d.v.s. en variant med ukjent patogenisitet.

## Redusert penetrans og variabel ekspressivitet.

Penetrans er et statistisk begrep og kan defineres som fraksjonen av heterozygote individer som uttrykker en assosiert sykdom. Penetransen av en sykdomsgivende mutasjon er altså andelen av bærere av mutasjonen som viser kliniske symptomer på sykdommen.

Ekspressivitet beskriver variasjon i fenotype blant individer med en bestemt genotype.

Etterhvert som oppløsningen til matrisebaserte analysemetoder som aCGH er forbedret er det registrert et økt antall genomiske loci assosiert med redusert penetrans (48). Eksempler på slike loci er 1q21.1 (66, 67), 15q13.3 (68,69), samt 16p13.11(76). Hannus et al fant at del16p13.11 oftest er nyoppstått, men i noen få tilfeller også arvet fra et normalt foreldre (76). Tilsvarende kan dup22q11.2, hos de få tilfellene som er påvist, vise redusert penetrans ved at fenotypen varierer fra alvorlig mental retardasjon til helt mentalt frisk, samt at enkelte mentalt retarderte med duplikasjonen har arvet denne fra et tilsynelatende friskt forelder (76,77).

Delesjons og duplikasjonssyndromene tilhørende 1q21.1 og 15q13.3 viser i tillegg til redusert penetrans også variabel ekspressivitet (33). Pasientene med funnene representert i fig. 4a har samme delesjon innen 1q21.1, men de har forskjellige fenotypiske trekk; én har alvorlig MR, dysmorfe ansiktstrekk, hjertefeil og grå stær, en annen kun medfødt stær og normalt intellekt, og den tredje har schizofreni. Fig. 4b viser at delesjon av 15q13.3 i to forskjellige individer medfører helt forskjellige fenotypiske trekk; den ene har MR, noen dysmorfe trekk, autistimesymptomer, men har ikke epileptiske anfall, mens den andre har juvenil myoklon epilepsi og normal intellektuell funksjon.

En er også blitt klar over at en del arvede CNVer forårsaker sykdom, men viser redusert penetrans. Disse arvede CNVene kan være tilstede med lav frekvens hos friske individer, og en spør seg hva det er som forårsaker patogenesen. Et eksempel er en 520 kb delesjon ved lokuset 16p12.1. Denne delesjonen finnes med økt hyppighet hos barn med mental retardasjon, men er ofte arvet fra et uaffisert foreldre (49). Barna hadde samtidig hyppig en stor CNV et annet sted i genomet, noe som har fått forskerne til å tro at MR har oppstått som en følge av en "second hit" (49). Den første delesjonen kan derfor forstås som et risikoallel, mens delesjon nr. to er den utløsende faktoren (eventuelt kan disse ha oppstå samtidig).

Redusert penetrans og variabel ekspressivitet kan også være forårsaket av andre mekanismer (50):

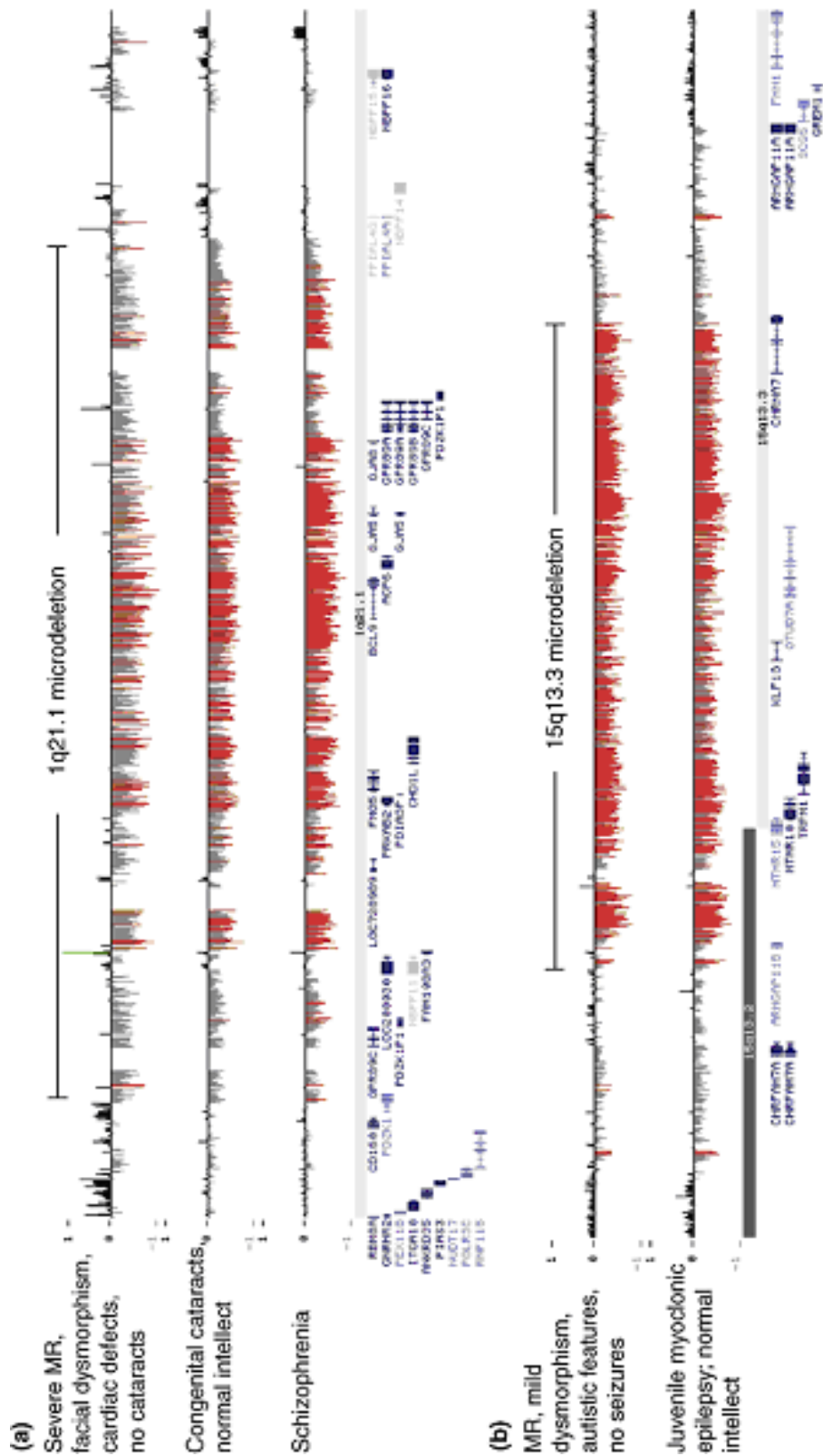
1. Et av foreldrene kan være mosaikk, med mutasjonen tilstede i kjønnsceller, men ikke i de undersøkte lymfocytene. Dette kan komplisere vurderingen av hvilken arvegang som forligger.
2. En CNV (delesjon) kan avdekke at individet er heterozygot for en mutasjon på det homologe kromosomet.
3. Imprinting kan påvirke uttrykk av gener i visse loci.

Penetrans og ekspressivitet kan trolig også påvirkes av molekylære mekanismer som kompenserer for et unormalt høy eller lavt genuttrykk av dosesensitive gener (50,62):

1. Allel-eksklusjon, d.v.s. at genekspressjonen av dosesensitive gener på et bestemt lokus varierer.
2. Mulig transveksjon, d.v.s. at interaksjon mellom allel på homologe kromosom fører til at genekspressjonen reguleres "in trans".

De ovenfor nevnte mekanismene baserer seg hovedsaklig på antakelsen om at fenotypen er resultatet av summen av effekten til de enkelte gendoseendringene.

En helt annen forklaringsmodell er at fenotypisk variabilitet skyldes totaleffekten av at nettverk av gener reguleres med homeostase som mål. En ubalanse i mengden dosesensitive gener vil, avhengig av den samlede dosen av, og interaksjon med, andre gener i nettverket, føre til at homeostasen forskyves (39,50), med varierende grad av sykdom som resultat.



**Fig. 4.** Variabel ekspresjon illustrert ved at ulike fenotyper er forårsaket av identiske delesjoner:

**(a)** Tre forskjellige individer med delesjon av kromosom 1q21.1

**(b)** To individer med delesjon av kromosom 15q13.3.

X-aksen viser genomiske loci; Y-aksen viser fluoriseringsintensiteten med log<sub>2</sub>-ratio mindre enn 1,5 standard avvik fra gjennomsnittet (røde streker). Segmentduplikasjoner vises som grå søyler (>99 % sekvenslikhet). Figuren er hentet fra Mefford et al. 2009 (33).

## Komorbiditet

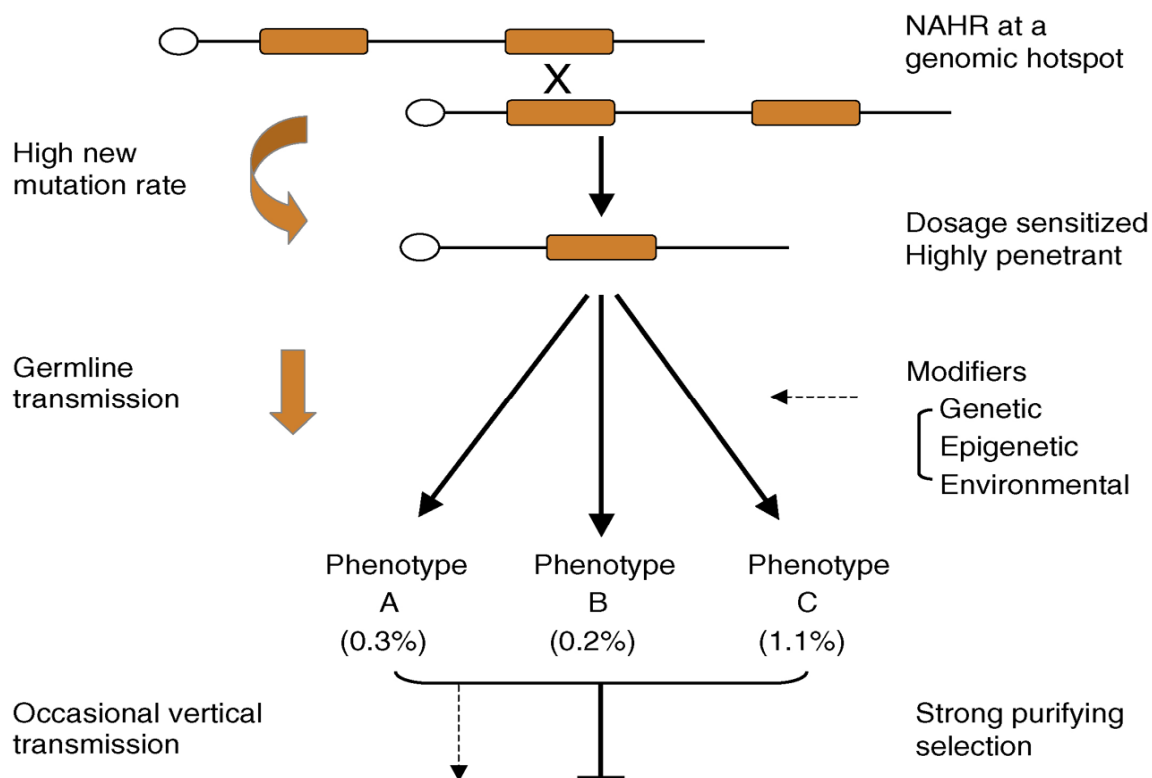
Den høye graden av komorbiditet mellom mental retardasjon og autisme, schizofreni, ADHD, samt epilepsi forundrer forskere (52). 80 % av pasienter med autisme har også varierende grad av mental retardasjon, og autisme forekommer ofte hos pasienter med mental retardasjon (53). Dette er velkjent blant klinikere.

Komorbiditet kan være assosiert med variabel ekspressivitet: Kromosom 22q11.2 delesjonssyndrom er et annet eksempel på en delesjon som er assosiert med betydelig fenotypisk variasjon, hele 180 kliniske trekk er registrert (61). Deler av disse utgjør de fenotypiske konstellasjonene som er typiske for DiGeorge syndrom, velokardiofacialt syndrom, og Sprintzen syndrome (kun språkvansker (76)). Mikrodelesjoner på kromosom 22q11.2 forekommer hos 1 av 4000 nyfødte, og dette medfører at kromosom 22q11.2 delesjonssyndrom er det hyppigst forekomne mikrodelesjonssyndromet hos mennesker (60). De fleste av delesjonene (90 %) er 3 Mb store og inneholder 60 gener, 8 % av delesjonene er 1,5 Mb og inneholder 28 gener, mens resten er atypiske delesjoner (74). Mange av de deleterte genene har viktige roller i nevronutvikling og transmisjon av signal over synapser. Somatiske konsekvenser av delesjonen er ofte hareskår, hjertefeil, ganespalte, thymus aplasi og gjentatte infeksjoner, i tillegg til et bredt spekter av kognitive symptomer, for eksempel MR, autisme, lærevansker, ADHD og psykose (37,39). Delesjonen på kromosom 22q11.2 er den sterkeste kjente genetiske risikofaktoren for schizofreni (63), og medfører at individer med velokardiofacialt syndrom har 30 % sannsynlighet for å utvikle psykose, som i 80 % av tilfellene manifesterer seg som schizofreni (70). Delesjonen er årsak til 1-2 % av alle tilfeller av sporadisk schizofreni (73).

Utgangspunktet for at komorbiditet og variabel ekspresjon forekommer er at gener som er involvert i MR også er uttrykt i vev utenfor hjernen og disse genene kan derfor ha innflytelse på et vidt spekter av biologiske funksjoner.

Pleiotropi refererer til situasjoner med to eller flere hovedfenotyper, hvor genotypen er felles (Fig. 5). Pleiotropi anses som den mest sannsynlige forklaringen til komorbiditet mellom nevrokognitive tilstander, samt epilepsi. Pleiotropi innebærer at hver av sykdommene må ha en delvis felles etiologi, men at påvirkning fra andre genetiske, miljømessige, eller helt stokastiske faktorer, er bestemmende for fenotypen, se figur 5 (54).

Den kliniske heterogeniteten som er assosiert med enkelte strukturelle varianter har ført til at enkelte har begynt å stille spørsmål ved validiteten av det klassiske kliniske klassifikasjonssystemet for nevrokognitiv sykdom (54). Ankepunktet er at mange diagnoser settes utelukkende på grunnlag av kliniske symptomer, uten å vurdere biologiske relevante risikofaktorer som for eksempel strukturell variasjon (54).



**Fig 5.** Figuren beskriver pleiotropi; i dette tilfellet hvordan NAHR (non-allelisk homolog rekombinasjon) av DNA tråden under meiosen, resulterer i en delesjon, hvorpå ulike genetiske, miljømessige eller epigenetiske hendelser fører til at fenotypisk variasjon oppstår. Figuren er hentet fra Mefford et al. 2009 (33).

## Vanlige alleler med liten effekt, og sjeldne alleler med moderat eller stor effekt.

Debatten om hvorvidt det er vanlige alleler med liten effekt eller sjeldne alleler med moderat eller stor effekt som forårsaker våre vanligste folkesykdommer er gammel (55). Kjernen i diskusjonen er om det er genetiske varianter med lav penetrans, men som er relativt vanlige i den generelle populasjonen, eller om det er mange sjeldne genetiske varianter, hver med høy penetrans, som bidrar til økt risiko for høyt blodtrykk, diabetes, kreft, eller andre vanlige sykdommer.

Relativt vanlig innebærer at varianten finnes i mer enn 1 % av totalpopulasjonen (også betegnet "minor allele frequency", MAF,  $>1\%$ ), mens sjelden impliserer at varianten finnes hos under 1 % (MAF  $<1\%$ ). Shork et al, hevder i en artikkel om temaet at begge de ovenfornevnte synspunktene i større eller mindre grad kan forsvares idag (55). Synspunktene har utgangspunkt i ulike strategier for å identifisere genetisk variasjon som disponerer for sykdom, og spørsmålet burde ikke være enten-eller, men heller i hvilken grad både vanlige og sjeldne alleler disponerer for en bestemt patogen fenotype.

Shork et al viser til at flere studier har dokumentert at individer med autisme (71),



schizofreni (64) eller bipolar sykdom statistisk har en økt mengde kopitallsvariasjon, spesielt delesjoner. Konklusjonen til mange av disse studiene er at det ikke er spesifikke kopitallsvariasjoner man finner i genomene til disse individene, men heller et stort antall lav-frekvente CNVer (55). Det er mulig dette kan overføres til tilfeller med mental retardasjon.

Mange argumenter taler for at det er svært sjeldne varianter med stor effekt, som i størst grad forårsaker mental retardasjon:

Store assosiasjonsstudier, hvis mål er å identifisere relativt vanlige alleler som disponerer for sykdom, har til en viss grad klart finne bestemte genetiske varianter som statistisk er forbundet med en bestemt sykdom. Problemet er at variantene, som hver har lav penetrasjon, samlet ikke kan forklare mer enn 5-10 % av sykdommens arvelighet (55). Resultatene i assosiasjonsstudier er dessuten ofte vanskelig å reprodusere i kontrollstudier. Dette innebærer at frekvente varianter trolig ikke forklarer hele prevalensen av mental retardasjon, men at sjeldne CNVer i tillegg har et viktig bidrag.

Relativt frekvente varianter er stort sett arvede, mens sjeldne varianter kan være både nye og arvede. Shork et al (55) viser derfor til hypoteser om at de arvede variantene over tid har vært utsatt for seleksjon, som virker inn på frekvensen av sykdomsfremkallende varianter og medført at disse variantene sannsynligvis er tilstede i en høyere frekvens enn de patogene. Sjeldne varianter er på en annen side enten nye og har da ikke vært utsatt for negativ seleksjon, eller de er sjeldne fordi de er ødeleggende for individet, dvs er forbundet med nedsatt fitness. Dette innebærer at sjeldne varianter har større effekt enn de mer vanlige (72).

De mange tilfellene av mental retardasjon hvor den etiologiske diagnosen ikke blir stilt, indikerer at man skal være forsiktig med å konkludere angående årsaksfaktorene til mental retardasjon. Utfra den kunnskapen man har idag vet man at relativt sjeldne alleler, dvs. CNVer og SNPer assosiert med syndromer, bidrar med å forklare etiologien bak minst 15 % av tilfellene (33), mens svært sjeldne alleler, dvs "private" CNVer og SNV, trolig i minst like stor grad bidrar til å forårsake mental retardasjon.

Noen få prosent av tilfellene av mental retardasjon kan forklares ene og alene med miljø- og teratogen eksponering. Det kan allikevel tenkes at miljøfaktorer i stor grad er en medvirkende årsak til mental retardasjon, spesielt hos den store andelen av mental retarderte som til tross for omfattende undersøkelser, både genetiske og andre, forblir uten en årsaksforklaring. Den multifaktorielle forklaringsmodellen for mental retardasjon har hittil vært at genetiske og miljømessige faktorer kan adderes inntil en "terskel" er nådd, deretter vil hjerneutviklingen ikke lenger kunne følge det normale utviklingsmønsteret. Nyere forskning legger ikke like stor vekt på akkumulering av miljø- og genetiske faktorer til terskelverdi, men heller at det er en interaksjon mellom genetiske faktorer og miljøeksponering, slik at eksponering for spesifikke miljøfaktorer kun er teratogent i nærvær av spesifikke predisponerende genetiske faktorer (56). Dette innebærer at en ikke kan utelukke at svært sjeldne alleler i stor grad bidrar til mental retardasjon.

## Referanser:

1. Schroeder SR, et al: Final project report: Usage of the term mental retardation; Language, image and public education, University of Kansas, sit in Moeschler J: Medical genetics diagnostic evaluation of the child with global development or intellectual disability. *Curr Opin Neur* 2008, 21:117-122
2. [www.pearssonassessments.no](http://www.pearssonassessments.no)
3. Legeforeningens veileder
4. Nasjonalt kunnskapssenter for utviklingshemming; [www.naku.no/kunnskapsbanken/](http://www.naku.no/kunnskapsbanken/)
5. Rauch A, et al. Diagnostic Yield of Various Genetic Approaches in Patients With Unexplained Developmental Delay or Mental Retardation. *Am J Med Genet* 2006, Part A 140A: 2063-2074.
6. Leonard H, Wen X: the epidemiology of mental retardation: challenges and opportunities in the new millennium. *Ment Retard Dev Disabil Rev* 2002, 8: 117-134
7. Rapport Sosial og helsedepartementet, 2007, " Vi vil, vi vil, men får vi det till? levekår, tjenestetilbud og rettssikkerhet for personer med utviklingshemning", IS-1456
8. [www.who.int/whr/2001/media\\_centre/en/whr01\\_fact\\_sheet1\\_en.pdf](http://www.who.int/whr/2001/media_centre/en/whr01_fact_sheet1_en.pdf)
9. Strømme P: Epidemiological, genetic and neurological aspects of mental retardation: A Norwegian populationbased study of children born between 1980 and 1985, Section for Child Neurology, Department of Paediatrics, The National Hospital, University of Oslo; 2000.
10. Skjellum T. Psykisk utviklingshemmede og helse- og sosialtjenesten i Akershus: en survey-undersøkelse blant psykisk utviklingshemmede og deres pårørende. [Nordbyhagen]: Stiftelse for helsetjenesteforskning; 1997. HELTEF Rapport nr 2-1997.
11. Moog U: the outcome of diagnostic studies on the etiology of mental retardation: considerations on the classification of the causes. *Am J Genet A* 2005, 137: 228-231.
12. Curry CJ, et al. Evaluation of mental retardation: Recommendations of a consensus conference; American College of medical Genetics. *Am J Med Genet* 1997, 72: 468-477
13. Hochstenbach R, et al: Array-analysis and karyotyping: Workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic development delay in the Netherlands, *Neu Bio of Disease* 2010, 39: 3-12
14. Stankiewicz P, Beaudet A: Use of array CGH in the evaluation of dysmorphology, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation, *Curr Opin Genet Dev* 2007, 17:182-192
15. van Bokhoven H, Kramer J: An emerging mechanism in mental retardation, *Neurology of Disease* 2010, 39: 3-12
16. Claverie JM: Fewer genes, more non-coding RNA. *Science* 2008; 309(5740): 1529–30
17. Lander ES, Linton LM, Birren B, et al: Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001, 409 (6822): 860-921
18. Richard C and Mark B: The impact of retrotransposons on human genome evolution. *Nature Rew Gen* 2009, 10 (10): 691–703,
19. Stankiewicz P, Lupski J: Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. *Trends Genet* 2002, 18: 74-82.
20. International Human Genome Sequencing Consortium: Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 2004, 431(7011): 931-45
21. Stankiewicz P, Lupski J, Stuctural Variation in the Human Genome and its Role in Disease. *Annu Rev Med* 2010, 61:437-55

22. Poot M, Hochstenbach R: A three-step workflow procedure for the interpretation of array-based comparative genome hybridization results in patients with idiopathic mental retardation and congenital anomalies. *Genet Med* 2010, 12(8):478-485
23. Conrad DF, et al: Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature* 2010, 464: 704-712
24. Pinto D, et al: Copy-number variation in control population cohorts. *Hum Mol Genet* 2007, 16:R168-R173
25. Levy, et al: The Diploid Genom Sequence of an individual Human. *PLoS Biol* : e254
26. Miller DT, et al: Consensus Statement: Chromosomal Microarray is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies. *Am Journal of Hum Gen* 2010, 86:749-764
27. Lupski JR, Genome structural variation and sporadic disease traits. *Nat Genet* 38: 974-976, 2006
28. Redon R, et al: Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006, 444: 444-54.
29. Buysse K, et al; Challenges for CNV interpretation in clinical molecular karyotyping; lessons learned from a 1001 sample experience , *European Journal of Medical Genetics*, 52 (2009), 398-403.
30. Edlmann L, Hirshhorn K: Clinical utility of arrayCGH for the detection of chromosomal imbalances associated with mental retardation and multiple congenital anomalies. *Ann N.Y. Acad Sci* 2009, 1115:157-166
31. Ionita-Laza J et al: Genetic association analysis of copy number variation in human disease pathogenesis, *Genomics* 2009; 93(1): 22-26
32. Vissers L, de Vries B, veltman J, Genomic micro arrays in mental retardation, *J Med Genet* 2010, 47:289-297
33. Mefford H, Eichler E: Duplication Hotspots, Rare Genomic Disorders and Common Disease, *Curr Opin Genet Dev* 2009, 19:196-204
34. Rødningen O, et al, Påvisning av kromosomavvik ved hjelp av DNA-matriser, *tidskr Nor Lægeforen* 2010, nr 9;130:944-7
35. Vissers L, et al: Rare pathogenic microdeletions and tandem duplications are microhomology-mediated and stimulated by local genomic architecture. *Human Mol Gen Vol.* 18, no 19, 3579-3593, 2009
36. Vissers E L, et al: A de novo paradigm for mental retardation. *Nature Gen* 2010, 42(12):1109-1112
37. Morrow E: Genomic Copy Number Variation in Disorders of Cognitive Development. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2010, 49(11):1091-1102, 2010
38. Stankiewicz P, Pursley A, Cheung S: Challenges in Clinical Interpretation of Microduplications Detected by Array CHG Analysis. *Am J Genet* 2010; Part A; 52A:1089-1100
39. Ramocki M, Huda Y Zoghbi: Failure of neuronal hoemstasis results in neuropsychiatric phenotypes, *Nature* 2008, 455(7215): 912-918,
40. McMullan D, et al: Molecular karyotyping of patients with unexplained mental retardation by SNParrays: A multicenter study. *Human Mutation* 2009, 30:1082-1092
41. Guilmatre A, et al: Recurrent rearrangements in synaptic and neurodevelopmental genes and shared biological pathways in schizophrenia, autism, and mental retardation. *Arch gen Psyc* 2009, 66 (9):947-56
42. Yeo R, et al Rare Copy Number Deletions Predict Individual Variation in Intelligence, *PLoS One* 2011, 6(1): e16339
43. Sagoo G, et al: Array CGH in patients with learning disability and congenital anomalies; updated systematic review and meta-analysis of 19 studies and 13,926 subjects. *Gen in Med* 2009, 11(3):139-146
44. Hochstenbach R, Poot M: Array analysis and karyotyping: Workflow consequences based on a retrospective study of 36325 patients with idiopathic developmental delay in Netherland. *Eu Journ of Med Gen* 2009, 54 (4): 161-169
46. Itsara et al: Population analysis of large copy number variants, and hotspots of human genetic disease. *Am J Hum Genet* 2009, 84:148-161

47. Sharp AJ: Emerging themes and new challenges in defining the role of structural variation in human disease, *Hum Mutat* 2009; 30:135-144
48. Hehir-Kwa JY, et al: Accurate distinction of pathogenic from benign CNVs in mental retardation. *PLoS Comput Bio* 2010, 6(4): e1000752
49. Giriajan S, et al: A recurrent 16p12.1 microdeletion supports a two hit model for severe developmental delay. *Nat Genet* 2010, 42:203-209,
50. Wilson GN, Karyotype/phenotype controversy: Genetic and molecular implications of alternative hypothesis *Am Hum genet* 36:500-505 (1990), sit in: Ravel et al, Molecular karyotyping of patients with MCA/MR: The blurred boudary between normal and pathogenic variation, *Cytogenet Genome Res* 2006,115: 225-230
51. Lalonde M: Molecular epigenetics of Angelman syndrome. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64:947-960
52. Bokhoven H, Kramer J: Disruption of the epigenetic code. An emerging mechanism in mental retardation, *Neurobiol of Disease* 2010, 39:3-12
53. Brereton AV, Tonge B J, Einfeld S L: Psychopathology in children and adolescents with autism compared to young people with intellectual disability. *J Autism Dev Disord* 2006, 36:863-870
54. Williams H J, Owen M, O'Donovan M: Schizophrenia genetics: new insights from new approaches. *British Medical Bulletin* 91:61-74, 2009
55. Schork N, et al: Common vs rare allele hypothesis for complex disease. *Curr Opin Genet Dev* 2009, 19:212
56. Dolk H, Loane M, Garne E: The prevalence of Congenital Anomalities in Europe. *Adv Exp Med Biol.* 2010;686:349-64.
57. Vaillend C, Poirier R, Laroche S, Genes, plasticity and mental retardation, *Behavioural Brain Research* 2008, 192:88-105
58. Lupski JR: Genomic rearrangements and sporadic disease. *Nat. Genet* 2007, 39 (7): S43-47
59. Zhang F, Carvalho C, Lupski JR: Complex human chromosomal and genomic rearrangements. *Trends in Gen* 2009, 25(7): 298-305
60. Scrambler PJ: The 22q11 microdeletion syndroms. *Hum Mol Genet* 2000, 9(16): 2421-2426
61. Shrintzen R J: Velo-cardio-facial syndrom: 30 years of study, *Dev Disabil Res Rev* 2008; 14:3-10
62. Lupski JR, Stankiewicz P: Genomic disorders: molecular mechanisms for rearrangements and conveyed phenotypes, *PLoS Genet* 2005, 1:e49
63. Gothelf D, et al: Risk factors for the emergence of psychotic disorders in adolescents with 22q11.2 deletion syndrome. *Am J Psychiatry* 2007; 164: 663-669
64. Walsh T, et al: Rare structural variation disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science* 2008; 320:539-543
66. Brunetti-Pierrri N, et al: Recurrent reciprocal 1q21.1 deletions and duplications associated with microcephaly and developmental and behavior abnormalities. *Nat Genet* 2008, 40:1466-1471
67. Mefford HC, et al: Recurrent Rearrangement of Chromosome 1q21.1 and variable Pediatric Phenotypes, *N Eng J Med* 2008; 359:1685-1699
68. van Bon BWM, 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
69. Sharp AJ, Mefford HC, et al: A recurrent 15q13.3 microdeletion syndrome associated with mental retardation and seizures. *Nat Genet* 2008; 40:322-328
70. Murphy K.C, Jones LA, Owen MJ: High rates of schizophrenia in adults with velo-cardio-facial syndrome, *Arch Gen Psychiatry* 1999, 56:940-945
71. Sebat J, Laksmi B: Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science* 2007, 316: 445-449
72. Gorlov IP, et al: Shifting paradigm of association studies: value of rare singel nucleotide polymorphism. *Am J*

- Hum Genet 2008, 82(1):100-112.
73. Karayiorgou M, Simon TJ, Gogos JA: 22q11.2 microdeletions: Linking DNA structural variation to brain dysfunction and schizophrenia. *Nat Rev Neurosci* 2010, 11 (6): 402–416
  74. Drew LJ: The 22q11.2 microdeletion: Fifteen years of insight into the genetic and neural complexity of psychiatric disorders. *Int Journ of Dev Neu* 2011, 29 (3): 259-281
  75. "Satellite DNA". *A Dictionary of Biology*. 2004. Encyclopedia.com. [www.encyclopedia.com](http://www.encyclopedia.com).
  76. Hannes FD, et al: Recurrent reciprocal deletions and duplications of 16p13.11. The deletion is a risk factor for MR/MCA while the duplication may be a rare benign variant. *J Med Genet* 2009, 46(4):223-32
  77. Ensenauer RE, et al: Microduplication 22q11.2, an emerging syndrome: clinical, cytogenetic, and molecular analysis of thirteen people. *Am J Hum Genet* 2003, 73(5):1027-1040