INJ
МІЖНАРОДНИЙ НЕВРОЛОГІЧНИЙ ЖУРНАЛ
INTERNATIONAL NEUROLOGICAL JOURNAL

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ
ORIGINAL RESEARCHES

УДК 616.8-009-053.2-07+575.17(477) DOI: https://doi.org/10.22141/2224-0713.20.8.2024.1126

Кирилова Л.Г.[1], Мірошников О.О.[1], Харитонов В.І.[2], Доленко О.О.[3], Бадюк В.М.[3], Дюкарева-Бездєнєжних С.В.[1]
[1]ДУ «Всеукраїнський центр материнства та дитинства НАМН України», м. Київ, Україна
[2] КНП «Клінічна лікарня «Психіатрія», м. Київ, Україна
[3]ТОВ «Ультрагеном», м. Київ, Україна

# Порівняльна ефективність методів генетичної діагностики в дітей з розладами нервової системи в Україні

For citation: International Neurological Journal (Ukraine).2024;20(8):427-434. doi: 10.22141/2224-0713.20.8.2024.1126

**Резюме.** ***Актуальність.*** *У сучасному суспільстві спостерігається значне зростання кількості нейропсихічних розладів у дітей. Важливу роль у діагностуванні захворювань нервової системи та порушень нейророзвитку відіграють сучасні методи генетичного тестування.* ***Мета:*** *проаналізувати результати генетичних досліджень у дітей з різними видами неврологічних розладів і оцінити ефективність цих методів для поліпшення підходів до діагностики.* ***Матеріали та методи.*** *У дослідження було включено 160 дітей віком 0–18 років (середній вік 6,7 року). Серед них 131 дитині було проведено повноекзомне секвенування (ПЕС), у тому числі 68 (51,9 %) — з епілепсією, 31 (23,7 %) — з розладами аутистичного спектра (РАС) і 32 (24,4 %) — з неврологічними розладами. Хромосомний мікроматричний аналіз (ХМА) проведено 56 дітям. Серед них 27 дітям проведено як ПЕС, так і ХМА.* ***Результати.*** *Серед обстеженої методом ПЕС 131 дитини позитивний результат було отримано в 59 пацієнтів (45,0 %), у тому числі серед дітей з епілептичними нападами — у 31 пацієнта (45,6 %), серед дітей з РАС — у 10 пацієнтів (32,3 %), серед дітей з неврологічними розладами — у 18 пацієнтів (56,3 %). Методом ХМА позитивний результат було отримано у 18 дітей (32,1 %), у тому числі серед дітей з епілепсією — у 5 (31,3 %), у дітей з РАС — в 11 (30,6 %), у дітей з неврологічними розладами — у 2 (50,0 %). Серед обстежених методом ХМА дітей 27 (48,2 %) попередньо були обстежені методом ПЕС і отримали негативний результат. У даній когорті у 8 дітей (29,6 %) було виявлено мутації методом ХМА, натомість серед дітей, у яких ПЕС не проводилося, методом ХМА було виявлено мутації в 10 дітей (34,5 %).* ***Висновки.*** *ПЕС є найбільш ефективним методом при неврологічних розладах (56,3 % дітей) та епілепсії (45,6 % дітей). У цілому метод ПЕС показав більшу ефективність у загальній вибірці дітей (45,0 %) порівняно з ХМА (32,1 %). Метод ХМА показав більшу ефективність при неврологічних розладах (50,0 %). Серед дітей з негативним результатом ПЕС у 29,6 % виявлено патогенні варіанти методом ХМА. Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської декларації. На проведення досліджень отримано інформовану згоду пацієнтів і їхніх батьків. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.*

**Ключові слова:** *розлади нейророзвитку; епілепсія; генетичне тестування; розлади аутистичного спектра; повноекзомне секвенування; хромосомний мікроматричний аналіз*

## Вступ

Проблема зростання поширеності розладів нервової системи, психіки й поведінки в дітей останніми десятиріччями набула світового значення й актуальності. Сучасною світовою тенденцією охорони здоров'я є прагнення до профілактики та збереження якості життя пацієнтів з неврологічними розладами, що знайшло відображення в Глобальному плані дій щодо епілепсії та інших неврологічних захворювань, затвердженому Всесвітньою організацією охорони здоров'я [1].

Глобальні катаклізми, такі як пандемія SARS-CoV-2 і локальні війни, зокрема повномасштабна агресія ро-

© 2024. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY, which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Кирилова Людмила Григорівна, доктор медичних наук, завідуюча відділенням психоневрології для дітей з перинатальною патологією та орфанними захворюваннями, ДУ «Всеукраїнський центр материнства та дитинства НАМН України», вул. Платона Майбороди, 8, м. Київ, 04050, Україна; e-mail: kirilova.lgr@gmail.com
For correspondence: Lyudmyla Kyrylova, MD, DSc, PhD, Head of the Department of Psychoneurology for Children with Perinatal Pathology and Orphan Diseases, State Institution "Ukrainian Center of Maternity and Childhood of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Platona Mayborody st., 8, Kyiv, 04050, Ukraine; e-mail: kirilova.lgr@gmail.com
**Full list of authors' information is available at the end of the article.**

сійської федерації проти України, призвели до стрімкого зростання поширеності розладів нейророзвитку в дітей, які набувають характеру «неінфекційної пандемії» [2].

Упровадження в клінічну практику генетичного тестування методами секвенування наступного покоління (next generation sequencing — NGS) призвело до значного поліпшення діагностики захворювань нервової системи, що є економічно вигідним як для держави, так і для пацієнтів і їхніх родин, і в багатьох випадках — до суттєвого поліпшення якості життя пацієнтів [3, 4].

Відомо, що приблизно 80 % існуючих генів активно експресуються в мозку, а 40 % відомих генетичних захворювань негативно впливають на центральну нервову систему (ЦНС). Методи NGS значно розширили можливості діагностики неврологічних розладів, у тому числі епілепсій та епілептичних енцефалопатій (ЕЕ), розладів нейророзвитку, рухових розладів тощо. Генетичне тестування в багатьох випадках допомагає завершити «діагностичну одіссею» для пацієнтів і їхніх сімей, зробити правильний прогноз і прийняти рішення щодо подальшого обсягу діагностичних і терапевтичних втручань [5].

Перед проведенням генетичного тестування необхідно виконати в повному обсязі біохімічні й метаболічні лабораторні аналізи, ЕЕГ-моніторинг і нейровізуалізацію. Важливо обговорити з батьками дитини очікування й можливі наслідки позитивного, негативного і неоднозначного результату (тобто виявлення варіанта невизначеного значення) [6].

До сучасних методів генетичної діагностики на сьогодні відносять:

1) дослідження каріотипу лімфоцитів периферичної крові — використовується для діагностики повнохромосомних аномалій і незбалансованих структурних перебудов хромосом значного розміру (наприклад, при множинних вадах розвитку, дизморфічних рисах обличчя);

2) хромосомний мікроматричний аналіз (ХМА), також відомий як метод порівняльної геномної гібридизації (array comparative genomic hybridization (CGH)), використовується при ознаках наявності дизморфічних рис обличчя, наявності супутньої соматичної патології, вадах розвитку;

3) секвенування наступного покоління (next generation sequencing), яке може включати дослідження окремих генів (наприклад, TSC1/TSC2) або панелі генів;

4) повноекзомне (ПЕС) і повногеномне секвенування [7, 8].

Метод хромосомного мікрометричного аналізу рекомендовано проводити дітям з ЕЕ та інтелектуальною недостатністю в поєднанні з дизморфічними особливостями обличчя, уродженими аномаліями. ХМА дозволяє виявити варіанти копій генів (copy number variations, або CNVs), але збалансовані перебудови, точкові мутації і дрібні екзонні делеції та дуплікації можуть залишитись невиявленими у зв'язку з обмеженням методу. Діагностична цінність методу ХМА, за даними літератури, у пацієнтів з епілептичними нападами становить 5–16 % [8, 9].

Метод повноекзомного секвенування дозволяє виявити успадковані або новоутворені (de novo) варіанти нуклеотидної послідовності (однонуклеотидні заміни, невеликі інсерції та делеції — до 10 п.н.), які можуть бути причиною розвитку неврологічних розладів. Метод не призначений для визначення співрозташування пар гетерозиготних мутацій, а також для оцінки рівня метилювання або виявлення мутацій у стані мозаїчності. У деяких випадках біоінформатичний аналіз даних дозволяє запідозрити наявність структурних перебудов (мікроделецій і мікродуплікацій). Виявлені варіанти аналізуються за допомогою баз даних генетичних варіантів (ClinGen, DDG2P, ClinVar, PharmGKB, NHGRIEBI або GWAS). Варіанти класифікуються відповідно до стандартів і настанов щодо інтерпретації, встановлених Американським коледжем медичної генетики (ACMG). Результати досліджень завжди слід інтерпретувати в контексті сімейної історії, анамнезу та поточної інформації про захворювання [9, 10].

Результати генетичного тестування методом NGS дозволяють отримати різні варіанти мутацій у генах, пов'язаних з розвитком орфанних захворювань. Згідно з класифікацією Американського коледжу генетики та геноміки, дані варіанти можуть інтерпретуватися таким чином:

1) патогенний (pathogenic);

2) імовірно патогенний (likely pathogenic);

3) варіант невизначеного значення (VUS — variant of uncertain significance);

4) імовірно доброякісний (likely bening);

5) доброякісний (bening) [9].

Виявлення варіантів невизначеного значення може становити особливі труднощі для лікаря і родини пацієнта. Крім того, що виявлення варіанта невизначеного значення не дає остаточної відповіді щодо причини захворювання, такий результат може вимагати додаткових досліджень і витрат, що може стати фінансовим тягарем для родини. Необхідно також підкреслити етичні наслідки та проблеми генетичного тестування, такі як виявлення несподіваних результатів (наприклад, носійства рецесивного захворювання). Крім того, слід враховувати вплив і наслідки генетичного тестування на пацієнтів та їхню родину (тобто стрес, страх, тривогу), а також на репродуктивне планування. Нарешті, сім'я дитини повинна знати, що таргетна терапія і очікуване покращення стану дитини існує лише для обмеженої частки генетично обумовлених неврологічних розладів [10].

В Україні генетичне тестування при неврологічних захворюваннях набуло відносно широкого клінічного застосування лише останніми роками [11–13]. Методи генетичної діагностики все ще залишаються малодоступними для більшості пацієнтів з огляду на їх високу вартість. У переважній більшості випадків фінансовий тягар дослідження лягає на родину пацієнта. Також існують протиріччя щодо вибору методу дослідження, а

також низка дискутабельних питань серед вітчизняних фахівців:

1. Чи рекомендувати дитині з неврологічним захворюванням або розладом психіки й поведінки генетичне тестування?

2. Якщо рекомендувати, то на якому етапі дослідження?

3. Який тест необхідно призначити?

4. Чи буде призначений тест ефективним та економічно обґрунтованим?

5. Хто саме має направляти дитину на генетичне обстеження та інтерпретувати результати: невролог чи генетик?

У той же час низка фахівців заперечує саму необхідність проведення генетичного тестування при розладах нейророзвитку, зокрема при розладах аутистичного спектра (РАС), та інтелектуальній недостатності, мотивуючи це тим, що результати дослідження не здатні змінити тактику лікування для пацієнтів. Це твердження можна заперечити результатами мультицентрового дослідження впливу результатів NGS на подальший менеджмент пацієнтів з епілептичними нападами. Згідно з результатами дослідження 418 пацієнтів різного віку, підтверджений генетичний діагноз призводив до змін у лікуванні в 49,8 % пацієнтів. При подальшому спостереженні встановлено, що в 64,7% відзначалося зменшення або повне усунення нападів [14].

В Україні досі відсутні об'єктивні дослідження ефективності методів генетичної діагностики в дітей з розладами нервової системи, що обумовило актуальність проведеного дослідження, яке є частиною науково-дослідної роботи «Клініко-діагностичне обстеження дітей раннього віку з генетично-обумовленими формами ранніх епілептичних енцефалопатій і розладами нейророзвитку» (номер державної реєстрації 0119U000146), що виконується у відділенні психоневрології для дітей з перинатальною патологією та орфанними захворюваннями ДУ «Всеукраїнський центр материнства і дитинства НАМН України» (завідувачка — професор Л.Г. Кирилова). Дослідження було схвалено комісією з біоетики та деонтології при ДУ «Всеукраїнський центр материнства і дитинства НАМН України» (протокол № 4 від 15.04.2021).

**Мета дослідження:** проаналізувати результати генетичних досліджень у дітей з різними видами неврологічних розладів та оцінити їх ефективність з метою оптимізації підходів до генетичної діагностики в даного контингенту дітей.

## Матеріали та методи

У дослідження було включено 160 дітей віком 0–18 років (середній вік 6,7 року), обстежених методами генетичного секвенування в період з 2020 по 2024 р. Серед них 131 дитині було проведено повноекзомне секвенування, 56 дітям — хромосомний мікроматричний аналіз, у тому числі у 27 дітей застосовувались обидва діагностичних методи — як ПЕС, так і ХМА. Серед обстежених дітей було 88 хлопчиків і 72 дівчинки (співвідношення 1,3 : 1).

Критерії включення до дослідження:

— наявність підписаної інформованої згоди батьків на проведення обстеження;

— наявність неврологічної патології, такої як епілептичні напади, рухові або тонусні порушення, затримка або регрес розвитку, прояви розладів аутистичного спектра.

Геномну ДНК виділено зі зразків периферичної крові стандартним способом. Генетичні дослідження проводилися на базі лабораторії ТОВ «Ультрагеном» (м. Київ, Україна).

Аналіз ДНК проводиться за технологією секвенування наступного покоління методом парнокінцевого зчитування. Для підготовки проб використовується методика селективного захоплення ділянок ДНК, що належать до кодуючих ділянок генів з відомим клінічним значенням (клінічний екзом) або генів, асоційованих із групою захворювань (панелі генів) і описаних у базі даних OMIM або спеціалізованих базах. Середнє покриття цільових ділянок секвенування в досліджуваних генах становить не менше 50х. Це означає, що кожна досліджувана ділянка генома в середньому аналізується не менше ніж 50 разів для уникнення впливу технічних помилок читання на результати дослідження.

Таке покриття дозволяє здійснювати детекцію варіантів у середньому не менше ніж у 98 % цільових ділянок, що входять у дослідження.

Для аналізу застосовано програмне забезпечення Varsome версії 11.8 і вище та Ion Reporter (Thermo Fisher Scientific). Виявлені варіанти аналізуються за допомогою бази даних генетичних варіантів ClinVar та інших публічних геномних баз даних. Варіанти класифікуються відповідно до стандартів і настанов щодо інтерпретації, встановлених Американським коледжем медичної генетики (ACMG).

Статистична обробка отриманих даних проводилася з використанням програми Microsoft Excel 2007. Застосовувались такі статистичні методи: розрахунок середніх показників, критерій узгодженості $\chi^2$ (хі-квадрат Пірсона), розрахунок чутливості, специфічності й точності методу.

## Результати

Серед 131 дитини, яким було проведено ПЕС, 68 дітей (51,9 %) було спрямовано на генетичне тестування з приводу епілептичних нападів, 31 дитина (23,7 %) — з приводу проявів РАС і 32 дитини (24,4 %) — з приводу неврологічних розладів (рис. 1).

Серед обстеженої методом ПЕС 131 дитини позитивний результат було отримано в 59 пацієнтів (45,0 %), у тому числі серед дітей з епілептичними нападами — у 31 пацієнта (45,6 %), серед дітей з РАС — у 10 пацієнтів (32,3 %), серед дітей з неврологічними розладами — у 18 пацієнтів (56,3 %) (рис. 2). Різниця між групами статистично не значима ($\chi^2$ (2, n = 131) = 3,7; p = 0,15; p > 0,05).

Серед обстежених дітей з РАС виявлено мутації 8 різних генів, серед яких найчастіше зустрічалися гени TRIO та ARID1A, усі інші гени зустрічалися по 1 разу (рис. 3).

Виявлені в дітей з РАС мутації були розподілені таким чином: місенс-мутації — 50 %, мутації типу INDEL (інсерція-делеція) — 30 %, мутації типу stop loss і stop codon — по 10 % (рис. 4). Серед виявлених мутацій 80 % були класифіковані як патогенні, а 20 % — як варіанти невизначеного значення. За типом успадкування 80 % виявлених мутацій були автосомно-домінантними і 20 % — автосомно-рецесивними; 80 % виявлених мутацій були в гетерозиготному стані та 20 % — у гомозиготному.

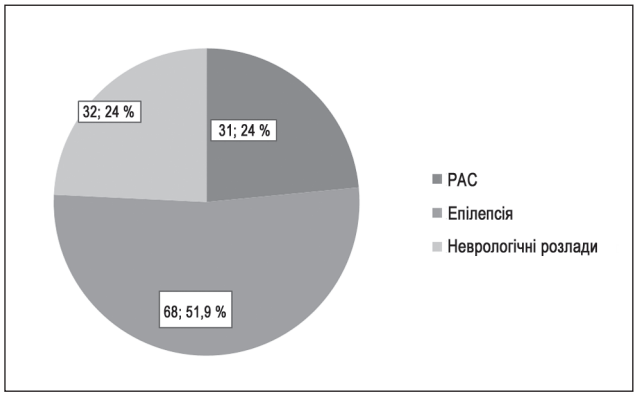



***Рисунок 1. Показання до проведення повноекзомного секвенування в дітей, включених у дослідження***

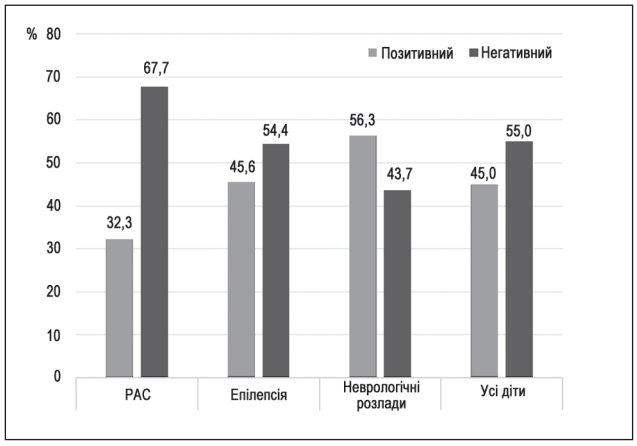



***Рисунок 2. Порівняльна ефективність повноекзомного секвенування в обстежених дітей***

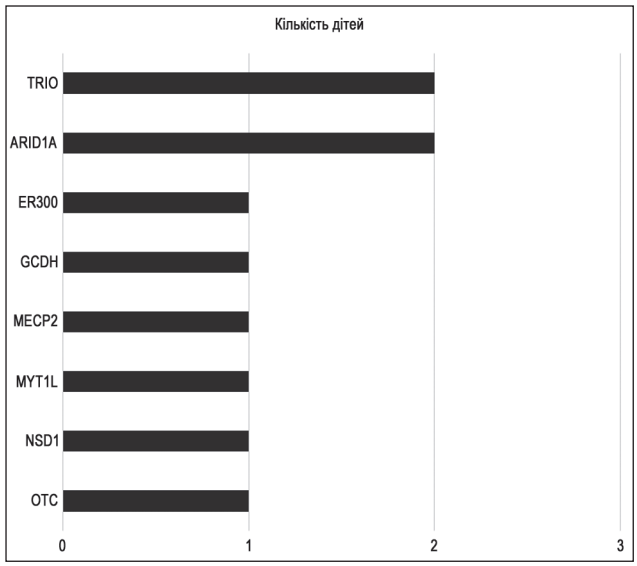



***Рисунок 3. Розподіл дітей з РАС, обстежених методом повноекзомного секвенування, за виявленими мутаціями генів***

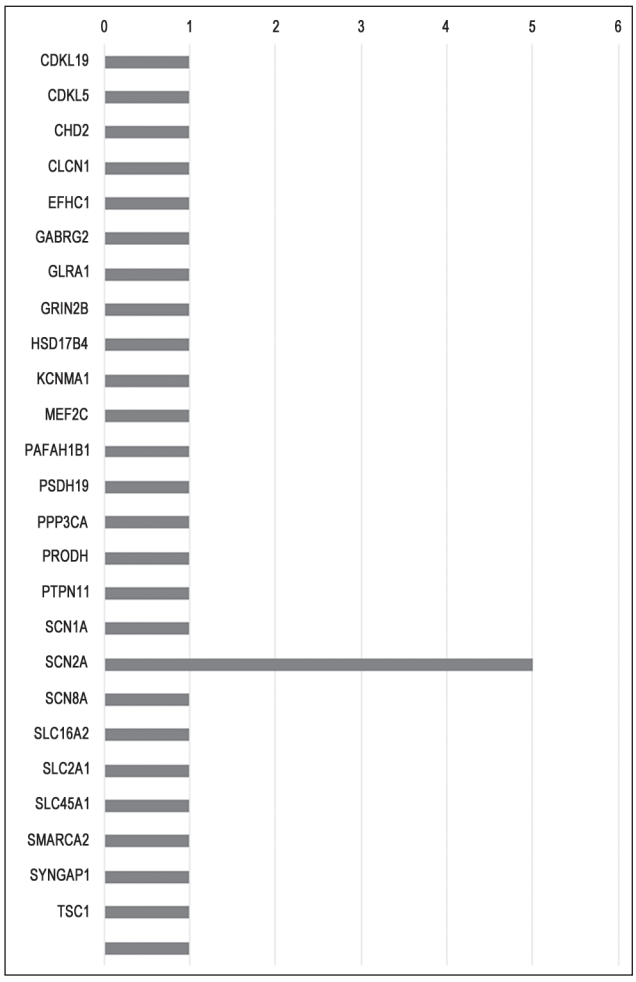



***Рисунок 5. Розподіл дітей з епілептичними нападами, обстежених методом повноекзомного секвенування, за виявленими мутаціями генів***

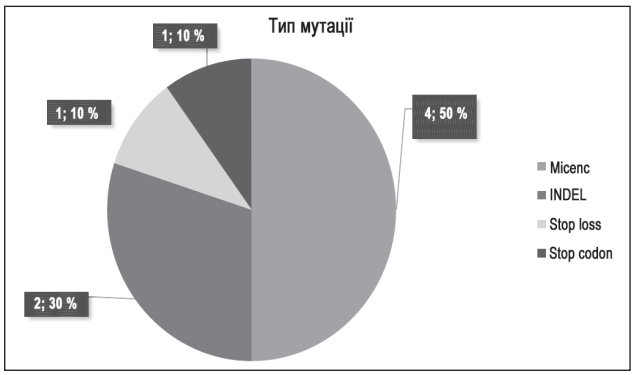



***Рисунок 4. Розподіл мутацій, виявлених у дітей з РАС, за типом***

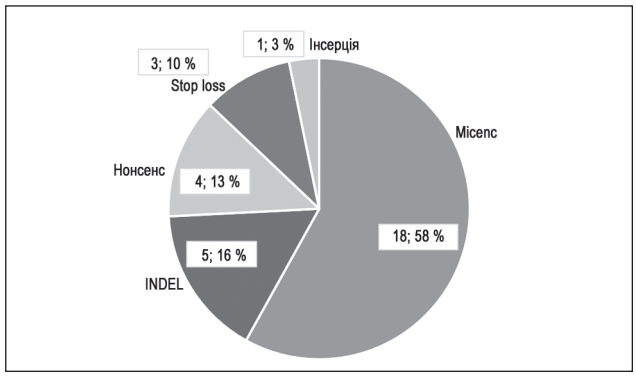



***Рисунок 6. Розподіл мутацій, виявлених у дітей з епілептичними нападами, за типом***

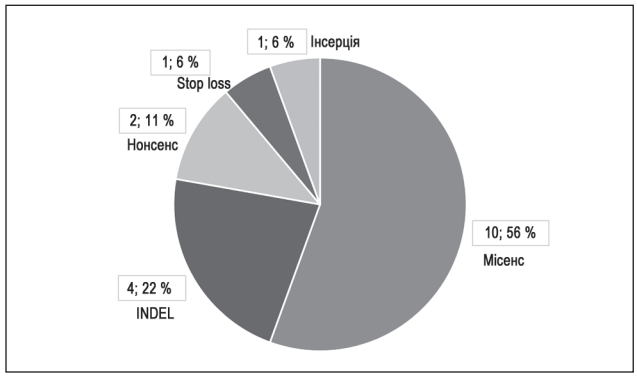



***Рисунок 8. Розподіл мутацій, виявлених у дітей з неврологічними розладами, за типом***

В обстежених дітей з епілептичними нападами виявлено мутації 27 різних генів, серед яких найчастіше зустрічалися мутації гена SCN1A, відповідальні за розвиток спектра SCN1A-асоційованих розладів, у тому числі синдрому Драве, усі інші гени зустрічалися по 1 разу (рис. 5).

Виявлені в дітей з епілептичними нападами мутації були розподілені таким чином: місенс-мутації — 58,0 %; мутації типу INDEL — 16,0 %; мутації типу нонсенс — 13,0 %; stop loss — 10,0 % (рис. 6). Серед виявлених мутацій 77,4 % були класифіковані як патогенні, а 22,6 % — як варіанти невизначеного значення. За типом успадкування 67,7 % виявлених мутацій були автосомно-домінантними, 16,1 % — автосомно-рецесивними, 9,7 % — Х-зчепленими; 67,7 % виявлених мутацій були в гетерозиготному стані, 9,7 % — у гомозиготному, 9,7 % — у гемізиготному стані та 6,5 % — у компаунд-гетерозиготному стані.

Серед обстежених дітей з порушенням нейророзвитку виявлено мутації 17 різних генів, серед яких найчастіше зустрічалися мутації гена NPC1, відповідальні за розвиток хвороби Німана — Піка, усі інші гени зустрічалися по 1 разу (рис. 5), зокрема, було діагностовано такі захворювання, як хвороба Шарко — Марі — Тута (ген NEFL), синдром Альперса (ген POLG) і метахроматична лейкодистрофія (ген ARSA).

Виявлені в дітей з порушеннями нейророзвитку мутації були розподілені таким чином: місенс-мутації — 55,6 %; мутації типу INDEL — 22,0 %; мутації типу нонсенс — 11 %; stop loss — 6 %; інсерції — 6 % (рис. 6). Серед виявлених мутацій 83,3% були класифіковані як патогенні, а 16,7 % — як варіанти невизначеного значення. За типом успадкування 44,4 % виявлених мутацій були автосомно-домінантними, 44,4 % — автосомно-рецесивними, 11,7 % — Х-зчепленими; 38,9 % виявлених мутацій були у гетерозиготному стані, 38,9 % — у компаунд-гетерозиготному стані, 11,1 % — у гомозиготному, 11,1 % — у гемізиготному стані.

Методом ХМА було обстежено 56 дітей, серед яких було 36 (65,3 %) дітей з РАС, 16 (28,6 %) — з епілептичними нападами і 4 (7,1 %) — з неврологічними розладами. Позитивний результат було отримано у 18 дітей (32,1 %), у тому числі серед дітей з епілептичними нападами — у 5 пацієнтів (31,3 %), серед дітей з РАС — в 11 пацієнтів (30,6 %), серед дітей з неврологічними розладами — у 2 пацієнтів (50,0 %) (рис. 9). Різниця між групами статистично не значима ($\chi^2$ (2, n = 56) = 0,6; p = 0,72; p > 0,05).

Виявлені методом ХМА у дітей з РАС мутації були розподілені таким чином: делеції — 81,2 %; дуплікації — 9,1 %; поєднання делеції та дуплікації — 9,1 %. Серед виявлених мутацій 54,5 % були класифіковані як патогенні, а 45,5 % — як варіанти невизначеного значення, при цьому всі виявлені мутації перебували в гетерозиготному стані. Розмір виявлених делецій перебував у діапазоні 0,5–7,7 Mb (середній розмір делеції 2,3 Mb). Виявлені делеції були переважно локалізовані у 2-й і 14-й хромосомах (по 2 дитини), по 1 дитині мали делеції в 6, 15,10, 16, 19 і 22-й хромосомах. В однієї дитини виявлено патогенну дуплікацію сегмента p22.31 у Х-хромосомі.

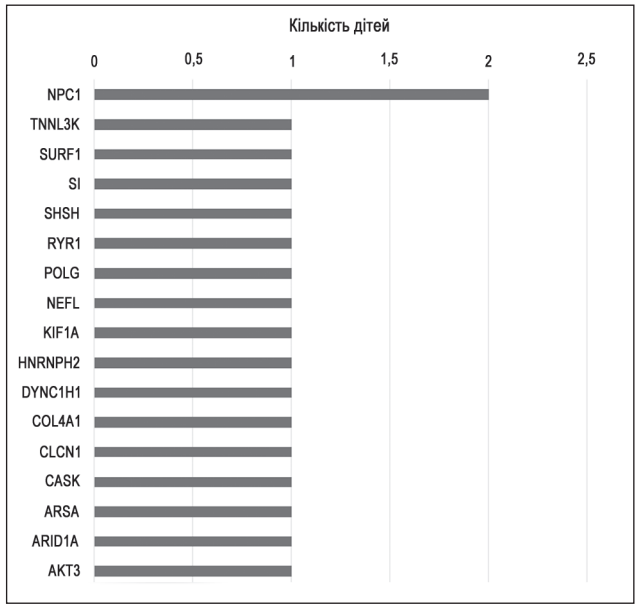



***Рисунок 7. Розподіл дітей з неврологічними розладами, обстежених методом повноекзомного секвенування, за виявленими мутаціями генів***

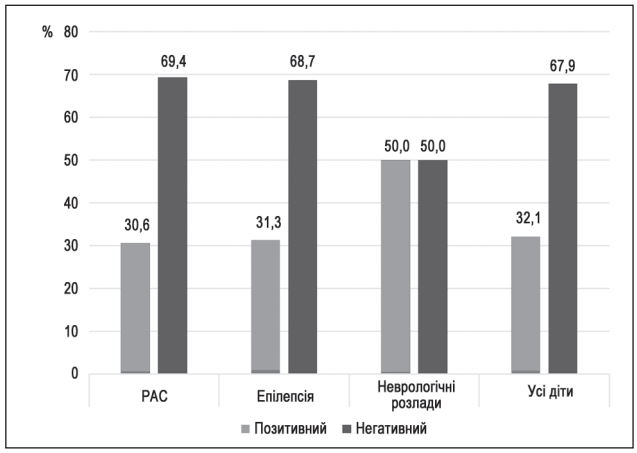



***Рисунок 9. Порівняльна ефективність хромосомного мікроматричного аналізу в обстежених дітей***

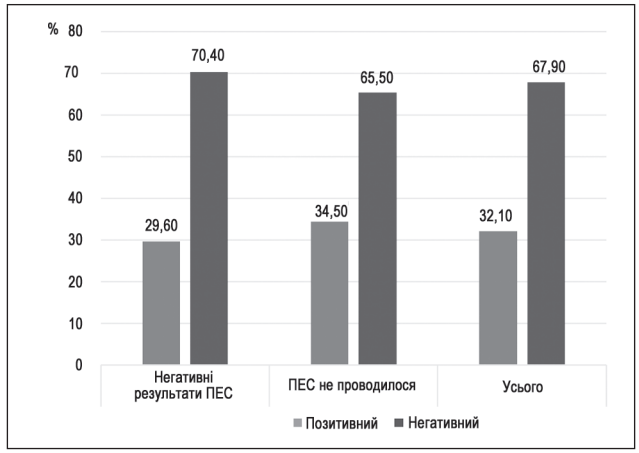



***Рисунок 10. Ефективність ХМА після проведення ПЕС***

У дітей з епілептичними нападами було 3 делеції (60,0 %) і 2 дуплікації (50,0 %). Делеції було виявлено в хромосомах 12, 15 і 16. В однієї дитини було виявлено масивну делецію розміром 6,7 Mb (12q13.11). Слід зазначити, що, незважаючи на значний розмір делеції для методу ХМА, при проведенні каріотипування вона не була би виявлена, оскільки каріотипування не виявляє структурні зміни хромосом розміром менше за 10–15 Mb. Виявлені дуплікації були локалізовані на 15-й і Х-хромосомах. Усього 80,0 % мутацій були інтерпретовані як патогенні, 20,0 % — як варіант невизначеного значення.

Серед обстежених методом ХМА дітей 27 (48,2 %) попередньо були обстежені методом ПЕС і отримали негативний результат. У даній когорті у 8 дітей (29,6 %) було виявлено мутації методом ХМА, натомість серед дітей, у яких ПЕС не проводилося, методом ХМА було виявлено мутації в 10 (34,5 %) (рис. 10). Отже, при проведенні ПЕС було отримано 8 хибнонегативних результатів, що дозволяє розрахувати показники чутливості (88,1 %), специфічності (100,0 %) і точності (93,9 %) даного методу.

## Обговорення

Клінічна і генетична гетерогенність неврологічних розладів становить значний виклик для клініцистів. Сучасні методи генетичної діагностики, такі як повноекзомне секвенування і хромосомний мікроматричний аналіз, показали значну ефективність у діагностиці неврологічних розладів у дітей, включно з нейродегенеративними і нервово-м'язовими захворюваннями, епілепсією та розладами аутистичного спектра. Діагностична цінність ПЕС і ХМА полягає в їх здатності ідентифікувати генетичні мутації, які можуть бути причиною цих станів, що може призвести до більш цілеспрямованих та ефективних стратегій лікування.

Зокрема, метод ПЕС продемонстрував ефективність діагностики приблизно в 33 % дітей з раннім початком епілептичних нападів. У дослідженні, у якому взяли участь 180 дітей, генетичний діагноз був встановлений у 59 пацієнтів, при цьому інформація вплинула на клінічну ефективність лікування в 39 % пацієнтів. Крім того, використання ПЕС на ранніх стадіях діагностичного процесу скоротило час встановлення діагнозу і виявилося економічно ефективнішим, ніж традиційні методи діагностики. Це дослідження підкреслює важливість ПЕС як цінного інструмента ранньої діагностики та подальшої оптимізації лікування дитячої епілепсії [15].

В іншому дослідженні вивчався метод ПЕС у когорті 125 дітей з епілепсією без встановленої етіології. Незважаючи на те, що включеним у дослідження дітям попередньо проводився ХМА (n = 57), дослідження панелі генів, пов'язаних з епілепсією (n = 48), або обидва методи (n = 28), патогенні або ймовірно патогенні варіанти було виявлено в 40 % (50/125) учасників дослідження [16].

Хоча діагностична ефективність ПЕС при РАС загалом нижча порівняно з епілепсією, цей метод також може відігравати вирішальну роль у встановленні діагнозу. У випадках, коли РАС пов'язаний з іншими неврологічними розладами, такими як інтелектуальна недостатність або епілепсія, діагностична ефективність ПЕС може бути вищою. Він дозволяє ідентифікувати рідкісні генетичні варіанти, які неможливо виявити за допомогою інших методів тестування, допомагаючи ідентифікувати етіологію розладу і забезпечуючи персоналізовані терапевтичні підходи.

В одному з досліджень методом ПЕС було обстежено 80 дітей з РАС або підозрою на РАС. Результати показали, що ПЕС дозволило встановити генетичний діагноз у 8,8 % (9,2 % — у групі з РАС і 6,7 % — у групі з підозрою на РАС). Серед пацієнтів з діагностованим РАС та інтелектуальною недостатністю діагностична ефективність ПЕС становила 13,3 %, у дітей з епілептичними нападами — 50,0 %, а у хворих з черепно-лицевими аномаліями — 40,0 %. Усі виявлені в дітей з РАС мутації були варіантами з втратою функції (LOF) і дещо частіше зустрічалися в дівчат (8,5 %), ніж у хлопчиків

(7,3 %). У цьому дослідженні було ідентифіковано мутації 7 генів (CHD8, AFF2, ADNP, POGZ, SHANK3, IL1RAPL1 і PTEN), які можуть бути причиною розвитку РАС [17].

## Висновки

Методи секвенування наступної генерації (ПЕС і ХМА) є ефективними діагностичними інструментами при неврологічних розладах у дітей, у тому числі епілепсіях, прогресуючих нейродегенеративних захворюваннях і розладах аутистичного спектра. Раннє виявлення генетичної етіології неврологічних розладів дозволяє оптимізувати тактику подальшого менеджменту дитини, розробити персоналізовану тактику необхідних діагностичних і лікувальних втручань.

Метод ПЕС є найбільш ефективним при неврологічних захворюваннях (рухові розлади, нейродегенеративні й нервово-м'язові захворювання), тому що дозволив ідентифікувати генетичний діагноз у 56,3 % обстежених дітей, а при епілепсії — у 45,6 % дітей. Імовірно, ПЕС є більш ефективним первинним методом обстеження при РАС (32,3 %) та епілепсії (45,6 %), ніж ХМА (30,6 і 31,3 % відповідно). У цілому метод ПЕС показав більшу ефективність у загальній вибірці дітей (45,0 %) порівняно з ХМА (32,1 %). Розраховано показники чутливості (88,1 %), специфічності (100,0 %) і точності (93,9 %) методу ПЕС при неврологічних розладах у дітей.

Метод ХМА показав більшу ефективність при неврологічних розладах (50,0 %), проте вибірка дітей є надто малою, щоб робити висновки. Ефективність ХМА при епілепсії та РАС є порівнянною (30,6 і 31,3 %). Серед дітей з негативним результатом ПЕС майже в третини (29,6 %) вдалося виявити патогенні варіанти методом ХМА, проте цей показник є порівнянним з частотою виявлення патогенних варіантів у дітей, яким ПЕС не проводився (34,5 %).

Дослідження має обмеження, пов'язані з невеликим розміром досліджуваної вибірки, малою кількістю обстежених дітей у деяких підгрупах. Однак, на думку авторів, подібні дослідження є надзвичайно важливими, бо дозволяють проаналізувати інформацію щодо поширеності патогенних варіантів серед дитячого населення України й оптимізувати показання до проведення генетичних досліджень при різних видах неврологічних розладів.

**Подяка.** Висловлюємо вдячність за особистий внесок у цей дослідницький проєкт лікарям і науковцям: проф. Л.М. Танцурі, О.В. Берегелі, Н.В. Владикиній, М.І. Ніколенко, Н.В. Рокутовій, Н.В Самоненко, Н.О. Смульській, М.В. Філозоп, Т.О. Шклярській, В.О. Чумак, О.О. Юзві.

## References

*1. Grisold W, Freedman M, Gouider R, et al.; Trustees of the World Federation of Neurology. The Intersectoral Global Action Plan (IGAP): A unique opportunity for neurology across the globe. J Neurol Sci. 2023 Jun 15;449:120645. doi: 10.1016/j.jns.2023.120645.*

*2. Hessami K, Norooznezhad AH, Monteiro S, et al. COVID-19 Pandemic and Infant Neurodevelopmental Impairment: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Netw Open. 2022 Oct 3;5(10):e2238941. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.38941.*

*3. Lohmann K, Klein C. Next generation sequencing and the future of genetic diagnosis. Neurotherapeutics. 2014 Oct;11(4):699-707. doi: 10.1007/s13311-014-0288-8.*

*4. Rexach J, Lee H, Martinez-Agosto JA, Németh AH, Fogel BL. Clinical application of next-generation sequencing to the practice of neurology. Lancet Neurol. 2019 May;18(5):492-503. doi: 10.1016/S1474-4422(19)30033-X.*

*5. Salunkhe M, Agarwal A, Faruq M, Srivastava AK. Genetic Testing in Neurology: What Every Neurologist Must Know. Ann Indian Acad Neurol. 2022 May-Jun;25(3):350-353. doi: 10.4103/aian.aian_855_21.*

*6. Botkin JR. Ethical issues in pediatric genetic testing and screening. Curr Opin Pediatr. 2016 Dec;28(6):700-704. doi: 10.1097/MOP.0000000000000418.*

*7. Clark MM, Stark Z, Farnaes L, et al. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases. NPJ Genom Med. 2018 Jul 9;3:16. doi: 10.1038/s41525-018-0053-8.*

*8. Hu P, Zhang Q, Cheng Q, et al. Whole genome sequencing vs chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. Am J Obstet Gynecol. 2023 Sep;229(3):302.e1-302.e18. doi: 10.1016/j.ajog.2023.03.005.*

*9. Biesecker LG, Harrison SM; ClinGen Sequence Variant Interpretation Working Group. The ACMG/AMP reputable source criteria for the interpretation of sequence variants. Genet Med. 2018 Dec;20(12):1687-1688. doi: 10.1038/gim.2018.42.*

*10. Morales A, Hershberger RE. Variants of Uncertain Significance: Should We Revisit How They Are Evaluated and Disclosed? Circ Genom Precis Med. 2018 Jun;11(6):e002169. doi: 10.1161/CIRCGEN.118.002169.*

*11. Kyrylova LG, Miroshnykov OO, Yuzva OO. Epileptic encephalopathies in children with autism spectrum disorders: from molecular genetic diagnostics to targeted therapy. Psychiatry, psychotherapy and clinical psychology. 2021;12(2):249-259. Russian. doi: 10.34883/PI.2021.12.2.006.*

*12. Kyrylova LG, Miroshnykov OO, Badiuk VM, Dolenko OO. Clinical and genetic characteristics of young children with epileptic encephalopathies and their role in the development of autism spectrum disorders. Modern Pediatrics. Ukraine. 2023;(132):34-43. Ukrainian. doi: 10.15574/SP.2023.132.34.*

*13. Kyrylova LG, Miroshnykov OO, Yuzva OO, Badiuk VM, Dolenko OO, Bondarenko YuM. Developmental and epileptic encephalopathies in children: clinical, neurophysiological, neuroimaging and genetic characteristics. Meždunarodnyj nevrologičeskij žurnal. 2024;20(2):84-90. Ukrainian. doi: 10.22141/2224-0713.20.2.2024.1056.*

*14. McKnight D, Morales A, Hatchell KE, et al. Genetic Testing to Inform Epilepsy Treatment Management From an International Study of Clinical Practice. JAMA neurology. 2022;79(12):1267-1276. doi: 10.1001/jamaneurol.2022.365.*

*15. Demos M, Guella I, DeGuzman C, et al. Diagnostic Yield and Treatment Impact of Targeted Exome Sequencing in Early-Onset Epilepsy. Front Neurol. 2019 May 21;10:434. doi: 10.3389/fneur.2019.00434.*

*16. Rochtus A, Olson HE, Smith L, et al. Genetic diagnoses in epilepsy: The impact of dynamic exome analysis in a pediatric cohort.*

*Epilepsia. 2020 Feb;61(2):249-258. doi: 10.1111/epi.16427.*

*17. Du X, Gao X, Liu X, et al. Genetic Diagnostic Evaluation of Trio-Based Whole Exome Sequencing Among Children With Diagnosed or Suspected Autism Spectrum Disorder. Front Genet. 2018 Nov 30;9:594. doi: 10.3389/fgene.2018.00594.*

*Отримано/Received 09.09.2024*
*Рецензовано/Revised 05.11.2024*
*Прийнято до друку/Accepted 25.11.2024*

**Information about authors**

Lyudmyla Kyrylova, MD, DSc, PhD, Head of the Department of Psychoneurology for Children with Perinatal Pathology and Orphan Diseases, State Institution "Ukrainian Center of Maternity and Childhood of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine; e-mail: kirilova.lgr@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-9879-1132

Oleksandr Miroshnikov, PhD in Medicine, Senior Researcher, Leading Research Fellow, Learned Secretary, Department of Psychoneurology for Children with Perinatal Pathology and Orphan Diseases, State Institution "Ukrainian Center of Motherhood and Childhood of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine; e-mail: a.mirosh@ukr.net; phone: +380 (63) 898-02-24; https://orcid.org/0000-0002-7614-6335

V.I. Kharytonov, Clinical Hospital "Psyquiatria", Kyiv, Ukraine

O.O. Dolenko, PhD in Medicine, Director of the Ultragenom Ltd., Kyiv, Ukraine; https://orcid.org/0000-0001-7508-3160

V.M. Badiuk, PhD in Medicine, Acociated Professor, Head Biologist, Ultragenom Ltd., Kyiv, Ukraine; https://orcid.org/0009-0001-8014-3436

S.V. Dyukareva-Bezdenezhnykh, PhD in Medicine, Senior Research Fellow at the Department of Psychoneurology for Children with Perinatal Pathology and Orphan Diseases, State Institution "Ukrainian Center of Maternity and Childhood of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine

**Conflicts of interests.** Authors declare the absence of any conflicts of interests and own financial interest that might be construed to influence the results or interpretation of the manuscript.

*L.H. Kyrylova[1], O.O. Miroshnikov[1], V.I. Kharytonov[2], O.O. Dolenko[3], V.M. Badiuk[3], S.V. Dyukareva-Bezdenezhnykh[1]*
*[1]State Institution "Ukrainian Center of Maternity and Childhood of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine*
*[2]Clinical Hospital "Psyquiatria", Kyiv, Ukraine*
*[3]Ultragenom Ltd, Kyiv, Ukraine*

## Comparative effectiveness of genetic diagnostic methods in children with nervous system disorders in Ukraine

**Abstract.** ***Background.*** In modern society, there is a significant increase in the number of neuropsychiatric disorders among children. Modern methods of genetic testing play an important role in diagnosing diseases of the nervous system and neurodevelopmental disorders. The purpose was to analyze the results of genetic studies in children with various neurological disorders and to evaluate their effectiveness in improving diagnostic approaches. ***Materials and methods.*** One hundred and sixty children aged 0–18 years (average age 6.7 years) were included in the study. Among them, 131 underwent whole-exome sequencing (WES): 68 (51.9 %) with epilepsy, 31 (23.7 %) with autism spectrum disorders (ASD), and 32 (24.4 %) with neurological disorders. Chromosomal microarray (CMA) was performed in 56 children, including 27 children who underwent both WES and CMA. ***Results.*** Among 131 children examined by WES, a positive result was obtained in 59 (45.0 %) cases: 31 patients (45.6 %) with epileptic seizures, 10 children (32.3 %) with ASD, 18 (56.3 %) with neurological disorders. A positive result was obtained by the CMA method in 18 children (32.1 %): 5 (31.3 %) with epilepsy, 11 (30.6 %) with ASD, 2 (50.0 %) with neurological disorders. Among the children examined by CMA, 27 (48.2 %) were previously examined using WES and received a negative result. In this cohort, 8 children (29.6 %) had mutations detected by the CMA method, whereas among children who did not undergo WES, mutations were detected by CMA in 10 cases (34.5 %). ***Conclusions.*** WES is the most effective method in neurological disorders (56.3 %) and epilepsy (45.6 % of children). In general, WES showed greater effectiveness in the total sample of children (45.0 %) compared to CMA (32.1 %). CMA showed higher effectiveness in neurological disorders (50.0 %). Among children with a negative WES result, 29.6 % had pathogenic variants detected by CMA. The research was carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Informed consent for the research was obtained from the patients and their parents. The authors declare no conflict of interest.

**Keywords:** neurodevelopmental disorders; epilepsy; genetic testing; autism spectrum disorders; whole-exome sequencing; chromosomal microarray