

Daiga Bauze

AUTISKĀ SPEKTRA
TRAUCĒJUMU
ĢENĒTISKIE ASPEKTI

Promocijas darbs
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – medicīniskā ģenētika

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. med. Baiba Lāce

Dr. med. profesore Raisa Andrēziņa

Darba zinātniskie konsultanti:

Dr. Arnis Riževs

Dr. med. Zanda Daneberga



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



Promocijas darbs veikts ar ESF projekta
“Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un
zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē” atbalstu,
vienošanās Nr. 2009/0147/1DP/1.1.2.1.2/09/ IPIA/VIAA/009.

Rīga, 2014

ANOTĀCIJA

Autiskā spektra traucējumi (AST) ir plaši izplatīti agrīni bērnu garīgās veselības traucējumi, kuri var būt cēlonis smagai bērna invaliditātei. AST pārmantošanas modelis ir komplekss un sarežģīts, tajā vienlaicīgi var būt iesaistīti gan ārējās vides, gan ģenētiskie faktori.

Veiktajā pētījumā iekļautā AST pacientu grupa nepārstāv visu Latvijas AST populāciju. Tas varētu būt populācijas ierobežojošais faktors, kā rezultātā nav aprēķināti AST prevalences rādītāji, jo nav izveidota reprezentatīva AST paraugkopa, kurā būtu apkopoti visi diagnosticētie AST gadījumi Latvijā. Objektīvi dati par reālo situāciju Latvijā nav pieejami, jo nav veikti AST epidemioloģiskie pētījumi, kā arī nav izveidots vienots reģistrs, kurā būtu iekļauta informācija par visiem diagnosticētajiem AST gadījumiem Latvijā. Situāciju apgrūtina tas, ka iztrūkst vienotas diagnostiskās sistēmas, nav izstrādātas vadlīnijas, pēc kurām varētu veikt objektīvu un starptautiskai praksei atbilstošu AST diagnostiku visā valstī, ne tikai atsevišķos garīgās veselības aprūpes centros. Joprojām Latvijā agrīnā AST diagnostika ir apgrūtināta un novēlota.

Šī pētījuma dati ir unikāli, jo šis ir pirmais AST pētījums Latvijā. Pētījuma dati neatspoguļo informāciju par visiem AST Latvijā, bet ļauj spriest par AST kopējām tendencēm. No pētījuma izslēgti pacienti ar sindromālo autismu, tālākajā procesā analizēti AST pacienti ar nesindromālo jeb idiopātisko autismu. Šajā pētījumā izveidota AST paraugkopa, kurā iekļauta informācija par AST pacientu agrīno fizisko un psihisko attīstību, AST attīstību, ģimenes anamnēzi. Izveidota fenotipu un genotipu raksturojoša datu bāze, analizēti antropometriskie parametri. Pētījumā atrasts, ka AST pacientiem ir palielināts galvas apkārtmērs un svars, salīdzinot ar standartpopulāciju. Dažādas pakāpes garīgās atpalcības biežums ir 80,66%, valodas traucējumu biežums 98,66%, epilepsijas lēkmju biežums ir 5,33%. Epilepsijas lēkmes biežāk novēroja AST pacientiem ar smagu garīgu atpalcību ($p = 0,009$).

Analizēta 11. un 15. hromosomas četru ģenētisko marķieru asociācija ar AST. Atrasta statistiski ticama asociācija AST ar rs11212733 ($p = 0,008$), kurš lokalizēts hromosomas 11q22.3 lokusā starp *DDX10* un *EXPH5* gēniem.

Izvērtēta nemedikamentozās un medikamentozās terapijas izvēle, noteikta medikamentozā terapijā izvēlētajā otrās paaudzes antipsihotiķa risperidona efektivitāte un

biežākās blaknes saistībā ar izvēlēto farmakoģenētisko marķieri. Atklāts, ka *CYP2D*4* un *CYP2D*41* nav informatīvi, jo nav saistīti ar risperidona efektivitāti un blaknēm.

Atbilstoši autosomāli dominantajam pārmantošanas modelim, izvēlēta ģimene ar Asperģera sindromu divās paaudzēs un veikta pilna eksoma sekvenēšana trīs šīs ģimenes locekļiem, lai atrastu iespējamus AST kandidātģenus, kuri varētu būt iesaistīti AST etioloģijā. Veicot atlasīto potenciālo kandidātģenu variantu sekvenēšanu pēc Sangeras metodes, izmantojot modelēšanas metodi, identificēts patogģens *KCNH6* gģena variants, kurš varētu būt iespējamais AST kandidātģens.

Izstrādātas praktiskās rekomendācijas ģimenes ārstiem, pediatriem, bērnu neirologiem un bērnu psihiatriem agrīnai AST diagnostikai.

ANNOTATION

Autism spectrum disorders (ASD) are the common early children's mental health disorder that can be a cause of severe child's disability. The inheritance model of ASD is complex and complicated involving both environmental factors and genetic risk factors.

At the conducted study, the involved group of ADS patients does not represent all Latvian ASD population. It could be the limiting factor of the population due to which ASD prevalence parameters have not been calculated because a representative ASD sample has not been created in which all ASD cases diagnosed in Latvia would be collected. The objective data on the real situation in Latvia are not available because no ASD epidemiologic studies have been performed, as well as no united register has been created containing information on all diagnosed ASD cases in Latvia. The situation is compounded by the lack of the single diagnostic system, as well as because no guidelines have been developed for use of objective ASD diagnostics appropriate for the international practice throughout the country, not only in separate mental health centers. The early ADS diagnostics is still complicated and delayed in Latvia.

These data are unique because it is the first ASD study in Latvia. The study data do not reflect information about all ASD cases in Latvia but they allow judging the general ASD trends. Patients with syndromic autism were excluded from the study and further ASD patients with non-syndromic or idiopathic autism were analyzed. In this study, the ASD sample was created containing information on physical and mental development of the ASD patients, ASD course and family anamnesis. A database describing phenotype and genotype has been formed and anthropometric parameters were analyzed. It is found in the study that the ASD patients have increased head circumference and weight comparing to the standard population. The frequency of mental retardation of different degree is 80.66%, the frequency of language disorders is 98.66% and the frequency of epileptic seizures is 5.33%. Epileptic seizures were more common in the patients with severe mental retardation ($p = 0.009$).

Association between four genetic markers of the chromosome 11th and 15th and ASD was analyzed. A statistically significant association between ASD and SNP rs11212733 ($p = 0.008$) that is localized in the chromosomal locus 11q22.3 between gene *DDX10* and *EXPH5*.

The choice of non-medication and medication therapy was evaluated, efficiency and most common adverse reactions of the second-generation antipsychotics Risperidone were determined in association with the selected pharmacogenetic marker. It is found that *CYP2D*4* and *CYP2D*41* are not informative because they are not associated with the efficiency and adverse reactions of Risperidone.

Accordingly to autosomal dominant inheritance model, a family with Asperger's syndrome in two generations was chosen and complete exome sequencing for three family members was performed to find the possible candidate genes of ASD that might be involved in the ASD etiology. When performing sequencing of the selected potential candidate genes by Sanger's method a pathogenic variant of *KCNH6* gene was identified that might be the possible candidate gene of ASD.

Practical recommendations for family doctors, pediatricians, child neurologists and psychiatrists were created for early ASD diagnostics.

Saturs

1. IEVADS	10
1.1. Darba mērķis	12
1.2. Darba uzdevumi	12
1.3. Darba hipotēze	13
1.4. Zinātniskā novitāte	13
1.5. Darba praktiskā nozīme.....	14
1.6. Darba izstrāde.....	14
1.7. Promocijas darba apjoms un struktūra	14
2. LITERATŪRAS APSKATS	15
2.1. Autiskā spektra traucējumi.....	15
2.1.1. Definīcija un vēsture.....	15
2.1.2. AST klasifikācija	16
2.1.3. Aspergera sindroms	17
2.2. AST prevalence	19
2.3. AST pārmantošanas risks un konkordance	23
2.4. AST etioloģija un patoģenēze	23
2.4.1. Psihosociālie un ģimenes faktori	23
2.4.2. Prenatālie, intranatālie un perinatālie faktori.....	25
2.4.3. Neuroanatomiskie un neirobioķīmiskie faktori	26
2.4.5. Ģenētiskie faktori	29
2.5. AST antropometrija.....	29
2.6. AST molekulārās ģenētikas izpēte	31
2.6.1. Nelīdzsvarotās saistības pētījumi.....	32
2.6.2. Ģenoma asociācijas pētījumi	35
2.6.3. Kandidātgēnu pētījumi	36
2.6.4. Strukturālie varianti un CNV	37
2.6.5. Eksoma sekvenēšana	39
2.7. AST diagnostika.....	41
2.7.1. Galvenās AST pazīmes un simptomi	41
2.7.2. Diagnostiskie instrumenti (diagnostiskās skalas).....	43
2.8. Blakus slimības	43
2.9. AST terapija	47
2.9.1. Nemedikamentozā terapija	47
2.9.2. Medikamentozā terapija	49
2.9.3. AST pamatsimptomu ārstēšana	50
2.9.4. AST farmakoģenētika.....	52
2.10. AST prognoze	53
3. MATERIĀLI UN METODES	54
3.1. Pētāmās grupas.....	55
3.1.1. AST pacienti	55
3.1.1.1. AST pacientu anketa	56
3.1.2. Ģimene ar Aspergera sindromu	59
3.1.3. Kontroles grupa	62
3.2. Metodes	62
3.2.1. Antropometrisko mērījumu veikšana AST pacientiem	62
3.2.2. DNS izdalīšana AST pacientiem un kontroles grupas pārstāvjiem.....	63

3.2.3. AST asociācijas pētījuma SNP izvēle	63
3.2.4. AST asociācijas pētījumam izvēlēto SNP genotipēšana	63
3.2.5. Farmakoģenētiskā marķiera izvēle	65
3.2.6. Farmakoģenētiskā marķiera genotipēšana.....	66
3.2.7. Risperidona terapijas izvērtēšanas kritēriji.....	67
3.2.8. Pilna eksoma sekvenēšana ģimenei ar Asperģera sindromu	68
3.2.9. Eksoma sekvenēšanas datu analīze	68
3.2.9.1. Datu izlīdzināšana	68
3.2.9.2. PCR duplikāciju iezīmēšana	69
3.2.9.3. Inserciju un delēciju vai to kombināciju lokāla izlīdzināšana	69
3.2.9.4. Kvalitātes vērtējuma pārvērtēšana	69
3.2.9.5. SNP identificēšana	69
3.2.9.6. SNP filtrēšana	70
3.2.10. Potenciālo kandidātģēnu atlase.....	70
3.2.11. Kandidātģēnu sekvenēšana un analīze	71
3.3. Datu statistiskā analīze.....	71
4. REZULTĀTI	73
4.1. AST pacientu antropometriskais un klīniskais raksturojums.....	73
4.2. Izvēlēto SNP asociācijas analīze.....	80
4.3. Farmakoģenētiskā marķiera CYP2D6 analīze.....	82
4.4. Eksoma sekvenēšanas analīze ģimenei ar Asperģera sindromu	87
5. DISKUSIJA	94
5.1. AST pacientu antropometriskais un klīniskais raksturojums.....	94
5.2. Izvēlēto SNP asociācijas analīze.....	98
5.3. Farmakoģenētiskā marķiera CYP2D6 analīze.....	100
5.4. Eksoma sekvenēšanas analīze ģimenei ar Asperģera sindromu	103
6. SECINĀJUMI.....	107
7. PUBLIKĀCIJAS UN ZIŅOJUMI PAR PĒTĪJUMA TĒMU	108
7.1. Zinātniskie raksti par pētījuma tēmu.....	108
7.2. Citi zinātniskie raksti.....	108
7.3. Konferenču tēzes par pētījuma tēmu.....	109
7.4. Ziņojumi kongresos un konferencēs	113
8. PATEICĪBAS	114
9. LITERATŪRAS SARAKSTS.....	115
10. PIELIKUMI	138
1. pielikums	138
2. pielikums	143
3. pielikums	144
4. pielikums	149

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

AAK	Augmentatīvā un alternatīvā komunikācija
ADOS	Autisma diagnostikas novērošanas skala (angļu val., <i>Autism Diagnostic Observation Schedule</i>)
AGP	Autisma genoma projekts (angļu val., <i>Autism Genome Project</i>)
AGRE	Autisma ģenētisko resursu apmaiņas programma (angļu val., <i>Autism Genetic Resource Exchange</i>)
ALAT	Alanīnaminotransferāze
AQ	Autiskā spektra traucējumu aptauja bērniem vecumā no četri līdz 11 gadu vecumam (angļu val., <i>Autism Spectrum Quotient</i>)
AS	Asperģera sindroms
ASAT	Aspartātaminotransferāze
AST	Autiskā spektra traucējumi (angļu val., <i>autism spectrum disorders</i>)
AutDB	Autiskā spektra traucējumu datu bāze
CAST	Bērnības Asperģera sindroma tests (angļu val., <i>Childhood Asperger Syndrome Test</i>)
CGH	Salīdzinošās genoma hibridizācijas metode (angļu val., <i>comparative genomic hybridization</i>),
CI	Ticamības intervāls (angļu val., <i>confidence interval</i>)
CNS	Centrālā nervu sistēma
CNV	Kopiju skaita varianti (angļu val., <i>copy number variation</i>)
CPEA	Nacionālā Veselības Institūta Autisma sadarbības programma (angļu val., <i>Collaborative Programs of Excellence in Autism Network at the National Institute of Health</i>)
CYP	Citohromgrupa (angļu val., <i>cytochrome</i>)
DNS	Dezoksiribonukleīnskābe
DSM-IV	Diagnostiskā un statistiskā psihisko traucējumu rokasgrāmata, 4. izdevums (angļu val., <i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition</i>)
DT	Datortomogrāfija
DZ	Dizigotisks
EEG	Elektroencefalogrāfija
EhoKg	Ehokardiogrāfija

EKG	Elektrokardiogrāfija
FISH	Fluoriscentā in situ hibridizācijas metode (angļu val., <i>Fluorescence in Situ Hybridization</i>)
GASS	Gamma aminosviestskābe
GWAS	Visa genoma asociācijas pētījumi (angļu val., <i>genome-wide association study</i>)
IMGSAC	Starptautisks Autisma molekulārās ģenētikas konsorcijs pētījums (angļu val., <i>International Molecular Genetic Study of Autism Consortium</i>)
IQ	Intelekta koeficients (angļu val., <i>Intelligence quotient</i>)
ĶMI	Ķermeņa masas indekss
LOD	Izredžu logaritms (angļu val., <i>logarithm of the odds</i>)
MAF	Retākās alēles biežums (angļu val., <i>minor allele frequency</i>)
MMR	Masalu, cūciņu, masaliņu vakcīna (angļu val. <i>measles, mumps and rubella vaccine</i>)
MRI	Magnētiskās rezonanses izmeklējums
MZ	Monozigotisks
OR	Izredžu attiecība (angļu val., <i>odds ratio</i>)
PCR	Polimerāzes ķēdes reakcija (angļu val., <i>polymerase chain reaction</i>)
PECS	Attēlu apmaiņas komunikācijas sistēma (angļu val., <i>Picture Exchange Communication System</i>)
RNS	Ribonukleīnskābe
SD	Mainīgā lieluma standartnovirze (angļu val., <i>standard deviation</i>)
SNP	Viena nukleotīda polimorfisms (angļu val., <i>single nucleotide polymorphism</i>)
SPKC	Slimību profilakses un kontroles centrs
SSK-10	Pasaules veselības organizācijas Starptautiskā slimību klasifikācija, 10. izdevums
SASI	Serotonīna atpakaļsaistes inhibitori
TEACCH	Autisma apmācības metode (angļu val., <i>Treatment and Education of Autistic and related Communication – handicapped Children</i>),
UDHS	Uzmanības deficīta un hiperaktivitātes sindroms
USG	Ultrasonogrāfija
VSIA BKUS	Valsts Akciju Sabiedrība Bērnu Klīniskā Universitātes slimnīca
ZVA	Zāļu valsts aģentūra
χ^2	Hī kvadrāta tests

1. IEVADS

Viens no biežākajiem agrīnā bērnu psihiatrijā un neiroloģijā konstatētiem attīstības traucējumiem saistīts ar autisko spektru (AST), kuram raksturīgi sociālās mijiedarbības, komunikācijas traucējumi un stereotipiski uzvedības modeļi (SSK-10, DSM-IV). AST sākas līdz trīs gadu vecumam un savlaicīgi nediagnosticēti tie var izraisīt bērnam smagu invalidizāciju.

DSM-IV (Diagnostiskā un statistiskā psihisko traucējumu rokasgrāmata, 4. izdevums) un SSK-10 (Pasaules Veselības organizācijas Starptautiskā slimību klasifikācija, 10. izdevums) slimību klasifikatoros definēti AST diagnostiskie pamatkritēriji un izdalīti pieci apakštipi: bērības autisms, Aspergera sindroms, atipisks autisms, disintegratīvi traucējumi bērnībā, Retta sindroms (DSM-IV, SSK-10). Diagnozes precizēšanai, lai objektīvi izvērtētu pacienta veselības stāvokli, papildus tiek izmantotas standartizētās uzvedības un personības diagnostiskās skalas (*Lord et al.*, 2002).

Pēdējo desmit gadu laikā, uzlabojoties diagnostikām tehnoloģijām, vērojama izteikta AST prevalences palielināšanās. Tās rādītāji pasaulē ir no 35 līdz 60 uz 10000 bērniem (*Tantam and Girgis*, 2008; *Fombonne*, 2008; *Elsabbagh et al.*, 2012). Nav atklātas statistiski ticamas atšķirības starp dažādām etniskām, kultūras un sociālekonomiskām populācijām (*Elsabbagh et al.*, 2012). Agrīnajos pētījumos uzskatīja, ka zēni, salīdzinot ar meitenēm, slimo četras reizes biežāk (1:4), bet pēc pēdējo epidemioloģisko pētījumu datiem konstatēts, ka AST meitenēm diagnosticē jau biežāk (1:3) un tā norise izpaužas smagākā formā nekā zēniem (*Myers and Johnson*, 2007; *Fombonne*, 2008; *Fombonne*, 2009).

AST, salīdzinot ar citiem garīgās veselības traucējumiem, raksturīgs augsts pārmantošanas risks, pēc neseno prospektīvo longitudinālo pētījumu datiem atklāts, ka atkārtotības risks ir 18,7%, ja ģimenē jau ir bērns ar AST (*Chakrabarti and Fombonne*, 2001; *Icasiano*, 2004; *Lauristen et al.*, 2005; *Ozonoff*, 2011).

AST etioloģijā viena no pirmajām teorijām uzskatīja, ka ģimenes un psihosociālie faktori var būt cēlonis traucējumu attīstībai. Šī teorija apstrīdēta, jo AST ir komplekss traucējums, kura etioloģijā vienlaicīgi var būt iesaistīti ārējās vides un ģenētiskie faktori (*Bettelheim*, 1967; *Rutter and Schopler*, 1987; *Courchesne et al.*, 2003; *Gillberg*, 2006; *Gardener et al.*, 2011).

AST ģenētiskā izpētē veikti nelīdzsvarotās saistības, kandidātgēnu, asociāciju pētījumi un eksperimentālie pētījumi ar dzīvnieku modeļiem, kā arī visa genoma asociāciju pētījumi (GWAS), visa genoma CNV (kopiju skaita varianti, angļu val., *copy number variation*) pētījumi (Freitag et al., 2010). Zināms, ka 10–15% gadījumos AST var būt viena no galvenajām agrīnajām monogēno slimību pazīmēm (Folstein and Rosen-Sheidley, 2001). Pieņemts visus AST iedalīt arī pēc etioloģiskajiem faktoriem. Izšķir sindromālos AST, kas populācijā sastopami 15% gadījumā no visiem AST un 85% gadījumos nesindromālie jeb idiopātiskie AST, kuru cēlonis nav zināms (Gillberg and Coleman 1996; Lintas and Persico, 2009). Nākošās paaudzes sekvenēšanas tehnoloģijas nodrošina plašāku cilvēka genoma analīzi. Eksoma sekvenēšana ir ātra un ekonomiska metode, lai atklātu retas *de novo* mutācijas kompleksu slimību gadījumā. Uzskata, ka AST ir sporādisks traucējums un biežākais tā cēlonis ir *de novo* mutācijas (O’Roak et al., 2011).

Pastāv uzskats, ka AST pacientiem raksturīgs fenotips, kas atšķir tos no apkārtējiem indivīdiem. Viens no pētniecības mērķiem ir noskaidrot, vai pastāv ne tikai uzvedības, sociālās komunikācijas, valodas un intelekta atšķirības starp AST un veseliem indivīdiem, bet arī antropometriskās atšķirības (Abrahams and Geschwind, 2008; Miles et al., 2008; Ozgen et al. 2010).

AST gadījumā, pacientiem iespējamas blakus slimības (Gillberg, 2006). 75–80% AST pacientiem ir dažādas pakāpes garīgā atpalcība un 11–39% iespējamas epilepsijas lēkmes (Gillberg, 2006; Tuchman, 2006). 42% bērniem ar garīgu atpalcību ir epilepsijas lēkmes, turpretim AST bērniem bez garīgas atpalcības, epilepsijas lēkmes sastopamas 6–8% (Tuchman et al., 1991). Valodas attīstības traucējumi AST pacientiem var būt saistīti gan ar garīgu atpalcību, gan kā atsevišķs simptoms nesaistīts ar IQ attīstības pakāpi. Bērniem ar specifiskiem valodas attīstības traucējumiem, AST pazīmes var izpausties vieglā vai mērenā formā, vai pat var būt vienīgais AST vadošais simptoms (Gillberg, 2006).

AST ir komplekss traucējums, kuram bieži mēdz būt nopietnas blakus slimības, tādēļ terapijas izvēle ir komplekša. Tās pamatā ir apmācība ar īpašām pedagoģiskām metodēm, lai integrētu bērnu sabiedrībā. Ārstēšanas procesā iesaistīta multidisciplināra komanda, kurā uzsvars pamatā tiek likts uz valodas spēju, komunikāciju un sociālo iemaņu attīstīšanu. Smagos slimības gadījumos pielieto medikamentozo terapiju (Correia et al., 2010). 31% ar AST medikamentozā terapijā lieto antipsihotiskus medikamentus, antidepresantus un garastāvokļa stabilizatorus (Mayers, 2007;

Mandell et al., 2008; *Taylor et al.*, 2009; *Correia et al.*, 2010). Risperidons ir vienīgais otrās paaudzes antipsihotiskais līdzeklis, kura lietošana ir apstiprināta pediatrijas praksē (*Jesner et al.*, 2008; *Mandell et al.*, 2008; *Stahl*, 2008; ZVA, 2011).

Medikamentozās terapijas efektivitātes un blakņu riska mazināšanai nākotnē būtu nepieciešama individualizētā terapija, izmantojot farmakoģenētikas iespējas (*Woodcock and Lesko*, 2009; *Costa e Silva*, 2013). Pirmās un otrās paaudzes antipsihotisko medikamentu metabolizāciju nosaka vairāki P450 marķieri, viens no tiem ir *CYP2D6*, kurš nodrošina antipsihotisko medikamentu metabolizāciju aknās, šī gēna polimorfisms var būt biežākais blakusefektu cēlonis (*Rodriguez-Antona et al.*, 2009; *Correia et al.*, 2010).

Agrīna AST diagnostika ļauj savlaicīgi uzsākt bērna socializēšanu un integrēšanu sabiedrībā, nodrošinot adekvātu nemedikamentozās un medikamentozās terapijas izvēli, tādējādi mazinot bērna invalidizācijas iespēju. Šis ir aktuāls pētījums, jo līdz šim Latvijā nav veikta AST antropometriskā, ģenētiskā un farmakoģenētiskā izpēte.

1.1. Darba mērķis

Atrast nesindromālo autiskā spektra traucējumu attīstības ģenētiskos riska faktorus, izmantojot klīnisko datu, antropometrisko mērījumu un molekulārās ģenētikas datu analīzi, noteikt raksturīgo pacientu fenotipu un izvērtēt medikamentozās terapijas iespējas ar farmakoģenētikas metodi.

1.2. Darba uzdevumi

1. Izveidot labi raksturotu autiskā spektra traucējumu pētījuma paraugkopu un iegūto antropometrisko mērījumu, citoģenētisko, bioķīmisko un molekulāro izmeklējumu informāciju iekļaut speciāli šim pētījumam izveidotā anketā.
2. Analizēt fenotipiskos, antropometriskos parametrus autiskā spektra traucējumu pacientiem un salīdzināt mērījumu rezultātus ar standartpopulāciju, lai noskaidrotu traucējumam raksturīgās atšķirīgās pazīmes.
3. Veikt hromosomu 11q22.3, 11p13, 11p15.4-15.3 un 15q13.3-14 lokusus esošo ģenētisko marķieru izpēti autiskā spektra traucējumu pacientiem un kontroles grupai, lai atrastu asociāciju ar autiskā spektra traucējumiem.
4. Noteikt (CYP) P450 marķiera *CYP2D6* alēļu *CYP2D6*4*, *CYP2D6*41* saistību ar otrās paaudzes antipsihotiskā līdzekļa risperidona efektivitāti un blaknēm.

5. Identificēt ģimeni ar autiskā spektra traucējumiem, kuras ciltskoka dati liecina par monogēnu slimību, un veikt pilnu eksoma sekvenēšanu, lai atrastu potenciālos autiskā spektra traucējumus izraisošos kandidātgēnus.

1.3. Darba hipotēze

1. Autiskā spektra traucējumu pacientiem var būt liels augums, svars, palielināts galvas apkārtmērs un citas fenotipiskās pazīmes, kas raksturīgas šiem traucējumiem kopumā un atšķiras no pārējās populācijas. Izmantojot antropometrisko mērījumu analīzi var izveidot autiskā spektra traucējumiem raksturīgā fenotipa aprakstu.
2. Pēc autiskā spektra traucējumu kandidātgēnu analīzes datiem, nav viena noteicošā hromosomu lokusa, kas iesaistīts traucējumu etioloģijā. Hromosomu 11p13, 11p15.4-15.3, 11q22.3, 15q13.3-14 lokusu polimorfism varētu būt asociēti ar autiskā spektra traucējumiem.
3. Genotipējot P450 marķiera *CYP2D6*4* un *CYP2D6*41* alēles, var noteikt to saistību ar otrās paaudzes psihotropā medikamenta risperidona efektivitāti un blaknēm, tādējādi ļautu izvērtēt individuāli katram AST pacientam pielietotās medikamentozās terapijas efektivitāti un blakņu risku.
4. Autiskā spektra traucējumi ir sporādiski, kura etioloģijā var būt iesaistītas spontānas *de novo* mutācijas un nav saistītas ar noteiktu pārmantošanas tipu. Izmantojot eksoma sekvenēšanu, ir iespējams analizēt lielāku apjomu, lai noteiktu potenciālos autiskā spektra traucējumu izraisošos patogēnos gēnu variantus.

1.4. Zinātniskā novitāte

Promocijas darbā apkopoti dati par AST pacientu izveidoto paraugkopu Latvijā, veikta tās klīniskā un ģenētiskā izvērtēšana. Analizēti fenotipiskie un antropometriskie parametri izveidotajai AST paraugkopai. Šis ir pirmais pētījums Latvijā, kurā veikta nesindromālā AST molekulāri ģenētiskā izpēte. Atrasta statistiski ticama asociācija ar SNP (viena nukleotīda polimorfisms, angļu val., *single nucleotide polymorphism*) rs112112733, kurš lokalizēts starp 11q22.3 hromosomā esošiem gēniem *DDX10* un *EXPH5*, kuri varētu būt iespējamie AST kandidātgēni. Veikta farmakoģenētisko marķieru *CYP2D6*4*, *CYP2D6*41* biežuma analīze AST pacientu grupā. Analizētas medikamentozā terapijā biežāk lietotā otrās paaudzes antipsihotiskā līdzekļa risperidona biežākās blaknes un efektivitāte. Veikta pilna eksoma sekvenēšana ģimenei ar

Aspergera sindromu, kura atbilst autosomāli dominatajam pārmantošanas tipam, atrasts iespējams pontenciālais AST kandidātgēna variants *KCNH6*.

1.5. Darba praktiskā nozīme

Promocijas darba ietvaros, balstoties uz literatūras apskatu, izstrādātas rekomendācijas agrīnai AST diagnostikai bērniem līdz trīs gadu vecumam pediatrijas, bērnu psihiatrijas un bērnu neiroloģijas praksē. Izstrādāts algoritms AST izmeklēšanai gan bērnu psihiatrijas, gan medicīniskās ģenētikas konsultēšanā.

1.6. Darba izstrāde

Pētījumam pacientu atlase veikta Valsts Akciju Sabiedrības Bērnu klīniskā universitātes slimnīcas (VSIA BKUS) Bērnu psihiatrijas un Medicīniskās ģenētikas klīnikās. DNS izdalīšana no pacientu bioloģiskā materiāla un molekulāri ģenētiskā izpēte veikta Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā.

Atļauju veikt pētījumu izsniegusi Rīgas Stradiņa Universitātes Medicīnas ētikas komiteja 14.01.2010.

Promocijas darbs izstrādāts ar ESF līdzfinansēta projekta „Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē”, vienošanās Nr. 2009/0147/1DP/1.1.2.1.2/09/IPIA/VIAA/009, atbalstu.

1.7. Promocijas darba apjoms un struktūra

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā uz 150 lappusēm pēc klasiskas darba struktūras. Darbs strukturēts desmit nodaļās: Ievads; Literatūras apskats; Materiāli un metodes; Rezultāti; Diskusija; Secinājumi; Publikācijas; Pateicības; Literatūras saraksts un Pielikumi. Promocijas darbs satur 20 tabulas, 10 attēlus un 4 pielikumus. Literatūras sarakstā ir 298 autoru un autoru kolektīvu darbi.

2. LITERATŪRAS APSKATS

2.1. Autiskā spektra traucējumi

2.1.1. Definīcija un vēsture

Autiskā spektra traucējumi (AST) ir heterogēni psihomotorās attīstības traucējumi ar agrīnu sākumu līdz trīs gadu vecumam. AST raksturo simptomu triāde, kura ietver sociālās mijiedarbības, komunikācijas traucējumus un stereotipiskus uzvedības modeļus (SSK-10, DSM-IV).

1867. gadā publicēts pirmais apraksts par ļoti mazu bērnu grupu ar smagiem psihiskiem traucējumiem: garīgu atpalcību, tieksmi pēc vientulības un valodas attīstības aizturi (*Kaplan and Sadock's*, 2007).

1911. gadā E. Bleulers, pētot pieaugušos pacientus, pirmo reizi ieviesa terminu šizofrēnija un identificēja četrus „A” pamatsimptomus: ambivalence, afektīvi traucējumi, asociāciju traucējumi un autisms, kas tulkojumā no grieķu valodas „autos”, nozīmē palikšana sevī, jeb uz sevi centrēta domāšana (*Bleuler*, 1911). Jau 1927. gadā izteiktas aizdomas par iespējamu autisma attīstību bērna vecumā. 1937. gadā J. Lutzs aprakstīja „tukšo autismu” kā vienu no pirmajiem raksturīgākajiem simptomiem agrīnai bērnu šizofrēnija (*Lutz*, 1937).

1943. gadā L. Kanners publicēja rakstu “*Autistic Disturbances of Affective Contact*”, kurā pirmo reizi ieviesa terminu infantilais autisms, kas mūsdienās joprojām saglabāties AST klasifikācijā kā bērības autisms (*Kanner*, 1943). L. Kanners aprakstīja „agrīnās bērības psihisko sindromu”. Sindromu raksturoja ar savstarpējās mijiedarbības traucējumiem bērniem ar dažādiem garīgās attīstības līmeņiem. Savā rakstā L. Kanners aprakstīja galvenās pazīmes, kas raksturo AST pacientu uzvedību un attīstību. Tās ir: sociālās mijiedarbības traucējumi (norobežošanās, grūtības izrādīt iniciatīvu), komunikācijas traucējumi (neveido kontaktu ar cilvēku, bet pieķeras priekšmetiem vai nedzīviem objektiem, nespēja veidot acu kontaktu), traucēta valodas attīstība (šaurš vārdu krājums, bieži atkārtotas monotonas skaņas vai frāzes) un uzvedībā (stereotipiskas kustības un manierisms, trauksmaini obsesīvi-kompulsīva rīcība) (*Kanner*, 1943). Savukārt, 1944. gadā H. Aspergers ieviesa terminu „autiskā psihopātija”, kura, atšķirībā no L. Kanner aprakstītā „agrīnās bērības psihiskā sindroma”, raksturojās ar augsti attīstītu intelektu, bet ļoti vājām sociālām un komunikācijas funkcijām (*Asperger*, 1944). Līdz 1980. gadam AST uzskatīja par agrīnu

bērnu šizofrēniju, taču tika pierādīts, ka AST un šizofrēnija ir divas atšķirīgas psihisko traucējumu grupas. Dažos gadījumos, bērnam ar AST, vēlākajā attīstības periodā var pievienoties citi psihiskie traucējumi, tajā skaitā arī šizofrēnija (*Rutter, 1972; Kolvin, 1972; Green et al. 1984*).

Astoņdesmito gadu sākumā piedāvāja jaunu koncepciju par AST grupas izveidi, kurai raksturīga triāde: sociālo, komunikatīvo un iztēles funkciju traucējumi, kas ir kopīgi visiem AST, kā arī ieviesa terminus „Kannera sindroms”, kurš apzīmē „zemu funkcionējošu” autismu un Aspergera sindroms, kurš, savukārt, apzīmēja „augsti funkcionējošu” autismu (*Wing and Gould, 1979; Gillberg 1992*). AST klasifikācijā ir terminoloģiskas problēmas. Līdz pat šim brīdim AST kā termins diagnostiskajos klasifikatoros nav iekļauts, bet ir sastopams termins „pervezīvie attīstības traucējumi”, kuru 1995. gadā ieviesa M. Kampbels un Dž. Šajs (*Cambell and Shay, 1995*). Pēc daudzu zinātnieku domām šis termins tiek nepareizi lietots, jo ne visi AST traucējumi ir pervezīvi (*Wing, 1993; Waterhouse et al., 1996; Wing, 1997; Prior et al., 1998; Gillberg, 2006*). Kopš 1996. gada B. Rimlands un K. Gilbergs s piedāvāja pervezīvo attīstības traucējumu grupu dēvēt par „autiskā spektra traucējumiem”, jo ne visiem, kuriem ir sociālās funkcionēšanas traucējumi, piemīt garīga atpalcība vai citi dziļāki psihiskās attīstības traucējumi, kas uzskatāmi kā pervezīvi. Šobrīd, pēc zinātnieku domām, pervezīvi attīstības traucējumi un AST ir uzskatāmi kā sinonīmi (*Wing, 1996; Gillberg, 2006*).

2.1.2. AST klasifikācija

DSM-IV (Diagnostiskā un statistiskā psihisko traucējumu rokasgrāmata, 4. izdevums) un SSK-10 (Pasaules Veselības organizācijas Starptautiskā slimību klasifikācija, 10. izdevums) slimību klasifikatorā ir atsevišķi izdalīta garīgās veselības traucējumu grupa, kas saucas pervezīvi attīstības traucējumi. Abos klasifikatoros definēti diagnostiskie pamatkritēriji. Vienlaicīgi iekļauti simptomi no klasiskās triādes, respektīvi: smagi savstarpējās sociālās mijiedarbības traucējumi, smagi savstarpējās komunikācijas traucējumi, ieskaitot valodas traucējumus un smagi iztēles un uzvedības traucējumi, kuriem ir jāparādās līdz trīs gadu vecumam. Abos klasifikatoros izdalīti pieci apakštipi:

- 1) klasiskais, jeb bērniņas autisms (izstrādāti speciāli diagnostiskie kritēriji);

- 2) Aspergera sindroms (sociālās un uzvedības traucējumi kritēriji ir tādi paši kā autismam, taču nav izdalīti atsevišķi kritēriji komunikācijas traucējumiem);
- 3) citi disintegratīvi traucējumi bērnībā (tipiska klīniskā aina parādās tikai dažus gadus pēc bērna normālās psihomotorās attīstības);
- 4) atipisks autisms vai nespecifiski pervazīvi attīstības traucējumi (kas nav klasificējami kā bērnības autisms, Aspergera sindroms, vai citi disintegratīvi traucējumi bērnībā);
- 5) Retta sindroms (specifisks AST variants, ģenētiska slimība ar AST raksturīgu simptomātiku un regresu).

Latvijā šobrīd psihisko traucējumu klasifikācijā izmanto SSK-10 slimību klasifikāciju.

DSM-IV klasifikatorā diagnostiskie kritēriji ir gandrīz identiski ar SSK-10 klasifikatoru. Klīniskā pieejamība abiem klasifikatoriem ir vienlīdzīga, taču attiecībā uz izslēgšanas kritērijiem, DSM-IV klasifikatorā tie nav tik strikti noteikti kā SSK-10 klasifikatorā (*Gillberg, 2006*). Plānots, ka 2013. gadā izdos jaunu DSM-V klasifikatoru, kurā būs iekļauti jau esošie AST apakštipi, tajā skaitā arī Aspergera sindroms, taču Retta sindroms tiks izslēgts no šīs grupas, jo tā ir ģenētiska slimība (*Hebebrand and Buitelaar, 2011*). Atšķirības starp DSM-IV un SSK-10 AST traucējumu klasifikācijā saistītas ar starptautiskās komunikācijas un pētnieciskās izpētes sadarbības trūkumiem. Tādēļ Amerikas Psihiatru asociācijas un Pasaules Veselības organizācijas mērķis ir harmonizēt nākošos DSM-V un SSK-11 slimību klasifikācijas, minimizējot vai izslēdzot atšķirības starp abām šīm klasifikācijas sistēmām (*First, 2009*).

2.1.3. Aspergera sindroms

1944. gadā H. Aspergers aprakstīja bērnus ar augsti attīstītu intelektu, bet vājām komunikācijas un sociālo iemaņu prasmēm un ieviesa terminu „autiskā psihopātija” (*Asperger, 1944*). Līdz pat astoņdesmitajiem gadiem šis sindroms netika plaši atzīts. 1981. gadā L. Vinga publicēja rakstu, kurā aprakstīja augsti funkcionējošu AST pacientu grupu ar sociālās un komunikācijas iemaņu traucējumiem un izstrādāja Aspergera sindroma diagnostiskos kritērijus, kā arī ieviesa terminu Aspergera sindroms (*Wing, 1981*). Autore aprakstīja sekojošas grūtības, kas raksturīgas bērniem sākot no divu gadu vecuma:

- 1) nav un neizrāda interesi par apkārtesošiem cilvēkiem;

- 2) iztrūkst kvalitatīvas un kvantitatīvas gugināšanas;
- 3) šaurs un ierobežots interešu loks;
- 4) kavēta runas attīstība un mazs vārdu krājums;
- 5) trūkst iztēle rotaļās vai spēj spēlēties tikai ar vienu vai diviem nemainīgiem spēles elementiem (*Wing, 1981*).

Daudzi autori aprakstīja Aspergera sindroma iespējamās diagnostiskās kritērijas, taču 1991. gadā K. Gillbergs ieviesa sešus Aspergera sindroma pamatsimptomus, kuri iekļauti abās starptautiskajās slimību klasifikācijās diagnostiskajās sistēmās, 1992. gadā SSK-10 un 1994. gadā DSM-IV klasifikatorā. Šie seši diagnostiskie kritēriji ir (*Gillberg, 1992*):

- 1) sociālās funkcionēšanas traucējumi;
- 2) specifiskas intereses;
- 3) nemainīgi ikdienas paradumi;
- 4) runas un valodas īpatnības;
- 5) neverbālās komunikācijas traucējumi;
- 6) motors neveiklums.

Aspergera sindroms AST grupā sastopams biežāk, kā klasiskais, jeb bērniņas autisms (*Gillberg and Gillberg, 1989; Fitzgerald and Corvin, 2001*). 1993. gadā, apkopojot publicēto epidemioloģisko pētījumu datus, konstatēts ka Aspergera sindroma prevalence ir 36 uz 10000 bērniem, savukārt bērniņas autisms pieciem no 10000 bērniem (*Ehler and Gillberg, 1993*). Pēc pēdējo gadu publikācijām, Aspergera sindroma prevalence 2007. gadā Somijā veiktajā pētījumā konstatēta no 1,6 līdz 2,5 uz 1000 bērniem (*Matilla et al., 2007*). Šis sindroms zēniem sastopams trīs reizes biežāk nekā meitenēm.

Aspergera sindroma galvenās pazīmes ietver sociālās mijiedarbības funkcijas traucējumus: pacients neveido acu kontaktu, maz lieto žestus, saskarsmē neizmanto neverbālo komunikāciju, ar grūtībām veido attiecības ar cilvēkiem. Bieži raksturīgas vienvēidīgas, stereotipiskas darbības, rituāli. Pacienti ar Aspergera sindromu ir būtiski svarīgi dienas kārtība un rituāli. Dienas kārtības un režīma maiņa izraisa trauksmi un dusmas līdz pat agresijai. Atšķirībā no citiem AST, šim sindromam raksturīgas augstākas kognitīvās funkcijas līdz pat ļoti augstam intelekta līmenim, kā arī mazāk traucēta vispārējā valodas attīstība (*Gillberg, 1998; Gillberg et al., 2001*).

Aspergera sindroma diagnostika ir apgrūtināta, jo klīniskā aina sākotnēji var būt līdzīga citiem psihiskiem traucējumiem, kuri sākušie agrīnā bērna vecumā. Pirmkārt, tie

jādiferencē no citiem AST grupas traucējumiem. Visos AST gadījumos, bērnam līdz trīs gadu vecumam var būt traucēta sociālā un komunikatīvā sfēra, kā arī parādīties uzvedības traucējumi, taču bērniņas autisma un citu dezintegratīvu traucējumu gadījumā intelekta līmenis būs būtiski pazemināts, 70% gadījumu intelekta koeficients (IQ) var būt zemāks par 50 (*Fitzgerald and Covin, 2001*). Agrīnās bērnu šizofrēnijas gadījumā, negatīvā simptomātika var būt līdzīga Aspergera sindromam. Taču atšķirībā no šī sindroma, agrīnai bērnu šizofrēnijai raksturīgs normāls fizioloģisks bērna attīstības periods un vēlīns slimības sākums, ne agrāk kā pēc piecu gadu vecuma. Šizofrēnijai raksturīgi domāšanas traucējumi, pozitīvā psihopatoloģiskā simptomātika, kas izpaužas kā murgi un halucinācijas, kā arī adaptīvo funkciju pazemināšanās. Sākotnēji šizofrēnijai ir normai atbilstošs IQ līmenis (*Kaplan and Sadock's, 2007*). Šizoīdas personības traucējumiem, kuriem raksturīga vēlme būt vienam, empātijas trūkums, emocionāla atšķirtība, pazemināts jūtīgums, ar laiku var pievienoties specifiskas intereses un paranoīda rakstura tieksmes. Šīs pazīmes raksturīgas arī Aspergera sindroma gadījumā, kā arī abos traucējumu gadījumos var pievienoties depresija vai uzvedības traucējumi (*Wolf, 1998*). Pacienti ar šizotipiskiem traucējumiem raksturīga dīvaina un maģiska domāšana, ekscentriskas fantāzijas un uzvedība, sociālā norobežošanās, paradoksāli spriedumi (SSK-10). Šādi simptomi var būt raksturīgi arī Aspergera sindromam, taču šizofrēnijas un šizotipisko/šizoafektīvo traucējumu gadījumā agrīnā bērna vecumā nav raksturīgi sociālie un komunikācijas traucējumi (*Erlenmeyer-Kimling et al., 2000*). Aspergera sindromam, līdzīgi kā citiem AST var pievienoties blakus slimības. Kā biežāk iespējamās ir: uzmanības deficīta un hiperaktivitātes sindroms (UDHS), obsesīvi-kompulsīvi traucējumi, afektīvi garastāvokļa traucējumi (*Gillberg and Ehlers, 1998; Szatmari, 1998; Gillberg and Billsted, 2000*).

2.2. AST prevalence

Agrīno epidemioloģisko pētījumi dati liecina, ka AST pasaulē sastopams tikai četriem no 10000 bērniem (*Wing et al., 1976*). Savukārt, vēlākos epidemioloģijas pētījumos, izveidojot precīzākus diagnostiskos kritērijus, AST jau konstatēti 10 no 10000 bērniem (*Bryson et al., 1988*). Nesenos 30 epidemioloģiskos pētījumos atklāts, ka prevalence ir vēl augstāka, attiecīgi 21,2 uz 10000 bērniem (*Volkmar and Pauls, 2003*). Šie atšķirīgie prevalences dati varētu būt saistīti ar atšķirībām metodoloģijā un

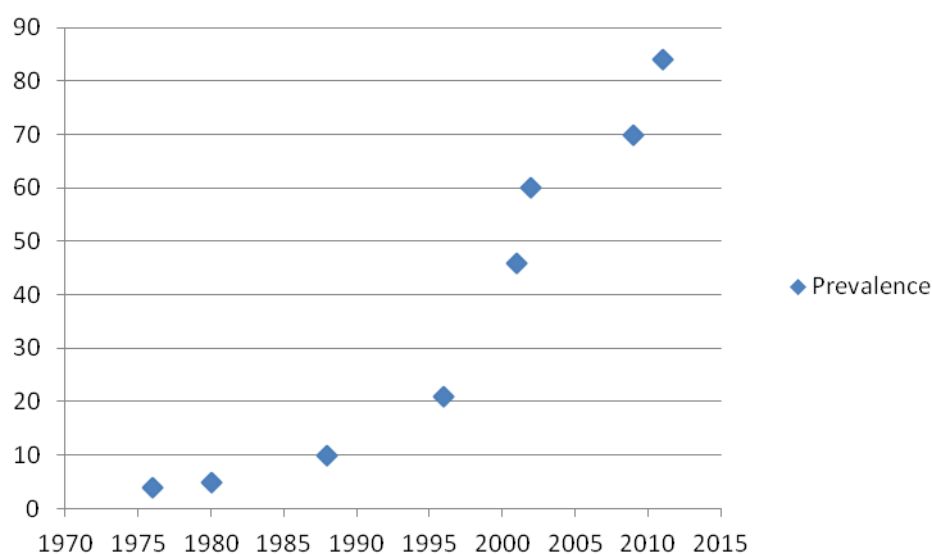
pats svarīgākais, DSM-IV un SSK-10 diagnostisko kritēriju izmaiņām (*Wing and Potter, 2002*).

AST visu apakštipu prevalence ir no 0,5 līdz vienam procentam no vispārējās skolas vecuma populācijas. Salīdzinoši pēc proporcijām, tikai viena trešdaļa no AST ir bērības autisms, lielākā daļa ir Aspergera sindroms un atipisks autisms, savukārt bērības disintegratīvie traucējumi sastopami ļoti reti (*Gillberg, 2006*).

AST prevalence pēc dažādu pētījumu datiem ir variabla, gan vienas populācijas ietvaros, gan starp dažādām populācijām. Pēdējo desmit gadu laikā prevalencei ir tendence palielināties, iespējams, divu iemeslu dēļ: noteikti precīzāki AST diagnostiskie kritēriji un izveidoti speciāli AST diagnostiskie instrumenti, jeb diagnostiskās skalas. Līdz astoņdesmitajiem gadiem AST pazīmes tika uzskatītas par citu psihisko un neiroloģisko slimību izpausmi (*Bryson et al., 1988; Volkmar and Pauls, 2003; Wing and Potter, 2002; Fombonne, 2008*).

Pēc epidemioloģisko pētījumu rezultātiem noskaidrots, ka AST prevalence no 1991. līdz 1997. gadam ir lielāka nekā iedzimtai *spina bifida*, ļaundabīgiem audzējiem vai Dauna sindromam (*Muhle et al., 2004*). Ja līdz 1985. gadam šī traucējumu grupa tika konstatēta diviem līdz pieciem bērniem uz 10000 jaundzimušiem bērniem, tad pēc 2000. gada AST biežums ir jau augstāks 20–60 uz 10000 bērniem (*Lintas and Persico, 2009*). Prevalence Eiropā un Ziemeļamerikā ir 60 uz 10000 bērniem (*Myers et al., 2007*). Vērojams, ka prevalencei ir tendence pieaugt 60–70 uz 10000, jeb 1 no 150 bērniem (*Fombonne, 2009*), Eiropā 35 līdz 60 uz 10000 (*Tantam and Girgis, 2008; Fombonne, 2008; Elsabbagh et al., 2012*) (sk. 2.1.att)

Pētot AST, nav atklātas statistiski ticamas atšķirības starp dažādām etniskām, kultūras un sociālekonomiskām populācijām (*Elsabbagh et al., 2012*). Zēni, salīdzinot ar meitenēm, slimo četras reizes biežāk, bet pēdējo gadu laikā pamanāma tendence, ka arī meitenēm AST jau tiek diagnosticēti biežāk, attiecīgi 1:3, un izpaužas smagākā formā nekā zēniem (*Myers et al., 2007; Fombonne, 2008; Fombonne, 2009*).



2.1.att. **AST prevalences rādītāju izmaiņas uz 10000 bērniem pasaulē pēc publikāciju datiem** (Wing *et al.*, 1976; Bryson *et al.*, 1988; Honda *et al.*, 1996; Fombonne, 2002; Fombonne *et al.*, 2006; Tantam and Girgis, 2008; Fombonne, 2008; Mattila *et al.*, 2011; Elsabbagh *et al.*, 2012)

Latvijā nav precīzu prevalences rādītāju, jo nav veikti plaši AST epidemioloģiskie pētījumi, kā arī nav izstrādātas diagnostikas un ārstēšanas vadlīnijas, nav pilnībā aprobētas diagnostiskās tehnoloģijas visiem AST apakštipiem, tādēļ iespējamās diagnostikas kļūdas. Slimību profilakse un kontroles centra (SPKC) ikgadējā tematiskā ziņojumā, kura reģistrā apkopota informācija par psihiskiem un uzvedības traucējumiem, nav atspoguļoti dati par visiem AST gadījumiem Latvijā. Pieejamā reģistrā apkopotā informācija par trīs gadiem atspoguļota 2.1. tabulā (Polmanis *et al.*, 2011).

AST SPKC reģistrā uzskaitē uzņemto un esošo pacientu skaits (Polmanis *et al.*, 2011)

Skaidrojums	Kods	2009			2010			2011	
		Uzskaitē esošie	Uzskaitē uzņemtie	Uzskaitē esošie	Uzskaitē uzņemtie	Uzskaitē esošie	Uzskaitē uzņemtie	Uzskaitē esošie	Uzskaitē uzņemtie
Pervezīvi attīstības traucējumi (kopā)	F84	350	58	411	52	453	61		
Bērības autisms	F84.0	58	6	68	11	85	14		
Atipisks autisms	F84.1	66	13	86	8	93	10		
Retta sindroms	F84.2	6	1	6	1	6	0		
Citi disintegratīvi traucējumi bērībā	F84.3	3	0	9	5	12	3		
Hiperaktīvi traucējumi, kas saistīti ar psihisku atpalicību un stereotipām kustībām	F84.4	2	0	0	0	0	1		
Aspergera sindroms	F84.5	6	0	8	1	15	2		

2.3. AST pārmantošanas risks un konkordance

AST raksturīgs ļoti augsts pārmantošanas risks. Agrīnos ģimeņu pētījumos konstatēts, ka 3–10% ir AST atkārtotāšanās risks tajās ģimenēs, kurās jau ir bērns ar AST, bet pēc neseno prospektīvo longitudinālo pētījumu datiem atklāts, ka šis atkārtotāšanās risks jau ir 18,7% (*Chakrabarti and Fombonne, 2001; Icasiano, 2004; Lauristen et al., 2005; Ozonoff, 2011*). Ja ģimenē ir divi bērni ar AST, tad atkārtotāšanās risks ir 25%, bet 30% ir risks, ja kādam no pieaugušiem brāļiem vai māsām ģimenē var būt viena vai vairākas AST pazīmes, bet bez apstiprinātas AST diagnozes (*Folstein and Rosen-Sheidley, 2001*).

Agrīnos dvīņu pētījumos monozigotiskiem (MZ) dvīņiem ar AST atklāti augsti konkordances rādītāji (35–95%), salīdzinot ar dizigotiskiem (DZ) dvīņiem (0–23%), līdz ar to jādoma par ģenētisko faktoru nozīmi AST izcelsmē (*Folstein and Rutter, 1977a; Folstein and Rutter, 1977b; Steffenburg et al., 1989; Bailey et al., 1995*). Nesenos dvīņu pētījumos atklāts, ka AST gadījumā vīriešu populācijā konkordances rādītāji starp MZ dvīņiem bija 77%, bet DZ dvīņiem 31%, savukārt sieviešu populācijā attiecīgi MZ dvīņu konkordance bija 50 % un 36% DZ dvīņiem (*Hallmayer et al., 2011*).

2.4. AST etioloģija un patoģenēze

AST etioloģijā un patoģenēzē vēsturiski izvirzītas dažādas teorijas. Viena no pirmajām teorijām uzsvēra psihosociālo un ģimenes faktoru nozīmi AST etioloģijā, taču šobrīd nozīmīgākās ir teorijas, kas uzskata, ka ārējās vides un ģenētisko faktoru savstarpējai mijiedarbībai ir galvenā nozīme AST etioloģijā un patoģenēzē.

2.4.1. Psihosociālie un ģimenes faktori

Vienā no pirmajām teorijām uzskatīja, ka AST attīstībā galvenā loma ir psihosociāliem un ģimenes apstākļiem. Jau 1949. gadā L. Kanners savā rakstā izteica aizdomas, ka autisms, iespējams, attīstās tajās ģimenēs, kurās nav emocionālā siltuma, bet ir emocionāli vēsi vecāki. L. Kanners pievērsa uzmanību tam, ka tēvi bieži neiesaistās rotaļās ar bērniem, apmierina tikai bērnu fiziskās un materiālās vajadzības, tādēļ bērniem, kā psiholoģiskās aizsardzības mehānisms, izveidojās norobežošanās no apkārtējās pasaules, lai justos komfortabli vientulībā (*Kanner, 1949*). Laika gaitā L. Kanners atteicās no šī pieņēmuma, bet viņa izvirzīto hipotēzi turpināja pilnveidot

amerikāņu bērnu psihologs B. Betelheims. 1950. gadā viņš uzskatīja, ka autisms ir emocionāls traucējums, psiholoģiska trauma, kas iegūta agrīnā bērna vecumā, kuru izraisa vecāku, īpaši mātes norobežošanās no bērna audzināšanas, neapzināta emocionāla atsvešināšanās, tādējādi neveicinot drošu piesaisti tālākā bērna attīstībā. B. Betelheims ieviesa terminus „auksti vecāki” un „auksta māte” (*Bettelheim, 1967*). B. Betelheims uzskatīja, ka mātes apātija un nespēja rūpēties par savu bērnu ir iemesls autisma attīstībai. Kopš sešdesmito gadu vidus līdz pat 21. gadsimtam, B. Betelheima izstrādāto teoriju medicīnas aprūpes iestādēs uzskatīja kā galveno AST attīstības etioloģijā.

1964. gadā B. Betelheima izvirzīto hipotēzi apstrīdēja amerikāņu psihologs, B. Rimlands, kura dēlam bija diagnosticēts autisms. B. Rimlands pamatoja, ka autismu izraisa bioloģiskie faktori, traucējuma attīstība nav saistīta ar mātes vai abu vecāku emocionālo vēsumu, bet gan ar neironālo traucējumu attīstību smadzenēs agrīnā bērna vecumā, kas iespējams ir cēlonis autiskai uzvedībai (*Rimland, 1964*).

1987. gadā I. Lovaas uzskatīja, ka autisms ir nopietns psiholoģisks traucējums, kurš sākas agrīnā bērna vecumā. Viņš novēroja, ka bērniem ar autismu ir vāja emocionālā saikne, valodas traucējumi, zems intelekts, rituāli, agresija un autoagresija. I. Lovaas bija pirmais, kurš AST uzsāka ārstēt kompleksi, izmantojot uzvedības terapijas elementus (*Lovaas, 1987*). Ģimeņu salīdzinošos pētījumos, kuros iekļāva ģimenes ar AST pacientiem un ģimenes, kurās bērniem konstatēja dažādus cita veida veselības traucējumus, salīdzinot audzināšanas iemaņas un psihosociālos apstākļus abās grupās, nozīmīgas atšķirības nekonstatēja. Kļūdains ir pieņēmums, ka AST biežāk ir bērniem, kuru vecākiem ir augsts sociālais statuss, kā arī uzskats, ka negatīvas attiecības starp māti un bērnu var būt iemesls AST attīstībai (*Rutter and Schopler, 1987*). Maz ticams, ka psihosociālie faktori paši izraisa AST attīstību, taču tas neizslēdz iespēju, ka bērnam, smadzeņu bojājuma gadījumā, tie var būt kā riska faktors sociālo un komunikācijas traucējumu attīstībā (*Gillberg, 2006*). Laika gaitā ir secināts, ka AST etioloģijas un patoģenēzes pamatā būtiska nozīme ir ārējās vides faktoru mijiedarbībai ar ģenētiskajiem faktoriem, kas jau grūtniecības laikā var izraisīt neuroanatomiskus, neirobioķīmiskus un neirofunkcionālus traucējumus augļa smadzeņu attīstībā un agrīnā bērna attīstības periodā (*Courchesne et al., 2003; Gillberg, 2006; Gardener et al., 2011*).

2.4.2. Prenatālie, intranatālie un perinatālie faktori

Ārējās vides faktori var palielināt AST attīstības risku (*Newschafer et al.*, 2002; *Hallmayer et al.*, 2011). Plašos meta-analīzes pētījumos pētīti vairāk kā 60 AST prenatālie un neonatālie riska faktori (*Gardener et al.*, 2009; *Gardener et al.*, 2011). Veikti meta-analīzes pētījumi, kuru mērķis bija sistematizēt un salīdzināt dažādus epidemioloģiskos pētījumus, lai atrastu saistību pirmsdzemdību komplikāciju riskam ar AST attīstību (*Kolevzon et al.*, 2007; *Gardener et al.*, 2009; *Gardener et al.*, 2011). Meta-analīzes pētījumos, kuros tika iekļauti 64 epidemioloģiskie pētījumi un analizēti vairāk kā 50 prenatālie riska faktori AST attīstībā, konstatēja, ka statistiski ticama saistība ar AST attīstību ir ieilgušām dzemdībām ($p < 0,001$), mazu dzimšanas svaru, mazāku par 2500 g ($p < 0,001$) (*Hultman et al.*, 2002; *Kolevzon et al.*, 2007; *Gardener et al.*, 2011).

Pēc pēdējo pētījumu datiem ir izvirzīta jauna hipotēze par vecāku vecuma saistību ar AST attīstības risku bērnam. Meta-analīzes pētījumā, kurā analizēti četri pētījumi, atklāts, ka AST attīstības risks ir 27%, ja mātes vecums ir lielāks par 30 gadiem ($p = 0,02$) (*Gardener et al.*, 2009). Savukārt, būtisks riska faktors AST attīstībā ir tēva vecums lielāks par 35 gadiem ($p < 0,004$) (*Reichenberg et al.*, 2006; *Kolevzon et al.*, 2007; *Gardener et al.*, 2009). Nesenie AST genoma sekvenēšanas pētījumi ir atklājuši, ka tēva vecums ir saistīts ar palielināto *de novo* mutāciju biežumu (*Kong et al.*, 2012). Šīs mutācijas palielina AST un šizofrēnijas riska attīstību, tādēļ tēva vecums perspektīvē varētu būt kā viens no AST riska faktoriem (*Kong et al.*, 2012).

Kā viens no iespējamiem ārējās vides faktoriem AST attīstībā tiek minēts imunoloģiskais faktors. Gadījuma kontroles pētījumos atklāts, ka mātes pārslimotās infekcijas slimības grūtniecības laikā var izraisīt AST attīstību (*Newschafer et al.*, 2002; *Atladottir et al.*, 2010; *Patterson*, 2011). Kā svarīgākās infekcijas, kurām piemīt lielāks risks izraisīt AST attīstību, pētītas masaliņas (*Chess*, 1977; *Deykin and MacMahon*, 1979; *Libbey et al.*, 2005), citomegalovīrusa infekcija (*Yamashita et al.*, 2003; *Sweeten et al.*, 2004; *Libbey et al.*, 2005). 2010. gadā veikts apjomīgs pētījums Dānijā, kurā analizēta informācija par 10000 AST pacientu mātēm, iegūtie dati apstiprina hipotēzi, ka mātes pārslimotā vīrusu infekcija grūtniecības pirmajā trimestrī ($OR = 2,98$, $95\% CI = 1,29-7,15$) un bakteriālā infekcija otrajā grūtniecības trimestrī ($OR = 1,42$, $95\% CI = 1,08-1,87$) var izraisīt AST attīstību (*Atladottir et al.*, 2010).

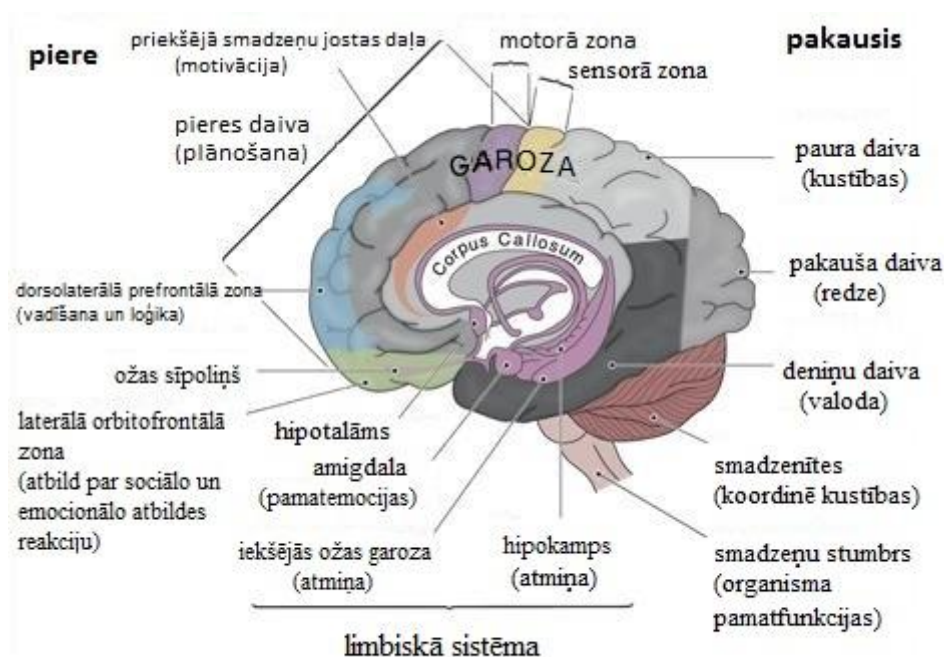
Kā viena no hipotēzēm AST etioloģijā minēta iespējamā agrīnā bērnu vakcinācija ar masalu, cūciņu un masaliņu vakcīnu (MMR), kas satur konservantu tiomersālu un var izraisīt AST attīstību. Šī hipotēze ir apstrīdēta, veicot kohorta pētījumu Kanādā, zinātnieki konstatēja, ka AST sastopams biežāk grupā, kura saņēma vakcīnu bez konservanta tiomersāla (OR = 1,39; 95% CI = 1,01–1,92; $p < 0,05$) (Farrington et al., 2001; Parker, 2004; Fombonne et al., 2006; Richler, 2006).

2.4.3. Neuroanatomiskie un neurobioķīmiskie faktori

Magnētiskās rezonanses izmeklējumu (MRI) pētījumos atklāts, ka AST pacientiem, atšķirībā no veselu indivīdu populācijas, ir izmainīta smadzeņu anatomiskā, neurobioloģiskā un funkcionālā struktūra. Bērniem ar AST pēc divu gadu vecuma palielinās smadzeņu pelēkās un baltās vielas tilpums (Herbert, 2005; Pardo and Eberhart, 2007). MRI pētījumos atklāts, ka smadzenēs pārāk ātri attīstās baltā viela, kā arī neatbilstoši normai attīstījušās pieres, deniņu daivas un limbiskā sistēma, kas iesaistīti AST fenotipā (neadekvāti attīstīta verbālā un neverbālā socioemocionālā komunikācija, stereotipa uzvedība) (Aylward et al., 2002; Pardo and Eberhart, 2007). Bērniem no divu līdz četrus gadu vecumam atklāts, ka smadzeņu izmēra pieaugums biežāk novērojams pieres daivā, smadzenītēs un limbiskajās struktūrās (Courchesne et al., 2003; Courchesne and Pierce, 2005).

Agrīni palielināts smadzeņu tilpums var atspoguļot palielinātu neironu un glijas šūnu skaitu vai priekšlaicīgi paātrinātu sinapšu, aksonu un dendrītu proliferāciju, paātrinātu mielinizāciju, kas var būt pa iemeslu smadzenīšu attīstības traucējumiem, tādējādi izraisot kognitīvos un motoros traucējumus AST pacientiem (Belmonte et al. 2004). Funkcionālo MRI pētījumu rezultāti norāda, ka samazinātās empātijas, sejas ekspresijas, uzmanības piesaiste, sociālās spējas ir saistītas ar pazeminātu spoguļneironu aktivitāti smadzeņu reģionos, kas nodrošina normālu šo funkciju darbību. Biežāk patoloģija novērota smadzenītēs, *corpus callosum*, iegarenās smadzenēs, bazālos ganglijos, deniņu daivā (Herbert 2005; Shultzh, 2005; Carper and Courchesne, 2005; Hazlet et al., 2005, Minshew and Williams, 2007, Levy et al., 2009). Salīdzinot AST pacientus ar veselīgiem indivīdiem atklāja, ka limbiskās sistēmas traucējumi AST pacientiem ir saistīti ar šūnu diferenciācijas traucējumiem, tās ir mazas, bet to skaits ir ļoti liels vienā tilpuma vienībā (Polleux and Lauder, 2004) (sk. 2.2. att).

Pēdējo gadu pētījumi norāda par vienlaicīgi patoloģisku izmēru palielināšanos un neironu skaita samazināšanos amigdalā (*Schumann and Amaral, 2005; Schumann and Amaral, 2006*). 13%–16% AST pacientiem agrīnā bērna vecumā no trīs līdz piecu gadu vecumam ir palielināta amigdala, kas var būt par iemeslu nopietniem sociālas un komunikācijas funkciju traucējumiem, kā arī izraisīt paaugstinātu trauksmes līmeni (*Juranek et al., 2006; Munson et al., 2006*). Samazināts Purkinjē šūnu skaits smadzenītēs varētu būt kā iespējamais iemesls uzmanības, uzbudinājuma un sensorās uztveres traucējumiem (*Kaplan and Sadock's, 2007*) (sk. 2.2. att).



2.2. att. **Smadzeņu struktūras, kuras iesaistītas AST attīstībā**
(<http://www.autisminformationservice.com/specialreport.html>)

Klīniskie, neuroanatomiskie, neirovizuālie pētījumi apstiprina hipotēzi, ka AST ir galvas smadzeņu garozas neironu organizācijas traucējums, kurš rodas sakarā ar izmainītu informācijas apstrādi dažādos centrālās nervu sistēmas (CNS) līmeņos sakarā ar patoloģisku sinaptisko un dendrītisko tīklu izveidi smadzenēs, traucētu sinaptoģenēzi (*Geschwind and Levitt, 2007; Minshew and Williams, 2007; Bourgeron, 2009*). Šajā sakarā, neurotransmisijas sistēma un neirotrofiskie faktori varētu būt iesaistīti AST attīstībā, balstoties uz daudzu patofizoloģisko un ģenētisko pētījumu pierādījumu pamata (*Pardo and Eberhart, 2007; Cusco et al., 2009; Nickl-Jockschat and Michel, 2011*).

Monoamīnu neurotransmiteri serotonīns un dopamīns ir iesaistīti smadzeņu garozas plasticitātes modulēšanā un ir zināms, ka tiem piemīt izšķirošā loma agrīnā smadzeņu garozas attīstībā, regulējot neironu proliferāciju, migrāciju un diferenciāciju (*Vitalis and Parnavelas, 2003*). Serotonīns darbojas caur septiņiem receptoru tipiem (5-HT1–5-HT7) un ir saistīts ar miega regulāciju, garastāvokļa svārstībām, atmiņu traucējumiem, mācīšanās iemaņām, nodrošina muskuļu kontrakciju homeostāzi un endokrīno funkciju regulāciju (*Haavik et al., 2007*). Dopamīns darbojas caur pieciem receptoru tipiem (D1–D5) un modulē vairākas smadzeņu funkcijas, tajā skaitā, atbildes reakciju, motivāciju, atmiņu, uzmanību, problēmu atrisināšanu un tam piemīt noteicošā nozīme patvaļīgu kustību attīstībā (*Haavik et al., 2007*). Dopamīnerģiskās sistēmas traucējumi var būt par cēloni diskinēzijai, distonijai, tikiem, obsesīvi–kompulsīviem traucējumiem un acu kustību traucējumiem (*Herlenius and Lagercrantz, 2004*). Dopamīnerģiskās sistēmas pamatā ir divi galvenie receptori tipi – D1 un D2 receptori. D1 receptori saistīti ar īslaicīgās atmiņas traucējumiem (*Williams and Goldman-Rakic, 1995*).

Šo abu neurotransmiteru metabolisms ir komplekss, tam piemīt audu specifiskums, abu metabolizācijā ir iesaistīti biosintētiskais enzīms DOPA dekarboksilāze (DDC) un katabolie enzīmi monoaminoksidāze A (MAOA) un B (MAOB) (*Toma, 2011*). Pētījumos novērots, ka dopamīnerģiskās un seratonīnerģiskās sistēmas traucējumi ir uzskatāms kā nozīmīgs AST etiopatogēnētiskais faktors, jo novērots, ka trešdaļai AST pacientu asinīs un urīnā ir paaugstināts seratonīna līmenis (*Cook and Leventhal, 1996; Croonenberghs et al., 2000; Burgess et al., 2006*), bet līdz šim publicētos pētījumos perifēriālais dopamīna līmenis atbilst normai (*McDougle et al., 2005*). Ne mazāk svarīgs fakts, kas apstiprina šo neurotransmiteru nozīmi AST etioloģijā ir tas, ka seratonīna atpakaļsaistes inhibitoriem (SASI) un dopamīna receptoru antagonistiem ir liela nozīme AST pacientu agresijas, autoagresijas un kompulsīvas uzvedības mazināšanā (*Nikolov et al., 2006; Tylor et al., 2009*).

Veikti pētījumi, kuros izvirzīta hipotēze, ka seratonīnerģiskās, GASSerģiskās (gamma aminosviestskābes) un glutamīnerģiskās sistēmas bojājums var izraisīt AST attīstību (*Zimmerman et al., 2006*). Šo mediatoru funkcija CNS saistīta ne tikai ar neironu sinaptisko mijiedarbību, bet arī ar smadzeņu nobriešanu un garozas veidošanos. Mediatori un to receptori var darboties kā signālmolekulas nenobriedušās smadzenēs un palīdz kontrolēt neironu migrācijas mehānismu, aktivējot specifiskos GASS un glutamāta receptorus (*Manet and Represa, 2007; Pardo and Eberhart, 2007*).

Neirotransmiteru disfunkcijas dēļ AST pacientiem raksturīga samazināta empātijas spēja, bet labāk attīstītas ir augsta intelektuālo spēju kapacitāte un domāšana (*Kaplan and Sadock's*, 2007).

2.4.5. Ģenētiskie faktori

Apkopojot dažādu laika posmu pētījumu datus, var secināt, ka AST etioloģijas un patoģenēzes pamatā noteicošā loma ir ārējās vides un ģenētiskajiem faktoriem.

Pēdējo desmit gadu laikā, arvien lielāka nozīme tiek pievērsta ģenētiskajiem faktoriem AST etioloģijā, ir pierādīts, ka tie, iespējams, ir vieni no svarīgākajiem faktoriem AST attīstībā.

AST ir multifaktoriāla slimība, kuras attīstībā iesaistīti vienlaicīgi vairāki gēni mijiedarbībā ar ārējās vides faktoriem. Dažos gadījumos AST ir viens no simptomiem monogēnai vai hromosomālai patoloģijai, kā arī iedzimtiem vielmaiņas traucējumiem, kas agrīnā bērna vecumā primāri var manifestēties ar autisku uzvedību, valodas attīstības aizturi vai regresu, garīgu atpalcību, kas klasificējami kā AST (Gillberg, 2006). 10–15% gadījumos AST ir viena no galvenajām agrīnajām monogēnu slimību pazīmēm (*Folstein and Rosen-Sheidley*, 2001). Pieņemts visus zināmos AST iedalīt arī pēc etioloģiskajiem faktoriem. Izšķir sindromālos AST, kas populācijā sastopami 15% gadījumā no visiem AST un kuru cēlonis ir monogēna, hromosomāla un epigēnētiska patoloģija. Nesindromālie jeb idiopātiskie AST, kuru cēlonis ir neskaidrs, nav zināms AST populācijā sastopams 85% gadījumos (Gillberg and Coleman, 1996; Lintas and Persico, 2009). Biežākās monogēnās slimības, kuras izraisa AST ir traušlās X hromosomas sindroms, tuberozā skleroze, 15. hromosomas garā pleca duplikācija, neārstēta fenilketonūrija, neurofibromatoze, Retta sindroms, Eindželmaņa sindroms, Smitas-Magenisas sindroms, Kohena sindroms, adenilsukcinātu liāzes deficīts, Smits-Lemli-Opits sindroms (*Smalley et al.*, 1988; *Muhle et al.*, 2004; *Cohen and Tsiouris*, 2006; *Lintas and Persico*, 2009 *Schaefer and Mendelsohn*, 2013).

2.5. AST antropometrija

Jau 1943. gadā L. Kanners aprakstītajai pacientu grupai novēroja lielāku galvas apkārtmēra izmēru nekā veseliem indivīdiem, un pirmais aprakstīja makrocefāliju kā vienu no bērnības autisma fenotipiskām pazīmēm (*L. Kanners*, 1943). Uzskata, ka AST pacientiem raksturīgs fenotips, kas atšķir tos no apkārtējiem indivīdiem. Kā viens no pētījuma mērķiem bija atrast vai pastāv ne tikai uzvedības, sociālās komunikācijas,

valodas un intelekta atšķirības starp AST un veseliem indivīdiem, bet arī antropometriskas atšķirības. Uzmanība pievērsta dismorfoloģisko pazīmju aprakstam, ķermeņa uzbūvei un citiem antropometriskajiem parametriem (*Miles et al.*, 2008).

Neiroanatomiskajos pētījumos AST indivīdiem biežāk novērots palielināts galvas apkārtmērs un brahicefālija, MRI pētījumos atklāts relatīvi lielāks smadzeņu tilpums (*Miles and Hillman*, 2000; *Folsten and Rosen-Sheidley*, 2001; *Courchesne et al.*, 2003, *Sacco et al.*, 2007). Pētot galvas apkārtmēra izmaiņas AST apakšgrupās, konstatēja galvas apkārtmēra palielināšanos pirmajā dzīves gadā un AST pievienošanās tālākā bērna attīstībā periodā, kā rezultātā šī pazīme varētu būt viena no perspektīvākajiem kvantitatīvajiem rādītājiem (*Miles and Hillman*, 2000; *Courchesne et al.* 2003; *Sacco et al.*, 2007). Pētījumu rezultātā atklāts, ka AST pacientiem makrocefālija nav konstatēta uzreiz pēc dzimšanas. Novērots, ka pacientiem ar AST pēc dzimšanas ir samazināts galvas apkārtmērs, bet vienu līdz divu mēnešu vecumā, kā arī sešu līdz 14 mēnešu vecumā vērojams pārāk ātrs galvas apkārtmēra pieaugums, pāātrināta galvas augšana (*Courchesne and Pierce*, 2005). Galvas apkārtmērs un smadzeņu tilpums palielinās pirmajos dzīves gados pirms AST klīnisko simptomu izpausmes (*Courchesne et al.*, 2003). Pēc dzimšanas galvas apkārtmērs ir normāls, bet apmēram 12 mēnešu vecumā ir palielināts. Smadzeņu apjoms turpina pieaugt divu līdz piecu gadu vecumam līdz apstājas un sasniedz normālu izmēru un tilpumu (*Aylward et al.*, 2002).

Ne mazāk svarīgas AST izvērtēšanā ir citas morfoloģiskās izmaiņas, tādēļ uzmanība pievērsta mazo anomāliju izpētei AST indivīdiem (*Ozgen et al.*, 2011). Mazās anomālijas tiek definētas kā vieglas morfoloģiskas izmaiņas, kurām nav nopietnas medicīniskas vai kosmētiskas nozīmes pašam indivīdam, taču ir būtiska nozīme klīniskā praksē, jo tās var izmantot kā iespējamo slimību vai traucējumu indikatorus (*Aase*, 1990; *McGrath et al.*, 2002, *Merks et al.*, 2003). Tās var būt kā neiropsiholoģiskās attīstības ārējie indikatori, jo pastāv cieša saite starp smadzeņu un kraniofaciālo attīstību (*Hammond et al.*, 2008). Morfoloģisko pazīmju topogrāfija varētu palīdzēt AST diagnostikas procesā, jo atspoguļo negatīvos notikumus grūtniecības pirmajā un otrajā trimestrī (*Lane et al.*, 1997). Mazās anomālijas populācijā kopumā sastopamas 4% gadījumā (*Ozgen et al.*, 2011).

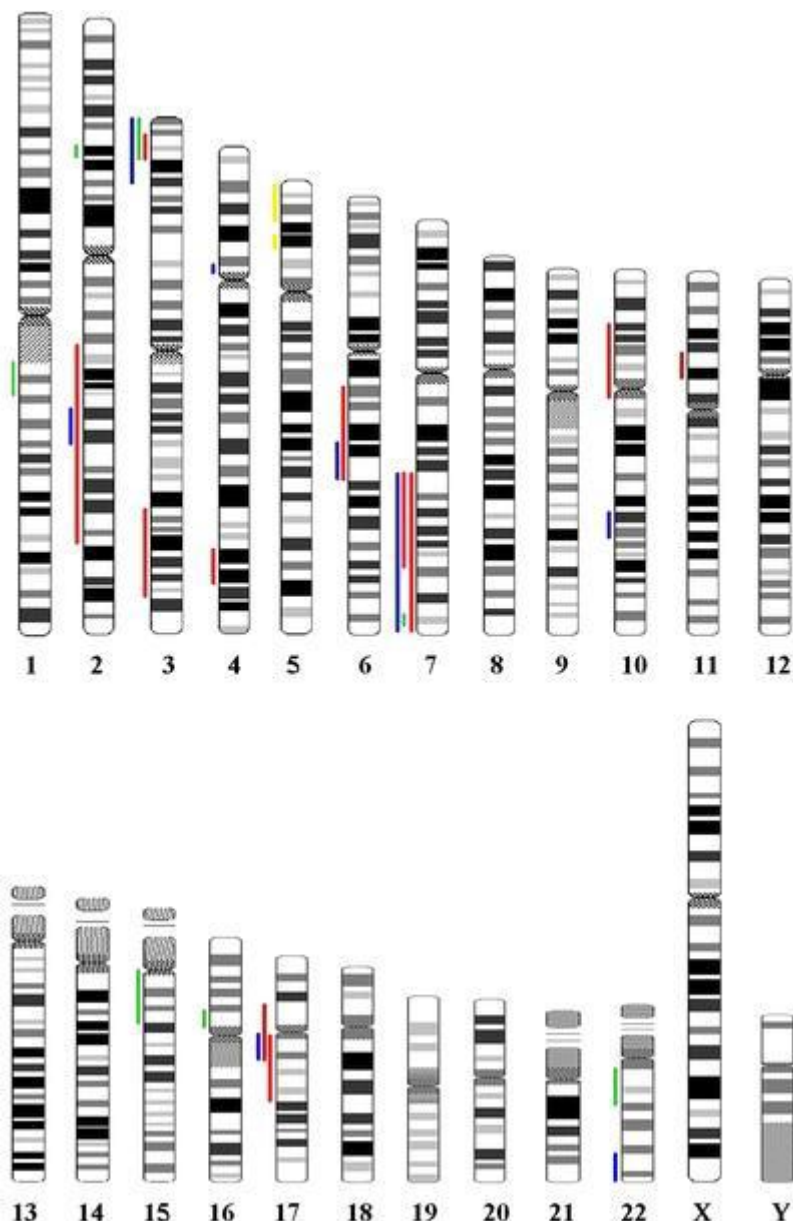
Starptautiskā klasifikācijā iekļautas 683 morfoloģiskās pazīmes (*Merks et al.*, 2003). Nīderlandē veikts viens no pēdējā laikā lielākajiem morfoloģisko pazīmju gadījuma kontroles pētījumiem, kurā iekļāva 421 pacientu ar AST bez garīgas

atpalcības un ģenētiskas patoloģijas un 1007 veselus kontroles grupas indivīdus. Šajā pētījumā iekļāva tikai eiropiešu izcelsmes pārstāvjus. Pētījuma rezultātā atklāts, ka statistiski nozīmīgākās atšķirības starp AST pacientiem un kontroles grupu atrastas ķermeņa masas indeksa (KMI), ķermeņa svara, galvas apkārtmēra, attāluma starp iekšējiem un ārējiem acu kaktiņiem mērījumos ($p < 0,05$), taču netika atrastas atšķirības auguma garuma, rokas vidējā pirksta garuma, plaukstas garuma, rokas un kājas garuma izmēros (Ozgen et al., 2011).

Šajā pētījumā iegūtie dati apstiprināja jau iepriekšējos gados veiktajos pētījumos un meta-analīzē iegūtos rezultātus, ka mazās anomālijas sastopamas biežāk AST pacientu grupā nekā veselu indivīdu grupā (Steg and Rapoport, 1975; Walker, 1977; Cambell et al., 1978; Gualtieri et al., 1982; Rodier et al., 1997; Hardan et al., 2006; Miles et al., 2008; Ozgen et al., 2010). Tādēļ mazās anomālijas AST gadījumā varētu būt kā ģenētiskā traucējuma viena no klīniskajām pazīmēm (Miles and Hilleman, 2000; Miles et al., 2005; Ozgen et al., 2011). Daudzos gadījuma kontroles asociāciju pētījumos, kā arī meta – analīzes pētījumos atrasta mazo anomāliju saistība ar AST grupas indivīdiem, salīdzinot ar veselām kontroles grupas pārstāvjiem. Nepieciešams turpināt pētījumus, lai atrastu tieši AST specifiskas, prognostiski nozīmīgas morfoloģiskās pazīmes (Smalley et al., 1988; Miles et al., 2005; Ozgen et al., 2010; Ozgen et al., 2011).

2.6. AST molekulārās ģenētikas izpēte

AST molekulārā izpētē pielietotas daudzas dažādas eksperimentālās metodes, lai atrastu gēnus, kas saistīti ar AST, tajā skaitā, agrīnie nelīdzsvarotās saistības, kandidātģēnu, asociāciju pētījumi un eksperimentālie pētījumi ar dzīvnieku modeļiem, kā arī vēlākajā periodā visa genoma asociāciju pētījumi, plaši genoma CNV pētījumi. Uzskata, ka apmēram 20% AST var būt atrasts ģenētiskais cēlonis (Vorstman et al., 2013). AST izpētes rezultāti ir apkopoti autisma datubāzē AutDB (AutDB, 2011), kurā atspoguļoti uz pierādījumiem balstīti rezultāti par AST ģenētisko atradni. AST nelīdzsvarotās saistības, asociāciju, CNV un kandidātģēnu pētījumu rezultāti attēloti 2.3. attēlā.



2.3.att. AST nelīdzsvarotās saistības, asociāciju, CNV un kandidātģēnu pētījumos atrasto lokusu pārskats (Freitag *et al.*, 2010)

Sarkanā krāsā – nelīdzsvarotās saistības pētījumi
 Dzeltenā krāsā – GWAS pētījumi
 Zaļā krāsā – CNV pētījumi
 Zilā krāsā – kandidātģēnu pētījumi

2.6.1. Nelīdzsvarotās saistības pētījumi

Pirmais nelīdzsvarotās saistības pētījums publicēts 1998. gadā, kurā analizētas 178 ģimenes un atklāta nozīmīga AST saistība ar 7q22-q31 lokusu ($\text{LOD} = 3,55$; $p = 0,00057$) (IMGSAC, 1998). 2006. gadā veiktajā meta-analīzē apstiprināts, ka 7q22-32 lokuss ir saistīts ar AST (Trikalinos *et al.*, 2006). 7q22 lokuss, kurā atrodas gēns *AUTS1*, ir biežāk identificētais un vairāk pētītais hromosomālais reģions. Šajā pētījumā

bija iekļauti deviņu multicentru pētījumu dati, kuros pētāmo populāciju veidoja AST pacienti un viņu vecāki, katrā no šiem pētījumiem analizēti aptuveni 400 SNP. Rezultāti atklāja nozīmīgu saistību ar 7q22-q23 reģionu ($p = 10^{-5}$) (Trikalinos *et al.*, 2006).

2007. gadā veikts lielākais nelīdzsvarotās saistības pētījums Autisma Genoma Projekta Konsorcijs (AGP) ietvaros, kurā analizēti 10112 SNP 1181 AST ģimenēm. Atklāja, ka hromosomu 11p12-13 ($p = 0,008$), 9p24 ($p = 0,0007$), 9q33.3 ($p = 0,0005$) lokusi ir saistīti ar AST (Szatmari *et al.*, 2007).

Publicēti dati par vairāk kā 158 reģioniem, kuri saistīti ar AST (Xu *et al.*, 2012). Vismaz divos neatkarīgos pētījumos tika atrasta saistība AST ar ģenētiskajiem lokusiem 2q21-33, 3q25-27, 3p25, 4q32, 6q14-21, 7q22, 7q31-26, 11p12-13, 17q11-21 (Freitag *et al.*, 2010). Svarīgākie AST nelīdzsvarotās saistības pētījumos atklātie lokusi, kuru $LOD > 3$ (izredžu logaritms, angļu val., *logarithm of odds*) ir apkopoti 2.2. tabulā (Abrahams and Geshwind, 2008).

2.2. tabula

Svarīgākie AST nelīdzsvarotās saistības pētījumos atklātie ģenētiskie lokusi

Lokus	Fenotips	Kohorta pētījums (ģimeņu skaits)	Svarīgākie marķieri	Atsauces
1q21-q23	AST	Somija (n = 12)	D1S653	Auranen <i>et al.</i> , 2002
	AS	Somija (n = 46)	D1S848	Ylisauko-oja <i>et al.</i> , 2004
2q24-q31	AST	IMGSAC (n = 83)	D2S2188	IMGSAC, 2001
	AST	ASV (n = 115)	D2S364	Buxbaum <i>et al.</i> , 2001
3q25-27	AST	Somija (n = 38)	D3S3037	Auranen <i>et al.</i> , 2002
	AST	ASV (n = 24)	rs1402229	Coon <i>et al.</i> , 2005
5p13-p14	AST	AGP (n = 1181)	S1968011	Szatmari <i>et al.</i> , 2007
	AST	AGRE (n = 110)	D5S2494	Liu <i>et al.</i> , 2001
	AST	AGRE (n = 110)	D5S1473	Yonan <i>et al.</i> , 2003

Lokus	Fenotips	Kohorta pētījums (ģimeņu skaits)	Svarīgākie markieri	Atsauces
7q22-q31	AST	IMGSAC (n = 178)	D7S477	IMGSAC, 1998
	AST	IMGSAC (n = 170)	D7S477	IMGSAC, 2001
7q34-36	Pirmā vārda vecums	AGRE (n = 152)	D7S1824 un D7S3058	Alarcon et al., 2002
	Pirmā vārda vecums	AGRE (n = 291)	D7S2426	Alarcon et al. 2005
9q33-q34	Pirmā vārda vecums	CPEA (n = 222)	S9S164	Schellenberg et al. 2006
	AST	AGP (n = 1181)	rs536861	Szatmari et al., 2007
11p12-13	AST	AGP (n = 1181)	rs1358054	Szatmari et al. 2007
	SRS score	AGRE (n = 100)	ATA34E08	Duvall et al., 2007
17q11-21	AST	AGRE (n = 257)	D17S1294	Stone et al., 2004
	AST	AGRE (n = 345)	D17S2180	Cantor et al. 2005
	AST	AGRE (n = 110)	D17S1800	Yonan et al. 2003

AST – autiskā spektra traucējumi

AS – Aspergera sindroms

IMGSAC – Starptautisks Autisma molekulārās ģenētikas konsorcijs pētījums

AGRE – Autisma ģenētisko resursu apmaiņas programma

CPEA – Nacionālā Veselības Institūta Autisma sadarbības programma

AGP – Autisma genoma projekts

SRS score – sociālās reakcijas skala

Pirmā vārda vecums – bērna vecums, kurā pateikts pirmais, skaidrais vārds

Pētāmais materiāls bija iekļauts gan nelīdzsvarotās saistības, gan asociāciju pētījumos un vairumā no šiem pētījumiem augstākās nelīdzsvarotās saistības vērtības savstarpēji nepārklājas, tas nozīmē, ka nelīdzsvarotās saistības pētījumos atklātās augstākās vērtības satur retas alēles, ar augstu penetrances risku, bet plaša genoma asociāciju pētījumos tiek atklāti biežākie alēļu varianti ar zemāku penetrances risku. SNP analīzes dati, kas pielietoti asociāciju pētījumos, būtu jāizmanto nelīdzsvarotās saistības pētījumos, analizējot homozigotisko alēļu un haplotipu biežumu ģimenēs (Szatmari et al., 2007).

2.6.2. Genoma asociācijas pētījumi

Visa genoma asociācijas pētījumos (GWAS) ir atklāts, ka AST attīstībā, iespējams, iesaistītas vienlaicīgi vairāku gēnu mutācijas. Līdz šim veiktajos četros visa genoma asociāciju pētījumos ir atklāta saistība ar AST.

K. Vangs ar kolēģiem 2009. gadā veica GWAS kohorta pētījumu, kurā iekļauti 3101 indivīdi ar AST un vairāk kā 10000 eiropiešu izcelsmes kontroles grupas pārstāvji, atklāja, ka SNP rs4307059, kurš lokalizēts 5p14.1 lokusā ir statistiski nozīmīgā saistībā ar AST ($p = 2.1 \times 10^{-10}$) (Wang *et al.*, 2009). Šis SNP ir lokalizēts starp *CDH9* (kadtherīna 9) un *CDH10* (kadtherīna 10) gēniem, kuri abi kodē neironu šūnu molekulāro adhēziju. T. Kerins ar kolēģiem savā pētījumā identificējuši funkcionāli nekodējošu ribonukleāzes (RNS) *MSNP1AS* (moesīna pseidogēns1, antisense) gēnu, kura transkripcija noris 15p14.1 lokusā (Kerin *et al.*, 2012). Tas 94% ir identisks ar X hromosomas *MSN* (moesīna) gēnu, kurš kodē olbaltumu moesīnu, kas regulē neironu arhitektūru. AST pacienti, kuriem konstatēta SNP rs4307059 retākā alēle, patoloģiskās anatomijas preparātā novēroja daivas garozas paraugā pastiprinātu *MSNP1AS* un *MSN* gēnu ekspresiju. Tādējādi pierādīts, ka *MSNP1AS* nekodējošais RNS saistās ar *MSN* un regulē moesīna proteīna līmeni cilvēka šūnu līnijā. Pastiprinātas *MSNP1AS* ($p = 0,0004$) un *MSN* ($p = 0,002$) gēnu ekspresijas gadījumā tiek samazināts endogēnā moesīna proteīna līmenis AST pacientiem, atšķirībā no kontroles grupas pārstāvjiem, kuriem šīs izmaiņas netika konstatētas. Moesīna proteīns nodrošina aksonu un dendrītu attīstību smadzeņu šūnās, tā samazinātā produkcija ir iespējamais AST attīstības riska faktors (Kerin *et al.*, 2012).

L. A. Weiss ar kolēģiem 2009. gadā ziņoja par plaša genoma asociācijas pētījuma rezultātiem, kurā iekļāva 1553 AST pacientus un 1494 kontroles pārstāvjus. Šajā pētījumā analizēti vairāk kā 500 000 SNP. Viņi identificēja, ka hromosomu lokusi 6q27 (LOD = 2,94) un 20p13 (LOD = 3,81) ir saistīt ar AST. Genotipējot tika atrasts, ka 5p15 hromosomas SNP rs10513025, kurš lokalizēts starp *SEMA5A* un *TAS2R1* gēniem, ir statistiski ticami saistīts ar AST ($p = 2 \times 10^{-7}$) (Weiss *et al.*, 2008).

Autisma genoma projekts (AGP), kurā 15558 ģimenēm ar AST no Ziemeļamerikas un Eiropas pētniecības centriem, tika veikta visa genoma analīze, genotipējot vienu miljonu SNP, atklāja, ka statistiski nozīmīga saistība ar AST ir 20p12.1 lokusā esošā gēna *MACROD2* variantam rs4141463 ($p = 5 \times 10^{-8}$) eiropiešu

izcelsmes populācijā (Anney *et al.*, 2010). 2012. gadā tika veikts AGP plaša genoma saistības pētījuma 2. etaps, kurā iekļāva 2705 ģimenes ar AST, šajā pētījumā atklāja, ka eiropiešu izcelsmes populācijā, indivīdiem ar augstu intelekta līmeni, statistiski ticama saistība ar AST ir SNP rs1718101 ($p = 7,8 \times 10^{-9}$), kurš lokalizēts 7q35 *CNTNAP2* gēnā (Anney *et al.*, 2011).

Aprakstītie GWAS pētījumi nedublējas ar iegūtajiem rezultātiem. Tas nozīmē, ka biežākās gēnu variācijas kā AST riska faktors ir mazāks par pieciem procentiem (Connolly *et al.*, 2012). Iespējams AST kompleksā ģenētiskā heterogenitāte apgrūtina visa genoma saistības pētījumus (Connolly *et al.*, 2012). 2012. gadā, J. J. Konolli ar kolēģiem veiktajā pētījumā izvirzīja mērķi samazināt šīs heterogenitātes ietekmi analizējot AST endofenotipus. Šajā pētījumā 2165 indivīdiem ar AST analizēta asociācija starp ģenētiskajiem lokusiem un AST specifiskiem endofenotipiem. AST endofenotipu klasifikācijā izmantoti speciāli instrumenti: ADOS un SRS moduļi. Identificēja ģenētiskos lokusus, kuriem atrada statistiski ticamu asociāciju ar specifiskiem AST endofenotipiem. Nozīmīgākie varianti konstatēti 7q31.31. hromosoms lokusā esošā *KCND2* (*potassium voltage-gated channel, Shal-related subfamily, member 2*) gēnā SNP rs10239799 ($p = 3,44 \times 10^{-8}$), kuram atklāta saistība AST pacientiem ar amīmisku sejas izteiksmi. Asociācija ar AST pacientu dīvainām stereotipām kustībām atrasta 11p15.1 hromosomā esošā *NELL-1* (*nel-like 1 isoform 1 precursor*) gēna variantam rs1429793 ($p = 1,76 \times 10^{-8}$). Savukārt, vājas motorās spējas, roku stereotipas kustības AST pacientiem saistītas ar izmaiņām *NOS2A* (*nitric oxide synthase 2A*) gēna variantā rs2779251 ($p = 1,49 \times 10^{-8}$), kurš lokalizēts 17q11.2 hromosomā (Connolly *et al.*, 2012).

2.6.3. Kandidātgēnu pētījumi

Saskaņā ar AST datubāzes AutDB datiem ir atklāti 304 gēni un 1119 CNV lokusi, kuriem varētu būt nozīme AST attīstībā (autDB, 2011). Šiem gēniem ir noteikts AST patoģenētiskais mehānisms, ieskaitot neiroaktīvo receptoru savstarpējo mijiedarbību, sinapšu transmisiju un aksonu vadību (Xu *et al.*, 2012). Izmantojot iegūtos rezultātus no GWAS pētījumu rezultātiem un visa genoma CNV saistības pētījumu rezultātiem, nelīdzsvarotās saistības pētījumiem, nelieliem asociācijas pētījumiem, dzīvnieku modeļiem un citiem eksperimentāliem datiem, iegūti AST kandidātgēnu pozicionālie un funkcionālie dati, kas apkopoti AutDB (autDB, 2011). Publicēti dati

par 103 ģenētiskām slimībām un 44 genomiskiem traucējumiem, kuriem raksturīga AST simptomātika (Betancur, 2011). Turklāt, pētījumu rezultāti ir atšķirīgi, iespējams, tāpēc, ka pastāv atšķirības starp AST apakštipiem. Dažos pētījumos ir iekļauti visu AST apakštipu indivīdi, taču citos uzmanība tiek vērsta tikai uz bērniības autismu, līdz ar to indivīdi iekļauti selektīvi.

Gēnu nelīdzsvarotās saistības pētījumos atklāti nozīmīgi hromosomu lokusi, kuri iesaistīti AST etioloģijā (Schellenberg *et al.*, 2006). Vienā no lielākajiem pētījumiem analizēja 222 ģimenes, kurās bija viens vai vairāki bērni ar autismu, AST no ASV dažādiem štatiem. Vienas ģimenes ietvaros DNS paraugs analizēts vecākiem, slimajiem un veselajiem bērniem. Izslēgšanas kritēriji bija vecums mazāks par trīs gadiem, monogēnas slimības, anamnēzē smagas galvas traumas vai neiroloģiskas slimības, kā arī stāvokļi ar būtiskiem sensoriem un motoriem traucējumiem, kuri neatbilda AST diagnozei. 996 personām veica 410 gēnu genotipēšanu. Rezultātā, pēc datu stratifikācijas un korekcijas, atklāja, ka AST etioloģijā svarīga loma ir 7. hromosomai ($p = 0,0006$), 11. hromosomai ($p = 0,0009$), 4. hromosomai ($p = 0,002$), 10. hromosomai ($p = 0,003$), 14. hromosomai ($p = 0,005$), 3. hromosomai ($p = 0,0002$) (Schellenberg *et al.*, 2006).

Pēdējo gadu laikā, uzmanība pievērsta X hromosomas nozīmei AST etioloģijā, ņemot vērā faktu, ka zēni slimo trīs reizes biežāk kā meitenes, bet meitenēm šis traucējums izpaužas daudz smagākā formā nekā zēniem. Atklātas trīs ar X hromosomu saistītās autisma formas (AUTSX1, AUTSX2, AUTSX3), kuras saistītas ar NLGN3, NLGN4, MECP2 gēnu mutācijām (Philibert *et al.*, 2000; Laumonnier, *et al.*, 2003; Vourc'h *et al.*, 2001). NLGN3 lokalizēts Xq13 hromosomā izraisa AST un garīgu atpalcību (Philibert *et al.*, 2000). NLGN4, lokalizēts Xp22.33 hromosomā, izraisa AST, garīgu atpalcību un Aspergera sindromu (Jamain *et al.*, 2003; Laumonnier, *et al.*, 2003) un MECP2 gēns, kurš lokalizēts Xq28 izraisa AST un Retta sindromu (Schellenberg *et al.*, 2006). Identificēti 50 gēni, kas ir cēlonis sindromālam ar X hromosomu saistītam AST un 40 gēni, kas iesaistīti nesindromālā ar X hromosomu saistīto AST etioloģijā (Betancur, 2011).

2.6.4. Strukturālie varianti un CNV

Analizējot AST ģenētiskos mehānismus, literatūrā arvien biežāk tiek aprakstīti klīniskie AST gadījumi, kuros pacientiem tiek atklātas hromosomālas aberācijas

(Folsten and Rosen-Sheidley, 2001). Izmantojot salīdzinošās genoma hibridizācijas metodi (CGH, angļu val. – *comperative genomic hybridization*), atklātas daudz plašākas hromosomu strukturālās variācijas *de novo* delēcijas, duplikācijas, jeb tā saucamo kopiju skaita varianti (CNV), kurām kopā ar citām genoma aberācijām (inversijām, insercijām un translokācijām) ir lielāka nozīme AST etioloģijā, salīdzinot ar punktveida mutācijām (Jacquemont *et al.*, 2006; Sebat *et al.*, 2007; Marshall *et al.*, 2008; Christian *et al.*, 2008). Publicētie dati liecina, ka retās CNV ir bieži sastopamas starp AST pacientiem.

Apmēram pieciem procentiem AST pacientiem tiek konstatētas hromosomu mikroskopiskas aberācijas (Betancur, 2011). AST gadījumā, viena no biežākajām citoģenētiskajām patoloģijām, kas satopama 1–3% gadījumā ir duplikācija 15q11-q13 lokusā (Stankiewicz and Lupski, 2010). Šī lokusa rajonā iespējama mikrodelēcija, kas ir cēlonis Pradera Villija un Eindželmaņa sindromiem un abu sindromu gadījumā kā viens no pirmajiem simptomiem ir AST (Veltman *et al.*, 2004; Bonati *et al.*, 2007). Vienas no biežākajām citoģenētiskajām patoloģijām, kas saistītas ar AST ir delēcijas 2q37, 7q22q31, 18q21q23, 22q13.3 un Xp, kā arī duplikācijas 7q11.23, 17p11.2 hromosomās (Stankiewicz and Lupski, 2010).

Pirmais nesindromālā AST hromosomu submikroskopiskās pārkārtošanās pētījums atklāja lielu skaitu *de novo* CNV (Sebat *et al.*, 2007). *De novo* CNV lielā skaitā atklātas tajās ģimenēs, kurās tikai vienam indivīdam konstatēts AST. Autisma genoma projekta GWAS bija pirmais AST pētījums, kurā visa genoma SNP analīzē bija novērtēta CNV nozīme submikroskopiskos reģionos (Szatmari *et al.*, 2007). Kā rezultātā, pēc tālākajiem veiktajiem pētījumiem pierādīta CNV nozīme AST etioloģijā (Marshall *et al.*, 2008; Glessner *et al.*, 2009; Pinto *et al.*, 2010; van der Zwaag *et al.*, 2010; Levy *et al.*, 2011; Salyakina *et al.*, 2011; Sanders *et al.*, 2011). AST gadījumā mikrodelēcijas un mikroduplikācijas identificētas 16p11.2 lokusā (Kumar *et al.*, 2008; Weis *et al.*, 2008). Atklāts, ka mikrodelēcijas 22q11.2 lokusā var būt saistīts ar lielāku AST attīstības risku (Vorstman *et al.*, 2006). Submikroskopiskas delēcijas un duplikācijas var būt saistītas ar AST riska gēniem vai to regulācijas mehānismiem, kuri nodrošina dažādus procesus smadzeņu šūnu attīstībā (Kakinuma and Sato, 2008; Bourgeron, 2009; Pinto *et al.*, 2010; Sanders *et al.*, 2011; Berkel *et al.*, 2012). Atklāja, ka tie CNV, kuri atrasti AST gadījumā, novēroti arī citu psihisku traucējumu, tādu kā: šizofrēnija, garīgā atpalicība, UDHS un epilepsija, tādējādi izvirzīta hipotēze, ka ģenētiskais cēlonis ir gandrīz kopīgs visos iepriekš minēto slimību

gadījumos (Guilmatre et al., 2009; Betancur, 2011; Cooper et al., 2011; Elia et al. 2011; Glessner et al., 2012).

Ir pierādīts, ka *de novo* CNV risks AST gadījumā var būt 5–15% gadījumos ģimenēs, kurās vienam indivīdam ir AST (Sebat et al., 2007, Marshall et al., 2008; Glessner et al., 2009; Pinto et al., 2010; Levy et al., 2011; Sanders et al., 2011). 50% gadījumos indivīdiem ar AST konstatētas pārmantotas CNV, kuras atklātas arī vienam no potenciāli veseliem vecākiem. Šīs ģimeņu CNV varētu būt iekļautas kā būtiskas AST kandidātģeņu sastāvā, jo tās ir reti sastopamas normālā populācijā (Li et al., 2012). Vairums AST CNV pētījumi ir apjomīgi (vairāk kā 400 kb) (Sebat et al. 2007; Marshall et al. 2008; Glessner et al., 2009). Jaunāko pētījumu dati liecina, ka uzlabojot SNP izpētes iespējas, pētniekiem ir kļuvusi iespēja precīzāk atrast sīkākas CNV (Haraksingh et al., 2011), (Sk. 2.3. att.).

2.6.5. Eksoma sekvenēšana

AST ģenētiskais cēlonis ir neskaidrs, izvirzīta hipotēze, ka AST biežāk ir sporādiskais traucējums, un biežākais AST cēlonis ir *de novo* mutācijas nekā iedzimtas slimības (O’Roak et al., 2011). AST izpētē liela nozīme pievērsta eksoma sekvenēšanai, kuras rezultātā biežāk atklātas *de novo* mutācijas kandidātģēnos AST pacientiem.

Veicot eksoma sekvenēšanu, atklāts, ka bieži AST cēlonis ir retas *de novo* ģenētisko variantu (CNV) aberācijas ģēnos (Sanders et al., 2012). Potenciali nozīmīgākie ģēni ir *CHD8*, *NTNG1*, *GRIN2B*, *LAMC3*, *SCN1A*, *KATNAL2*, *SCN2A* (Neale et al., 2012; Sanders et al., 2012; O’Roak et al., 2012a).

2012. gadā B. J. O’Rocks ar kolēģiem veica eksoma sekvenēšanu 209 AST triāžu paraugiem. AST gadījumā 39% mutāciju tika atklātas ģēnos, kas nodrošina *CTNNB1* (β - katenīnhromatīna) olbaltuma rekonstrukciju. Atkārtotas *missense* mutācijas tika novērotas divos ģēnos: *CDH8* (hromodomēna helikāzes DNA saistītais proteīns 8) un *NTNG1* (netrīns G1). Papildus analizējot sešus kandidātģēnus 1703 AST pacientiem, atkārtotās *de novo* mutācijas nemainīgi konstatētas *GRIN2B* (glutamāta NMDA apakšvienības epsilon-2 prekursors), *LAMC3* (*Homo sapiens* laminīns, gamma 3l), *SCN1A* (*Homo sapiens* nātrija jonu kanāla, pretgradientu varianta I tips, alfa apakšvienība) ģēnos (O’Roak et al., 2012a).

2012. gadā S. J. Sanders ar kolēģiem, veica eksoma sekvenēšanu 238 AST ģimenēm, tajā skaitā 200 kvartetiem. *De novo* mutācijas par 40% atklātas biežāk

indivīdiem ar AST, nekā to veseliem brāļiem vai māsām. *De novo* punktveida mutācijas *SCN2A* (nātrija jonu kanāla 2. tipa proteīna alfa apakšvienība) gēnā ir saistītas ar AST. Veicot datu analīzi, salīdzinot ar iepriekš veiktajiem pētījumu rezultātiem (*O’Roak et al.*, 2012a), atklāti vēl divi gēni *KATNAL2* (katanīna p60 apakšvienība A – līdzīgi 2) un *CDH8*, kas varētu būt AST potenciālie kandidātģēni (*Sanders et al.*, 2012).

2012. gadā B. M. Nīls ar kolēģiem veica eksoma sekvenēšanu 175 AST triāžu paraugiem. 46% tika atrastas *missense* vai *nonsense de novo* varianti. Lai gan šīs mutācijas bija tikai nedaudz vairāk sastopamas kā veselajiem indivīdiem. Pretēji, proteīnu kodējošos gēnos, kuros ir *missense* un *nonsense* mutācijas norāda uz saistību ar AST, saistītie gēni nodrošina olbaltumu savstarpējo mijiedarbību, kas ir svarīgs AST mehānisms. Atklāja, ka proteīnu kodējošie gēni *KATNAL2* un *CDH8* ir nozīmīgi AST attīstībā (*Neale et al.*, 2012).

De novo punktveida mutācijas biežāk atklātas tēva hromosomā un bija saistītas ar tēva vecumu, kas norāda, ka gados vecākiem tēviem ir lielāks risks, ka bērnam attīstīsies AST (*Neale et al.*, 2012; *O’Roak et al.*, 2012a; *Sanders et al.*, 2012). Nesenā islandiešu eksoma pētījumā apstiprināts, ka *de novo* mutācijas bērniem biežāk saistītas ar tēva vecumu (*Kong et al.*, 2012).

Mērķtiecīga genoma ierobežotu reģionu sekvenēšana ar lielu paraugu skaitu ir ekonomiski izdevīgāka, lai noteiktu AST retu mutāciju variantus. B. J. O’Roks ar kolēģiem savā pētījumā veica 44 kandidātģēnu sekvenēšanu 2446 AST pacientiem. Šajā pētījumā atklāts, ka 1% AST gadījumā mutācijas var būt sporādiskas. Nozīmīgas patoloģiskas sporādiskas mutācijas atklāja sešos gēnos: *CDH8*, *DYRK1A*, *GRIN2B*, *TBR1*, *PTEN*, *TBL1XR1* (*O’Roak et al.*, 2012b).

Eksoma sekvenēšanas pētījumi kombinācijā ar CNV iegūtajiem datiem norāda uz plašu pētāmo lokusu heterogenitāti, kā arī nodrošina nākotnē mērķtiecīgākas diagnostikas iespējas. Joprojām pastāv problēmas un ierobežojumi ar esošām metodēm tieši funkcionāli testēt retus variantus un identificēt alēles ar mazu efektu. Jaunākās paaudzes sekvenēšanas metodes, starptautisku AST izpētes sadarbības projektu ietvaros, varētu atklāt AST noteicošo reģionu patogēnās mutācijas un sniegt jaunu informāciju par maziem un patoloģiskiem strukturāliem variantiem gēnu kodējošos reģionos. Ir grūti atšķirt patogēnās *de novo* mutācijas no nekaitīgām, ja mutācijas ir lokalizētas ārpus olbaltumu kodējošā reģiona. Sistemātiska starptautiska datu apkopošana par mutācijām un fenotipu varētu palīdzēt izprast genoma nekodējošo daļu (*Veltman and Brunner*, 2012).

2.7. AST diagnostika

AST diagnostiskie modeļi balstās uz L. Vingas un J. Golda izstrādātajiem triādes kritērijiem (*Wing and Gould, 1979*). Traucējumiem jābūt trīs sfērās:

- 1) Sociālās komunikācijas traucējumi – neprot kontaktēties ar citiem, neizrāda interesi par apkārtējo vidi, norobežojas, ieslīgst savā pasaulē. Komunikācijā neveido acu kontaktu, neizmanto mīmiku, žestus, ķermeņa valodu, labprātāk uzturas vieni, nevēlas kontaktēties ar citiem.
- 2) Dažādas pakāpes valodas attīstības traucējumi. Saskarsmē izmanto tikai atsevišķas skaņas, zilbes. Neizprot žestus, neprot pievērst sev uzmanību, bieži eholaliju veidā atkārto pēdējo dzirdēto teikumu vai daļu no teikuma. Ja valodas sapratne ir, tad tā ir nepilnīga, neizprot valodas nozīmi un pielietojumu sociālajā komunikācijā. Neizprot valodas simbolisko nozīmi.
- 3) Stereotipiski uzvedības modeļi – rituāli, pretošanās visam jaunajam, pieķeršanās noteiktiem priekšmetiem, detaļām, cilvēkiem. Ierobežotas intereses, stereotipiskas roku, pirkstu kustības, atkārtojošas, dažkārt pat pašdestruktīvas ķermeņa kustības. Hiperaktivitāte, kura mijas ar pasivitāti līdz pat iniciatīvas zaudēšanai. Reizēm ir vēlēšanās ēst neēdamas lietas (zemi, ziedus, papīru).

2.7.1. Galvenās AST pazīmes un simptomi

Visiem AST apakštipiem raksturīgi sekojoši triādes traucējumi:

- 1) Smagi savstarpējās sociālās mijiedarbības traucējumi, kuru gadījumā iespējama pilnīga norobežošanās no apkārtējās vides, vai savdabīgi pasīvi draudzīga un impulsīvi aktīva attieksme pret apkārtējiem.
- 2) Smagi savstarpējās mijiedarbības traucējumi, kas saistīti ar runas, valodas un neverbālās komunikācijas izmantošanu. Tie var izpausties kā pilnīga klusēšana (mutisms), vai arī izmanto tikai atsevišķus vārdus un teikumus. Iespējamās eholalijas, tiek atkārtotas citur dzirdētas frāzes, teikumi. Traucēta izpratne par neverbālās komunikācijas pielietojumu (žesti, sejas izteiksme). Norobežošanās, nav elastīgas iztēles spējas.
- 3) Stereotipiski uzvedības modeļi kā normas variants ir raksturīgi bērniem ar garīgu atpalicību. Šāda uzvedība var attīstīties arī pacientiem, kuriem IQ atbilst normai vai ir pat augstāk attīstīts, bet stereotipiska uzvedība

izpaužas mazāk uzkrītošā veidā. Gandrīz visu AST apakštipu gadījumos, pacientiem raksturīga pedantiska pieķeršanās noteiktai lietu kārtībai, režīmam, rituāliem. AST pacientiem ar normālu IQ līmeni vai pat ļoti augsti attīstītu IQ raksturīgs ierobežots interešu loks.

Visu apakštipu AST pacientiem iespējami dažāda veida uztveres traucējumi. Tiem raksturīga paaugstināta jūtība pret pieskārienu, pārmērīgu troksni, smaržām, garšu vai vizuāliem stimuliem.

AST gadījumā agrīna klīniskā izpausme var būt ļoti individuāla un atšķirīga katram pacientam. Apmēram divos vai trīs procentu gadījumos, no visiem AST klīniskajiem gadījumiem, pirmās sociālās, komunikācijas un tipiskās uzvedības traucējumu pazīmes var parādīties bērnam jau līdz viena gada vecumam. Savukārt, citos gadījumos, bērns līdz 12–24 mēnešu vecumam attīstās normāli, bet sasniedzot šo vecumu, bērna attīstībā novēro regresu. Uzska, ka apmēram 20% bērni ar AST relatīvi adekvāti attīstās pirmajos 12 līdz 24 dzīves mēnešos. Šajā periodā normālā attīstība pakāpeniski vai pēkšņi apstājas, kam seko regresijas periods, kuram biežākā vadošā nozīme ir valodas prasmēm, kas tiek zaudētas, vai nekad netiek pilnvērtīgi apgūtas (*Lainhart et al.*, 2002; *Gillbert*, 2006).

AST diagnoze ir jāliek, ja klīniskā praksē bērniem un pusaudžiem konstatē smagus traucējumus vismaz divās no triādes sfērām, vai arī, ja konstatē tikai nelielas izmaiņas. Tālākā AST apakštipu diferenciacija jāveic vadoties pēc SSK-10/DSM-IV diagnostiskajiem kritērijiem. Vai klīniskā aina atbilst bērniības autismam, disintegratīvajiem traucējumiem vai atipiskam autismam. AST visu apakštipu SSK-10 diagnostiskie kritēriji apkopoti 1. pielikumā.

Ja klīniskā aina atbilst Aspergera sindromam, papildus diagnozes precizēšanai nepieciešams izmantot K. L. Gilberta kritērijus (sk. 2. pielikumu). Jebkurā gadījumā termins „autisms” būtu vienmēr jāmin diagnozes formulēšanā (*Gillbert et al.*, 2001).

2.7.2. Diagnostiskie instrumenti (diagnostiskās skalas)

AST diagnostikā, lai savlaicīgi atklātu iespējamo traucējumu, noteiktu apakštipu, kā arī izvērtētu traucējumu smaguma pakāpi, klīniskā praksē bez jau esošiem SSK-10 un DSM-IV diagnostiskajiem kritērijiem, tiek izmantotas diagnostiskās skalas, lai objektīvi izvērtētu pacienta veselības stāvokli.

Starptautiski atzītās ir sekojošas skalas:

1) Novērtējuma skalas (skrīningam vai provizoriskai diagnozei):

- Autisma uzvedības skala, *Autism Behavior Checklist (ABC)*, (Krug et al., 1980);
- Autisma skrīninga aptaujas lapa, *Autism Spectrum Screening Questionnaire (ASSQ)*, (Ehler et al., 1999);
- Bērnu autisma pārskatītā novērtējuma skala, *Childhood Autism Rating Scale (CARS-R)*, (Schopler et al., 1980);
- Aspergera sindroma diagnostiskais pārskats, *Asperger Syndrome Diagnostic Interview I (ASD)*, (Gillberg et al., 2001).

2) Detalizēta klīniskā aptauja kopā ar tuvu aprūpētāju (parasti ar vienu no vecākiem), kuru veic speciāli apmācīts speciālists:

- Sociālo un komunikatīvo traucējumu diagnostika, *Diagnosis of social and communication disorders (DISCO)*, (Wing et al., 2002);
- Autisma diagnostika, *Autism Diagnostic Interview Revised (ADI-R)*, (Lord et al., 1994);
- Bērna uzvedības novērošana (testus veic speciāli apmācīts un sertificēts speciālists):
- Autisma diagnostikas novērošanas skala, *Autism Diagnostic Observation Schedule (ADOS)*, (Lord et al., 1989);
- Prelingvistiskais autisma diagnostikas tests, *Pre-Linguistic ADOS (PL-ADOS)*, (DiLavore et al., 1995).
- Psiholoģiskā testēšana, intelekta līmeņa noteikšana, izmantojot katram bērna vecumam atbilstošus testus.

2.8. Blakus slimības

AST pacientiem bieži iespējamās blakus slimības, kuras varētu būt atdalāmas kā atsevišķi traucējumi, kuros AST ir tikai viens no simptomiem. Pastāv diferenciālās

diagnostikas grūtības, ne tikai lai atšķirtu AST apakštīpus, bet arī starp citām blakus slimībām, jo AST var būt kā vadošais vai blakus simptoms. Biežākās blakus slimības ir: UDHS, koordinācijas traucējumi, tiki, depresija, bipolāri afektīvi traucējumi, trauksmes stāvokļi un ēšanas traucējumi. Biežākie kopīgie simptomi ir hiperaktivitāte, hipoaktivitāte, neuzmanība, uztveres traucējumi, agresīva uzvedība pret citiem, autoagresija, miega traucējumi. Biežākās ar AST saistītās blakus slimības būtu jākodē pēc atsevišķām diagnostiskām asīm (*Gillberg, 2006*).

Bērniem ar AST bieži vienlaicīgi ir daudz attīstības problēmu, tādēļ 1985. gadā tika izveidota sistēma, kas ļautu pakāpeniski veikt diferenciāldiagnostiku. Kā galvenie kritēriji iekļauti sekojoši parametri (*Rutter M. and Hersov I., 1985*):

- 1) noteikt intelekta līmeni;
- 2) noteikt valodas attīstības līmeni;
- 3) novērtēt vai bērna uzvedība ir atbilstoša:
 - hronoloģiskajam vecumam;
 - garīgajam vecumam;
 - valodas vecumam.
- 4) ja neatbilst, apsvērt atbilstoši diferenciāldiagnostiku psihiskiem traucējumiem:
 - sociālās mijiedarbības modelis;
 - valodas modelis;
 - rotaļāšanās modelis;
 - cita uzvedība.
- 5) novērtēt bērna somatisko stāvokli;
- 6) izvērtēt iespējamo psihosociālā faktora esamību.

Pētījumos atklāts, ka 75–80% pacientiem ar AST ir dažādas pakāpes garīgā atpalcība (*Gillberg, 2006*). Bērības autisma apakšgrupā garīgā atpalcība tiek konstatēta 50–70% gadījumos, savukārt pārējo AST apakštīpu gadījumos tā sastopama 45% (*Sacco et al., 2007*). Pastāv grūtības atšķirt AST simptomus no garīgās atpalcības, jo intelekta traucējumi raksturīgi 67% pacientiem ar AST, savukārt 28% ar dažādas pakāpes intelekta traucējumiem var uzvedībā novērot atsevišķus AST simptomus (*Kaufman et al., 2010*).

AST pacientiem 11–39% iespējamās epilepsijas lēkmes. 42% bērniem ar garīgu atpalcību bieži ir epilepsijas lēkmes, turpretim AST bērniem bez garīgas atpalcības, epilepsijas lēkmes sastopamas 6–8% (*Tuchman et al., 1991*). Epilepsijas lēkmes biežāk

konstatētas pētījumos, kuros iekļauti pusaudži un jaunieši, jo epilepsijai raksturīgi divi sākšanās pīķi: līdz piecu gadu vecuma un pusaudžu vecumā (*Volkmar et al., 1990*) 10–72% elektroencefalogrammās (EEG) konstatētas epileptiformas izmaiņas (*Kagan-Kushnir et al., 2005*), kas raksturīgas visiem AST apakštipiem, īpaši pacientiem ar psihiskās attīstības regresu, taču šīs izmaiņas nav indikācijas medikamentozai terapijai (*Canitano et al., 2005; Chez et al., 2006*).

Valodas attīstības traucējumi AST pacientiem var būt saistīti gan ar garīgu atpalcību, gan kā atsevišķs simptoms nesaistīts ar IQ attīstības pakāpi. Daudziem bērniem ar specifiskiem valodas attīstības traucējumiem, AST pazīmes var izpausties vieglā vai mērenā formā, vai pat var būt vienīgais AST vadošais simptoms (*Gillberg, 2006*).

UDHS ir ļoti bieži sastopams bērniem ar AST, gan kā blakus slimība, gan arī kā atsevišķs traucējums. Ņemot vērā, ka UDHS var manifestēties dažādos bērna vecumos, ne tikai trīs, četru, bet pat deviņu gadu vecumā, rūpīgi ir jāizvērtē iespējamie AST triādes simptomi, jo svarīgi atrast, kura ir primārā diagnoze. Hiperaktivitāte ļoti agrīnā bērna vecumā, kombinācijā ar valodas vai vispārējās attīstības aizturi ir biežākais AST simptoms (*Gillberg, 2006*). Reizēm primāri ir uzmanības deficīts un hiperaktivitāte, tikai laika gaitā, bērnam pieaugot, nonākot vienaudžu vidū, tiek konstatēti komunikācijas un socializācijas traucējumi, kas liek domāt par AST izpausmi vieglā vai mērenā formā. UDHS biežāk konstatē AST pacientiem, kuru IQ līmenis ir ap 50, tas nozīmē, atbilst vieglai garīgai atpalcībai. Jo smagāka ir garīgās atpalcības pakāpe, jo smagāki ir uzvedības traucējumi, kas grūti koriģējami gan ar nemedikamentozo, gan medikamentozo terapiju (*Gillberg, 2006*).

Dažādas pakāpes dzirdes traucējumi raksturīgi apmēram 10% no visiem AST pacientiem (*Gillberg, 2006*). Taču aptuveni 30–50% AST pacientiem biežāk ir raksturīga izteikta akustiskā hipersensitivitāte (*Gillberg, 2006*).

46–85% pacientiem AST ir gastrointestinālas problēmas, kas izpaužas kā hroniski aizcietējumi vai caurejas, vemšana, hroniskas vai biežas sāpes vēderā (*Melmed et al., 2000; Lightdale et al., 2001; Horvath and Perman, 2002*). Atklāts, ka pacientiem ar AST, biežāk kā populācijā kopumā, endoskopiski konstatē limfoīdas nodulāras hiperplāzijas, ezofagītu, gastrītu, duodenītu un kolītu (*Horvath et al., 1999; Torrente et al., 2004; Erickson et al., 2005*).

Bērniem un pusaudžiem ar AST, bieži ir miega traucējumi, kas saistīti gan melatonīna sintēzes un regulācijas traucējumiem, gan ar ģimenes distresu, kā arī

diennakts ritma izjukšanu. Galvenās grūtības ir iemigt, ļoti trausls miegs, agra pamošanās (Malow, 2004; Wiggs and Stores, 2004; Williams et al., 2004; Polimeni et al., 2005; Oyane and Bjorvatn, 2005).

Depresijas AST pacientiem biežāk ir pusaudžu vecumā, kas iespējams saistīti ar kontaktēšanās grūtībām starp vienaudžiem (Gillberg, 2006). AST pacienti norobežojas vēl vairāk no apkārtējiem. Emocionālie zaudējumi, bailes var izprovocēt depresijas attīstību AST pacientiem, kas izpaužas kā miega traucējumi, ēšanas traucējumi, uzvedības traucējumi, daži kļūst hiperaktīvi, citi tieši pretēji var kļūt hipoaktīvi.

Ņemot vērā, ka AST pacientiem raksturīgas specifiskas intereses un rituāli, kas attiecas ne tikai uz apkārtējo vidi, bet arī uz ēšanas paradumiem, iespējami ēšanas traucējumi. Agrīnā bērna vecumā bērniem ir grūti pieņemt jaunus produktus, viņi ēd tikai noteiktus produktus, ēdienkarte nav pilnvērtīga, jo bieži no tās tiek izslēgtas noteiktas pārtikas grupas, piemēram, atteikšanās no piena olbaltumvielām, saliktajiem ogļhidrātiem vai citiem pārtikas produktiem, tā rezultātā var attīstīties dažādas somatiskās slimības, kā arī kā blakus slimība var pievienoties *anorexia nervosa* (Gillberg, 2006). Bieži AST pacientiem ēšana ir saistīta ar noteiktu rituālu, kas nozīmē, ka ēdienam jābūt pareizās proporcijās, krāsā un kombinācijā, ja šis rituāls kaut kādu iemeslu dēļ tiek mainīts, AST patients var pārtraukt ēšanas procesu, atsakoties no pārtikas produktiem pilnībā. AST pacientiem nav bada sajūtas, ēšana ir nepieciešama tikai kā rituāls.

Bērniem ar AST bieži ir trauksme, īpaši situācijās, kuras viņi nespēj paredzēt, nav ierastas, kurās viņi nezin, kas ar viņiem notiks. Bieži šādas situācijas var izprovocēt panikas lēkmes. Šādās situācijās bērni parasti aizspiež sev ausis un kliedz, sit sev, vai var pēkšņi mesties pretī braucošam transportlīdzeklim. Viņi nespēj kontrolēt situāciju, kā rezultātā tiek veicinātas afektīvas reakcijas (Gillberg, 2006). Biežāko blakus slimību apskats attēlots 2.3. tabulā.

Blakus slimību sadalījuma biežums starp AST apakštipiem (Geschwind, 2009)

Blakus slimības	Bērnības autisms	Aspergera sindroms	Citi disintegratīvi traucējumi	Atipisks autisms
Sensorie traucējumi	> 90%	80%	dažādi	94%
Attīstības regress ^a	15%–40%	ND	ND	15%–40%
Motorie traucējumi ^b	60%–80%	60%	60%	60%–80%
Smagi motorie traucējumi	10%	ND	ND	5%–10%
Miega traucējumi	55%	5%–10%	40%	50%
Gastrointestinālie traucējumi ^c	45%	4%	50%	4%–50%
Epilepsija	10%–60%	0%–5%	5%–40%	6%–60%
Citi psihiski traucējumi kā blakus slimības ^d	70%	60%	> 25%	25%–70%

ND – nav datu

^a – sociālo un/ vai valodas iemaņu zudums^b – motorie traucējumi: hipotonija, gaitas traucējumi, staigāšana uz pirkstgaliem, apraksija^c – sākot no sešu mēnešu vecuma: caurejas, aizcietējumi, gastroezofāgālais reflukss, vēdera uzpūšanās^d – garastāvokļa traucējumi, uzvedības traucējumi, agresija, UDHS

2.9. AST terapija

2.9.1. Nemedikamentozā terapija

AST ārstēšana ir komplekša. Tās pamatā ir bērna apmācība ar īpašām pedagoģiskām metodēm, lai integrētu sabiedrībā. Ārstēšanā tiek iesaistīta multidisciplināra komanda, kurā uzsvars pamatā tiek likts uz valodas spēju, komunikāciju un sociālo iemaņu attīstīšanu. Svarīgi bērnam radīt strukturētu apkārtējo vidi, saplānot ikdienas aktivitātes. Tādēļ, ļoti svarīgi sociālās un komunikāciju apmācības procesā iesaistīt ģimeni, lai saglabātu bērnam pēc iespējas mierīgāku un adekvātāku vidi, kurā viņš justos droši. AST pacientiem jārada paredzama apkārtējā vide, jebkura jauna, nezināma situācija ir destruktīva. Tādēļ ikdienas dzīve ģimenē vairāk vai mazāk ir pakļauta bērna ar AST vajadzībām.

Ņemot vērā, ka visiem bērniem ar AST ir dažādas pakāpes saskarsmes grūtības, un lielai daļai bērnu iespējamās ekspresīvās un receptīvās valodas attīstības problēmas, šiem bērniem nepieciešama specifiska palīdzība, lai veicinātu valodas un komunikācijas prasmju attīstību. AST nemedikamentozā terapijā galvenais uzsvars ir veicināt komunikācijas un socializācijas prasmes, lai bērns varētu adekvāti integrēties apkārtējā sabiedrībā. AST pacienti vieglāk orientējas shēmās. Viņu ikdienas dzīvē ir nepieciešams noteikts algoritms, tādēļ vienas no perspektīvākajām un efektīvākajām nemedikamentozās terapijas metodēm ir sekojošas:

1. Augmentatīvā (papildinošā) un alternatīvā komunikācija (AAK) ir jebkurš līdzeklis, iekārta, attēls, vārds, simbols vai žests, kas kompensē ekspresīvās un receptīvās komunikācijas deficītu (*Cafiero, 2005*). AAK var tikt izmantoti dažādi līdzekļi, sākot ar vienkāršiem, ar roku zīmētiem attēliem, turpinot ar balss atskaņošanas iekārtām, ko var izmantot cilvēks, kurš pats nerunā, un beidzot ar īpašiem datoriem ar skārienjūtīgu ekrānu, kas dod cilvēkam iespējas veidot simtiem ikdienā nepieciešamu ziņu. AAK veicina arī runu, uzlabojot saziņas prasmes un interakciju (*Millar, Light and Schlosser, 2006*).

2. Attēlu apmaiņas komunikācijas sistēma (PECS) ir viena no augmentatīvās un alternatīvās saziņas metodēm (*Millar, Light and Schlosser, 2006*). Mācot komunikāciju ar PECS, bērnam tiek piedāvātas reālu priekšmetu vai darbību fotogrāfijas, zīmēti attēli vai melnbaltas piktogrammas. Bērnu māca, ka, piemēram, iedodot pieaugušajam atbilstošu attēlu, viņš var saņemt lietu, kuru vēlas, tādējādi tiek veicināta sazināšanās. Šī metode tiek izmantota arī Latvijā.

3. Pasaulē AST bērnu apmācībā tiek izmantotas dažādas pieejas. Viena no tām ir autismu apmācības (TEACCH) metode, ko Ziemeļkarolīnas Universitātē izveidoja Šoplers un Mesibovs (*Mesibov et al., 2004*). Šī metode ir individualizēta mācību programma, kas var tikt realizēta speciālās klasēs bērniem ar AST, kā arī adaptēta mājas videi un individuālai apmācībai. TEACCH pieeja ir balstīta uz strukturētu vidi (katrai nodarbībai ir paredzēta sava noteikta vieta) un vizuālu atbalstu (gan telpas funkcijas, gan nodarbību plāns tiek parādīts ar attēliem).

Ne mazāk svarīgas ir motorās iemaņas, īpaši bērniem ar augsti attīstītu intelektu bieži ir neveikla sīkā motorika. Tādēļ svarīgi bērna apmācībā un terapijā izmantot ergoterapeita palīdzību. Pozitīvs efekts attiecībā uz sazināšanās prasmēm tiek panākts, izmantojot mūzikas, deju kustību terapiju, kas ļauj bērnam apzināt, izprast savu

ķermeni, telpu ap sevi caur kustību un skaņu, līdz ar to rast priekšstatu un nebaidīties kontaktēt ar apkārtējiem.

2.9.2. Medikamentozā terapija

AST traucējumu gadījumā biežākās blakus slimības ir obsesīvi-kompulsīvi, miega traucējumi, pašdestruktīva uzvedība, ātra aizkaitināmība, agresīva uzvedība, kas vērsta pret sevi un citiem (*Correia et al.*, 2010).

Atsevišķos, smagos slimības gadījumos tiek izmantota medikamentozā terapija: ja pacientam ir izteikts UDHS, agresivitāte, epilepsijas lēkmes miega traucējumi, garastāvokļa traucējumi, kā arī obsesīvi-kompulsīvi traucējumi un šizofrēnijai līdzīgu simptomu gadījumā. Medikamentozā terapijā, g.k., tiek izmantoti psihotropie medikamenti. Biežāk tiek lietoti atipiskie jeb otrās paaudzes antipsihotiskie līdzekļi, antidepresanti, garastāvokļa stabilizatori un psihostimulatori. Terapijas izvēle saistīta ar prevalējošo sindromu. Epilepsijas, UDHS gadījumā terapijas izvēlē tiek ņemtas vērā bērnu neirologu un bērnu psihiatru asociāciju izstrādātās vadlīnijas. Latvijā nav izstrādātas AST medikamentozās terapijas vadlīnijas, tādēļ medikamentu izvēle balstīta uz starptautisko publikāciju datiem.

Bērnu un pusaudžu praksē medikamentozās terapijas izvēlei izmanto sekojošus principus (*Nunn and Dey*, 2003):

- 1) mērķis ir simptoms ne diagnoze, jeb jāārstē pamatsimptoms;
- 2) tehniskie aspekti izrakstot medikamentu pediatrijas praksē, tas nozīmē, ka jebkurš medikaments jāizraksta atbildīgi, neskatoties uz Eiropas un Latvijas ārstu biedrības norādēm, balstoties uz atbilstošo informāciju par medikamentu atbilstību, efektivitāti, drošību, kvalitāti;
- 3) nepieciešams uzsākt medikamentozo terapiju ar mazāko efektīvo devu un lēni to kāpināt, tas nozīmē, ka ambulatorajā praksē bērniem un pusaudžiem devas titrēšana jāuzsāk ar zemāko efektīvāko nekā pieaugušiem, aprēķinot to mg/kg/dn un beigt ar lielāko efektīvāko devu mg/kg/dn;
- 4) smagos slimību gadījumos nepieciešama polifarmakoterapija, ideālā gadījumā tomēr labāka ir monoterapija;
- 5) adekvātai ārstēšanai nepieciešams laiks, tas nozīmē, ka lai sasniegtu rezultātu, smagu slimību gadījumā medikaments jāpiemēro aptuveni astoņu nedēļu laikā;

- 6) ja vien ir iespējams, nepieciešamības gadījumā mainīt tikai vienu medikamentu;
- 7) ambulatori novērot vairāk nekā vienu reizi, piemēram, UDHS gadījumā jānovēro medikamentu iedarbību dažādos laikos un vietās;
- 8) ir būtiski apmācīt pacientu un ģimeni, tas nozīmē, pacientiem, kuri saņem ilgstošā laika periodā nepieciešamos medikamentus, ir jābūt izglītotam par tā darbību un iespējamām blaknēm.

AST pacientiem medikamentozās terapijas izvēle ir problemātiska, jo bieži var būt paradoksālas, neadekvātas reakcijas uz medikamentiem (*Gillberg, 2006*). Farmakoterapija AST pacientiem tiek izvēlēta individuāli. Nav publicētu datu par kontrolētiem vai atklātiem klīniskiem pētījumiem bērniem līdz piecu gadu vecumam. Izmantoti dati pēc klīniskās prakses. Medikamentu efektivitāte un blaknes sistemātiski jānovēro.

Uz pierādījumiem balstīti dati liecina par risperidona, metilfenidīna un atsevišķu SASI izmantošanu AST uzvedības traucējumu ārstēšanā. Provizoriski plānoti pētījumi ar valproātu, atomoksetīnu un aripiprazolu. Nākotnē nozīmīgi varētu būt $\alpha 2$ agonisti, holīnerģiskie līdzekļi, glutamīnerģiskie līdzekļi un oksitocīns (*Taylor et al., 2009*). AST terapijā nav viena medikamenta, kurš varētu ietekmēt vienlaicīgi visas trīs bojājuma sfēras.

2.9.3. AST pamatsimptomu ārstēšana

Smagu blakus slimību stāvokļu gadījumos, tādos kā: uzvedības traucējumi (ātra aizkaitināmība, agresija, impulsivitāte), trauksmes, hiperaktivitātes, miega traucējumi, nepieciešams pielietot medikamentozo terapiju, izmantojot psihotropos medikamentus (*Correia et al., 2010*). 31% ar AST medikamentozā terapijā lieto antipsihotiskus medikamentus, antidepresantus un garastāvokļa stabilizatorus (*Myers, 2007; Mandell et al., 2008; Taylor et al., 2009; Correia et al., 2010*).

Ierobežotas, atkārtotas uzvedības un interešu ārstēšanā pamatā izmanto SASI medikamentus: fluoksetīnu, fluoksamīnu, sertralīnu, citaloprāmu un escitolaprāmu. Citi potenciāli efektīvi medikamenti varētu būt otrās paaudzes antipsihotiskie līdzekļi, antikonvulsanti, neuropeptīdi un oksitocīns. Otrās paaudzes antipsihotiskais līdzeklis risperidons ir efektīvs, lai mazinātu stereotipijas pacientiem, kuri ir ļoti uzbudināti un agresīvi.

Sociālo un komunikatīvo traucējumu terapijas pamatā kā iespējami efektīvi varētu būt risperidons, lai mazinātu uzbudinātību. Nākotnē šajā jomā efektīvi varētu būt glutamīnerģiskie preparāti un oksitocīns.

AST blakus slimību terapija:

- neuzmanības, pārmērīgas aktivitātes un impulsivitātes terapijā ieteikta terapija ar metilfenidīnu, taču iespējamās nopietnas blaknes, kā izvēles medikaments varētu būt atomoksetīns un risperidons;
- uzbudinātības, agresijas, autoagresijas, dusmu lēkmju gadījumā vienīgais ieteiktais medikaments pamatā ir risperidons, kā arī ieteikti garastāvokļa stabilizatori un antikonvulsanti, kas varētu būt efektīvi AST aizkaitinātības terapijā;
- miega traucējumi (iemigšanas traucējumi, bezmiegs, nomoda – miega traucējumi, agra mošanās no rītiem) ārstēšanā ieteikts melatonīns. Savukārt, ja miega traucējumi saistīti ar ātru aizkaitinātību, uzbudinātību, tad terapijā iesaka lietot risperidonu. Dažādu trauksmes stāvokļu, depresijas gadījumā efektīvi ir antidepresanti. Hroniska bezmiega gadījumā efektīvāki varētu būt klonidīns un klonazepāms;
- bērnu un pusaudžu patoloģiskas agresijas gadījumā, kura ir destruktīva, smaga, hroniska, nereaģē uz psihosociālu un/vai psihofarmakoterapiju terapijā tiek ieteikts risperidons, olanzepīns, kvetiapīns, aripiprazols un klozapīns, kā arī garastāvokļa stabilizatori litījs un valproāti (*Gillberg, 2006; Tylor et al., 2009*)

Bērniem līdz trīs gadu vecumam ir grūtības izvēlēties medikamentozo terapiju trīs iemeslu dēļ: pirmkārt, ne visi psihotropie medikamenti ir atļauti bērna vecumā, otrkārt, iespējama paradoksāla reakcija uz medikamentu un treškārt, iespējamais blakņu risks (*Gillberg, 2006; Tylor et al., 2009*).

Viens no biežāk ieteiktajiem medikamentiem AST ārstēšanā ir otrās paaudzes antipsihotiskais līdzeklis risperidons, kurš diemžēl var izraisīt blaknes, tādas kā metabolie traucējumi (svara pieaugums), hiperprolaktinēmija un lielu medikamenta devu gadījumā iespējamās ekstrapiramidāli traucējumi. Nav veiktu pētījumu un datu par risperidona efektivitāti un panesamību bērniem līdz piecu gadu vecumam (*Tylor et al., 2009*).

2.9.4. AST farmakoģenētika

Psihotropie medikamenti g.k. metabolizējas aknās, bērniem šie metabolizācijas procesi noris atšķirīgi kā pieaugušiem, līdz ar to iespējams lielāks blakņu risks kā arī atšķirīga efektivitāte (Anderson, 2010). Lai izvērtētu medikamentozās terapijas efektivitāti un mazinātu blakņu risku, nākotnē būtu nepieciešama individualizētā terapija, izmantojot farmakoģenētikas iespējas (Woodcock and Lesko, 2009).

Citohroms P450 (CYP) ir kompleksa enzīmu grupa, kuri katalizē organisko substanču oksidāciju. Cilvēkam identificēti 57 citohroma P450 (CYP) gēni un 47 pseidogēni (Hukkanen, 2000). CYP2 enzīms katalizē eksogēno savienojumu oksidatīvo biotransformāciju (Hukkanen, 2000).

Psihotropu medikamentu metabolizācijā iesaistīti vairāki P450 marķieri, viens no svarīgākajiem ir *CYP2D6* (Rodriguez-Antona et al., 2009). Pirmās un otrās paaudzes antipsihotisko medikamentu metabolizāciju nosaka *CYP2D6* gēna polimorfisms, kurš nosaka biežākās antipsihotisko medikamentu izraisītās blaknes (Rodriguez-Antona et al., 2009).

CYP2D6 gēns ir ļoti polimorfs un balstoties uz kodējošā proteīna aktivitātes līmeni, tā varianti tiek klasificēti četros atšķirīgos fenotipos, kuri ietekmē medikamentozās terapijas rezultātu. Tie ir sekojosi: intensīvs metabolizētājs, vidējs metabolizētājs, vājš metabolizētājs un īpaši intensīvs (Correia et al., 2010).

Viens no populārākajiem atipiskajiem antipsihotiskajiem medikamentiem, kuru lieto AST medikamentozajā terapijā ir otrās paaudzes antipsihotiskais līdzeklis risperidons (Mandell et al., 2008). Tas ir vienīgais pediatrijas praksē apstiprinātais medikaments, kuru var lietot AST uzvedības traucējumu ārstēšanai bērniem un pusaudžiem vecumā no pieciem līdz 17 gadiem (Stahl, 2008). Risperidonam piemīt laba panesamība un efektivitāte, ārstējot AST agresivitāti, hiperaktivitāti, ātru aizkaitinātību, pašdestruktīvu uzvedību, stereotipijas, sociālu norobežošanos, interešu trūkumu (Jesner et al., 2007). Neskatoties uz efektivitāti, diemžēl, risperidons var izsaukt blaknes, biežākās no tām ir miegainība, svara pieaugums, hiperprolaktinēmija, ekstrapiramidālie traucējumi (West and Waldrop, 2006; Jesner et al., 2007). Smadzenēs risperidons saistās ar daudziem neirotransmiteru receptoriem, īpaši ar serotonīna 5-HT_{2A} un dopamīna D₂ receptoriem, kā arī tam piemīt laba afinitāte ar α -1 un α -2 adrenerģiskiem receptoriem, serotonīna 5-HT₆, 5-HT₇ receptoriem (Arnt and Skarsfeld, 1998). Risperidona darbības regulācija ir kompleksa. Aknās

CYP2D6 risperidonu intensīvi metabolizē par aktīvu metabolītu 9–hidroksirisperidonu, kura farmakoloģiskā aktivitāte ir tādi pati kā risperidonam (*Scordo et al.*, 1999). Abi tie veido aktīvas antipsihotiskas frakcijas. Intensīvs *CYP2D6* metabolizētājs strauji pārvērš risperidonu par 9–hidroksirisperidonu, bet lēns *CYP2D6* metabolizētājs to veic ļoti lēni. Kaut gan intensīvam metabolizētājam ir zemāka risperidona un augstāka 9–hidroksirisperidona koncentrācija kā lēnajam metabolizētājam, farmakokinētiskā risperidona un 9–hidroksirisperidona kombinācija ir tādi pati kā intensīvam un lēnam metabolizētājam (ZVA, 2013).

2.10. AST prognoze

Slimības prognoze atkarīga no AST pacienta IQ pakāpes. Pacienti, kuru IQ ir lielāks par 70, un, kuru valodas prasmes ir attīstījušās līdz 5–7 gadu vecumam, relatīvi ir labāka prognoze. Zemu funkcionējošs AST patients, ar vidēji smagu vai smagu garīgu atpalcību, nekad nespēs dzīvot patstāvīgi un sevi materiāli nodrošināt. Turpretim, augstāk funkcionējošs AST patients, ar vieglu garīgu atpalcību, normālu intelektu vai pat ļoti augstu intelektu, bet vājām sociālajām un komunikatīvajām prasmēm, spēs būt patstāvīgs, apgūs profesiju un spēs izveidot ģimeni (*Kaplan and Sadock's*, 2007).

AST novēlota diagnostika un traucējumu neatpazīšana aizkavē palīdzības sniegšanu šai pacientu grupai un veicina pacientu smagu invalidizāciju.

Balstoties uz iepriekš minēto, svarīgi agrīnā bērna vecumā atrast iespējamo AST cēloni, tādējādi nodrošinot efektīvu tālāko terapijas taktiku, kā arī, kas nebūt nav mazsvarīgi – tālāko ģimenes plānošanu.

3. MATERIĀLI UN METODES

Pētījums veikts laika posmā no 2006. gada līdz 2013. gadam, četrās secīgās fāzēs.

Pirmā pētījuma fāzē, laika posmā no 2006.–2013. gadam veikta AST pacientu atlase VSIA BKUS BS Gaiļezērā Bērnu psihiatrijas un Medicīniskās ģenētikas klīnikās. Izmantojot AST diagnostiskos kritērijus, standartizētās uzvedības un personības skalas, ADOS testu veikta AST pacientu atlase. Šajā pētījuma fāzē salīdzināta AST antropometrisko mērījumu percentīlu procentuālā attiecība ar standartpopulāciju, salīdzinātas IQ pakāpes un epilepsijas lēkmju biežums starp AST pacientu dzimuma grupām, lai atrastu iespējamās raksturīgās AST fenotipiskās pazīmes.

Otrā pētījuma fāzē, laika posmā no 2010.–2011. gadam Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā no AST pacientu bioloģiskā materiāla izdalīts DNS. Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā veikts gadījuma kontroles asociācijas pētījums, kurā analizēti četri reto alēļu varianti (rs11212733, kurš lokalizēts 11q22.3 rs1394119, kurš lokalizēts 11p15.4-15.3 lokusā, rs2421826, kurš lokalizēts 11p13 hromosomas lokusā, kā arī rs1454985, kurš lokalizēts 15q13.3-14 lokusā) AST pacientiem un kontroles grupai, lai noteiktu šo SNP iespējamo asociāciju ar AST.

Trešā pētījuma fāzē, laika posmā no 2011.–2012. gadam, Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā veikta otrās paaudzes antipsihotiskā medikamenta risperidona analīze AST pacientiem. Tika izvēlēts citohromgrupas (CYP) P450 marķieris *CYP2D6*. Pētījumā analizētas *CYP2D6* gēna divas alēles: *CYP2D6**4 (rs3892097), *CYP2D6**41 (rs28371725). Veikts gadījuma kontroles asociācijas pētījums alēļu biežuma noteikšanai AST pacientu un kontroles grupās. Noteikta risperidona efektivitāte un analizētas biežākās blaknes, un to saistība ar *CYP2D6* haplotipu AST pacientiem, kuri medikamentozā terapijā lietoja risperidonu.

Ceturtajā pētījuma fāzē, laika posmā no 2011.–2013. gadam, no visiem AST atrasta ģimene, kurā AST ciltskokā pārmantojas atbilstoši monogēnam iedzimšanas tipam un, lai noskaidrotu gēnu, kurš izraisa slimību, 2011. gadā veikta pilna eksoma sekvenēšana trīs šīs ģimenes locekļiem Pekinas Genoma institūtā, Ķīnā (*Beijing Genomics institute, China*). No 2012.–2013. gadam, balstoties uz iegūtajiem eksoma sekvenēšanas rezultātiem, veikta atlasīto astoņu gēnu variantu sekvenēšana pēc Sangera metodes visiem ģimenes locekļiem.

3.1. Pētāmās grupas

3.1.1. AST pacienti

Kopš 2006. gada, pētījumam tika atlasīti 196 pacienti, kuri konsultēti VSIA BKUS BS Gaiļezērā Bērnu psihiatrijas un Medicīniskās ģenētikas klīnikās. Primāri pacientu atlase veikta, vadoties pēc SSK–10 diagnostiskajiem kritērijiem un standartizētām uzvedības un personības skalām: THE CHAT (*The CHecklist for Autism in Toddlers*, pirmo 18 mēnešu pārbaude), (*Baron-Cohen et al.*, 1992); AQ (*Autism Spectrum Quotient* – autiskā spektra traucējumu aptauja bērniem vecumā no četri līdz 11 gadu vecumam), (*Baron-Cohen et al.*, 2006); Kembridžas Universitātes uzvedības un personības jautājumi bērniem līdz četri gadu vecumam; Kembridžas Universitātes sociālās un komunikatīvās attīstības jautājumi; CAST (*Childhood Asperger Syndrome Test* – bērniņas Aspergera sindroma tests), (*Scott et al.*, 2002; *Williams et al.*, 2006). Pozitīva rezultāta gadījumā, katrs pacients ar aizdomām par iespējamu AST, tika sūtīts pie klīniskā psihologa, kurš veica specializētu, standartizētu diagnostiku, izmantojot ADOS (*Autism Diagnostic Observation Schedule*) testu, izvēloties katram pacienta vecumam atbilstošu diagnostisko moduli (*Lord et al.*, 2002), lai apstiprinātu AST.

Tā kā valodas attīstības traucējumi un dažādas pakāpes garīgās atpalicības līmenis ir visbiežākās AST blakus slimības, katram pacientam logopēds izvērtēja ekspresīvās un receptīvās valodas prasmes, kā arī klīniskais psihologs pārbaudīja intelektu, nosakot IQ pakāpi, izmantojot Vudkoka-Džonsona Intelektu skalas bērniem (*Woodcock*, 2003), Minhenes funkcionālās attīstības diagnostikas testu (*Hellbrugge et al.*, 1994), Vekslera testa (*Wechsler*, 1974), modifikācijas atbilstoši katrai bērna vecuma grupai. Tādējādi atlasīti 173 pacienti, kuriem apstiprināta diagnoze AST.

No pētījuma grupas izslēgti pacienti ar citiem psihiskiem traucējumiem, kuri pēc padziļinātās izmeklēšanas neatbilda AST diagnostiskajiem kritērijiem.

Lai pētāmā grupa būtu homogēnāka un izslēgtu sindromālo autismu, katru pētījuma apakšgrupas pacientu izvērtēja ārsts ģenētiķis. Nepieciešamības gadījumā, pēc indikācijām, AST pacienti tika nosūtīti uz ģenētiski bioķīmisko, citoģenētisko, molekulāro izmeklēšanu, lai izslēgtu biežākos monogēnos sindromus, iedzimtas vielmaiņas slimības un hromosomālos sindromus.

Atbilstošu indikāciju gadījumā, VSIA BKUS BS Gaiļezērā Medicīniskās ģenētikas klīnikā veikti sekojoši standarta izmeklējumi:

- 1) citoģenētikas laboratorijā: standarta kariotipa analīze, 15q11.13 delēcija vai duplikācija, 22q11.2 delēcija, hromosomu subtelomēru rajonu analīze ar *FISH* (fluorescentā in situ hibridizācijas metode);
- 2) DNS laboratorijā: *FMR1* gēna analīze (trauslās X hromosomas sindroms), *MeCP2* gēna analīze (Retta sindroms), DNS metilēšanas analīze 15q11-13 lokusam (Eindželmaņa un Prādera-Villija sindroma izslēgšana);
- 3) ģenētiskās bioķīmijas laboratorijā: organisko skābju spektrs, mukopolisaharīdu kvantitatīvā un kvalitatīvā analīze, oligosaharīdi urīnā, aminoskābju spektrs asinīs un urīnā.

Katra AST pacienta vecāki vai aizbildņi iepazīnās un parakstīja RSU Ētikas komisija akceptētu piekrišanas formu dalībai pētījumā un bioloģiskā materiāla (asins parauga) ģenētiskai izpētei.

3.1.1.1. AST pacientu anketa

Iegūtie dati par AST pacientu reģistrēti speciāli šim pētījumam izveidotajās anketās, kurās iekļāva maksimāli pilnvērtīgu informāciju par pacienta agrīno attīstību, slimības sākumu un attīstību, kā arī ģimeni (sk. 3. pielikumu).

Anketā iekļāva sekojošu informāciju par katru pacientu:

- 1) ģimenes anamnēze un ciltskoks līdz pat trešajai paaudzei, noskaidrojot etnisko piederību, un/vai radniecību, vecāku psihisko attīstību, izglītību, pārmantotās slimības, somatiskās un psihiskās slimības probanda vecākiem un ciltskokā;
- 2) grūtniecības anamnēze. Kaitīgie faktori, grūtniecības, dzemdību norise. Mātes slimības un lietotie medikamenti, pārtikas piedevas grūtniecības laikā, grūtniecības pārtraukšanās draudi pirmajā grūtniecības trimestrī. Dzemdību ilgums, norise, pielietotās medikamentozās metodes dzemdību stimulācijā, iespējamās bērna dzemdību traumas;
- 3) jaundzimušā perioda norise, bērna psihomotorā attīstība līdz viena gada vecumam;
- 4) bērna psihomotorā attīstība līdz 3–4 gadu vecumam. Sūdzības, klīniskās pazīmes, kas liecina par iespējamu AST (valodas attīstības aizture, regress, vai tās zudums);

- 5) visiem AST pacientiem veica antropometriskos mērījumus un mazo anomāliju novērtējumu, izmantojot Latvijas bērnu fiziskās attīstības novērtēšanas normatīvus (Krūmiņa *et al.*, 2007) un starptautiski standartizētās percentīlu līknes (Jones, 2006). Kā galvenie pētījuma antropometriski parametri tika izvēlēti: augums, svars, galvas apkārtmērs;
- 6) ņemot vērā, ka otra biežākā blakus slimība AST pacientiem ir dažāda veida epilepsijas lēkmes, katram atlases apakšgrupas pacientam pārbaudīja agrīnās attīstības anamnēzi, lai papildus noskaidrotu vai pacientam kādā no attīstības posmiem ir bijušas epilepsijas lēkmes epizodes;
- 7) visiem pacientiem veica:
 - EEG (elektroencefalogrāfiju), lai izslēgtu epileptisku aktivitāti;
 - dzirdes pārbaudi, lai izslēgtu vājdzirdību;
- 8) pacientiem, kuriem anamnēzē bijušas neskaidras etioloģijas epilepsijas lēkmes, kā arī attīstības regress, valodas zudums, veica MRI (magnētiskās rezonanses) un/vai DT (datortomogrāfijas) izmeklējumus, lai izslēgtu organisku CNS bojājumu;
- 9) katram pacientam veica sekojošas analīzes:
 - VSIA BKUS BS Gaiļezerā Klīniskajā laboratorijā: pilna asins aina (eritrocītu, leukocītu un trombocītu skaits, hemoglobīna līmenis, eritrocītu grimšanas ātrums pēc Vestegrēna metodes);
 - VSIA BKUS BS Gaiļezerā Klīniskajā laboratorijā asins bioķīmiskie rādītāji: aspartātaaminotransferāzes (ASAT), alanīnaminotransferāze (ALAT), laktāts, urīnskābe, glikozes līmenis asinīs, homocisteīns. Nepieciešamības gadījumā – folskābes, B₁₂ vitamīna līmenis asins serumā;
- 10) pacienti, kuriem izvērtējot objektīvo atradni, bija indikācijas ģenētiskai izmeklēšanai, tika nosūtīti tālākai izmeklēšanai uz VSIA BKUS BS Gaiļezerā Medicīnas ģenētikas klīniku, kā arī, vadoties pēc klīniskās ainas, tika veikti nepieciešamie ģenētiskie izmeklējumi;
- 11) pacientiem ar aizdomām par iespējamu ģenētisku patoloģiju papildus veica:
 - EhoKG (ehokardiogrāfiju), lai izslēgtu iespējamu iedzimtu sirdskaiti;
 - USG (ultrasonogrāfiju) vēdera dobumam, lai izslēgtu iedzimtu patoloģiju aknās, nierēs, urīnizvadceļos;
 - okulista konsultācija, lai izslēgtu redzes traucējumus;

- 12) pacientu bioloģiskais materiāls (asins paraugs), ar vecāku vai aizbildņu rakstisku piekrišanu, ka bioloģiskais materiāls tiek izmantots tālākos pētnieciskos nolūkos, nogādāts Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā, kurā veica izdalītā DNS parauga uzglabāšana un analīzi;
- 13) pacienta fotoattēls (tikai ar iepriekšēju vecāku vai aizbildņu piekrišanu, datu kolekcijas veidošanai).

Tā kā pētījums bija retrospektīvs un prospektīvs un tika veikts četros secīgos etapos, laika posmā no 2006. līdz 2013. gadam, līdz ar to, pacientu skaits katrai pētījuma fāzei bija atšķirīgs (sk. 3.1. att).

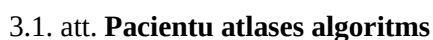
Pirmā pētījuma fāzē, izmantojot BKUS BS Gaīlezerā Bērnu psihiatrijas un Medicīniskās ģenētikas klīnikas medicīnisko ierakstu un konsultāciju datus, laika posmā no 2006. līdz 2013. gadam, tika izvērtēti 196 pacienti ar aizdomām par AST. No tiem atlasīti 173 pacienti ar AST. Lai pētāmā grupa būtu homogēna, no tās tika izslēgti 23 pacienti ar apstiprinātu monogēnu vai hromosomālu patoloģiju, kas veidoja sindromālā AST grupu. Analizēti 150 nesindromālo AST pacientu fenotipiskie un antropometriskie mērījumu dati. Nesindromālā AST grupā iekļāva bērnus un pusaudžus no trīs līdz 18 gadu vecumam (vidējais vecums 8,1 gads ($SD=3,15$)), zēnu un meiteņu attiecība bija 4,2:1.

Otrā pētījuma fāzē, pētāmo grupu veidoja no jau esošiem 150 nesindromālā AST grupas atlasītiem 95 pacientiem, kuriem laika posmā no 2010. līdz 2011. gadam, ar rakstisku vecāku vai aizbildņu piekrišanu, tika paņemts bioloģiskais materiāls tālākai ģenētiskai izpētei.

Trešā pētījuma fāzē, no jau esošiem 150 nesindromālā AST grupas pacientiem, laika posmā no 2011. līdz 2012. gadam, 113 uz to brīdi iekļautiem AST pacientiem, kuru vecāki vai aizbildņi rakstiski piekrita bioloģiskā materiāla analīzei, tika veikta farmakoģenētiskā marķiera analīze.

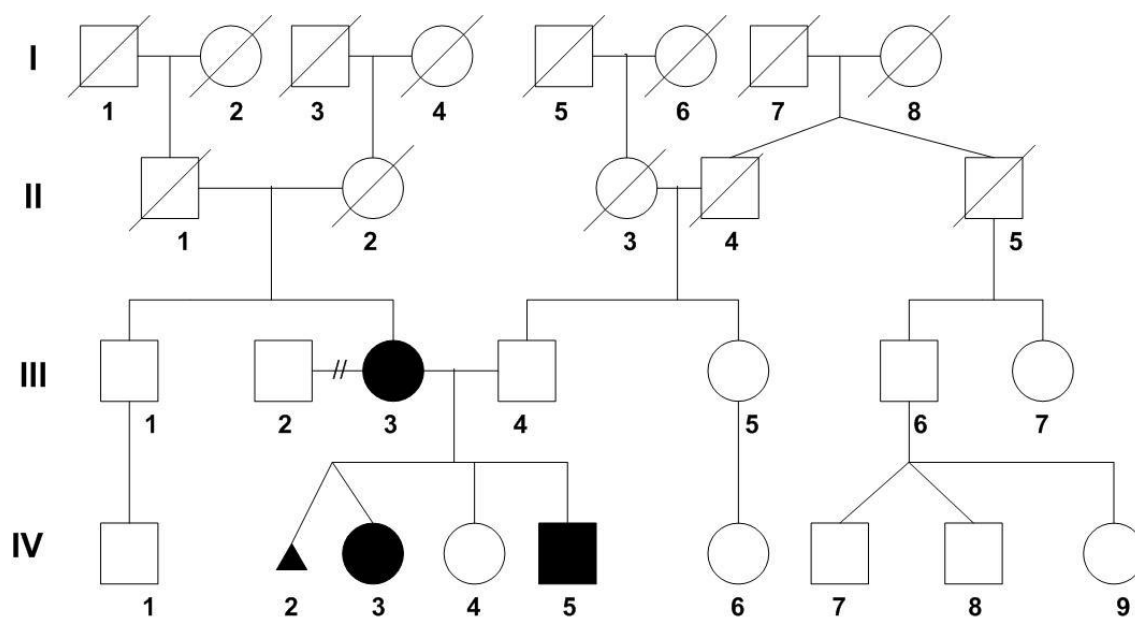
30 pacienti ar AST no šīs grupas, vecumā no četri līdz 15 gadu vecumam (bērna vidējais vecums 7,16 gadi, $SD\ 2,39$), medikamentozā terapijā lietoja otrās paaudzes antipsihotisko līdzekli risperidonu. Analizēta šī medikamenta efektivitāte un blaknes.

Ceturta pētījuma fāzē, laika posmā no 2011. līdz 2013. gadam, no jau esošās pētāmās AST grupas izvēlējās ģimeni ar Asperģera sindromu, kura atbilda autosomāli dominantam pārmantošanas tipam. Veikta pilna eksoma sekvenēšana trīs šīs ģimenes locekļiem un sekvenēšana pēc Sangera metodes visiem pieciem ģimenes locekļiem.



Lai identificētu iespējamās AST izraisošos kandidātģēnus, no pētījuma grupas pēc autosomāli dominantā pārmantošanas tipa, izvēlējās ģimeni ar Asperģera sindromu, kuras trīs ģimenes locekļiem veica pilnu eksoma sekvenēšanu.

Izvēlēta ģimene pēc sekojošiem kritērijiem: bērnam un vienam no vecākiem bija jābūt AST, lai atbilstu autosomāli dominantajam iedzimšanas tipam. Pētījumā tika iekļauta ģimene, kurā divās paaudzēs konstatēts Asperģera sindroms (sk. 3.2. att).



3.2. att. Ģimenes ar Aspergera sindromu ciltskoks

IV-3. Paciente bija 11 gadu veca meitene ar uzvedības traucējumiem. Sociālās adaptācijas un komunikācijas traucējumi, kas izpaudās kā grūtības kontaktēties ar vienaudžiem. Emocionāliem traucējumiem, kā arī reizēm agresivitāti pret citiem ģimenes locekļiem. Meitene dzimusi neradniecīgā laulībā no pirmās grūtniecības. Grūtniecība iestājusies pēc mākslīgas *in vitro* apaugļošanas, jo mātei ilgstoši nav iestājusies grūtniecība. Dvīņu grūtniecība, kurā 33 grūtniecības nedēļā otrs auglis ir miris. Meitenei veikta izmeklēšana izmantojot SSK-10 diagnostiskos kritērijus, AQ (*Autism Spectrum Quotient* – autiskā spektra traucējumu aptauja bērniem vecumā no četri līdz 11 gadu vecumam), (*Baron-Cohen et al.*, 2006); Kembridžas Universitātes sociālās un komunikatīvās attīstības jautājumi; CAST (*Childhood Asperger Syndrome Test* – bērnības Aspergera sindroma tests), (*Scott et al.*, 2002; *Williams et al.*, 2006). Pozitīva rezultāta gadījumā, ar aizdomām par iespējamu AST, meitene nosūtīta pie klīniskā psihologa, kurš veica specializētu, standartizētu diagnostiku, izmantojot ADOS (*Autism Diagnostic Observation Schedule*) testu, izvēloties vecumam atbilstošu diagnostisko moduli (*Lord et al.*, 2002), lai varētu noteikt iespējamo AST apakštipu, tādējādi tika apstiprināts Aspergera sindroms. Meitenei veikta IQ pārbaude, izmantojot Vudkoka-Džonsona Intelektu skolas bērniem (*Woodcock*, 2003), Vekslera testa (*Wechsler*, 1974), modifikāciju atbilstoši bērna vecumam. IQ līmenis bija normāls (> 70). Meitenei bija īpatnējas, stereotipas roku kustības, specifiskas intereses par

dinozauriem, valodas attīstības traucējumi, ierobežota sejas mīmika, neveiklas kustības, komunikācijas traucējumi ar vienaudžiem un ģimenes locekļiem, stereotipi rituāli.

IV-4. Astoņus gadus veca meitene. Dzimusi no otrās grūtniecības, otrām dzemdībām, bez patoloģiskas norises. Septiņu gadu vecumā meitenei sākās uzvedības traucējumi. Meitene kļuvusi agresīva pret jaunāko brāli un vecāko māsu. Pievienojās obsesīvi–kompulsīvi traucējumi, pazuda interese par mācībām, pievienojās miega traucējumi, grūtības adaptēties skolā, kā arī stereotipas roku kustības. Meitenei veikta izmeklēšana, izmantojot SSK-10 diagnostiskos kritērijus, AQ (*Autism Spectrum Quotient* – autiskā spektra traucējumu aptauja bērniem vecumā no četri līdz 11 gadu vecumam), (Baron-Cohen et al., 2006); Kembridžas Universitātes sociālās un komunikatīvās attīstības jautājumi; CAST (*Childhood Asperger Syndrome Test* – bērniības Aspergera sindroma tests), (Scott et al., 2002; Williams et al., 2006), ADOS-R (*Autism Diagnostic Observation Schedule*) testu, izvēloties vecumam atbilstošu diagnostisko moduli (Lord et al., 2002), bet AST nediagnosticēja. Meitenei veikta IQ pārbaude, izmantojot Vudkoka-Džonsona Intelekta skalas bērniem (Woodcock, 2003), Vekslera testa (Wechsler, 1974), modifikāciju atbilstoši bērna vecumam. IQ līmenis bija normāls (> 70).

IV-5. Septiņus gadus vecs zēns, kurš dzimis no trešās grūtniecības, trešām dzemdībām, bez patoloģiskas norises. Piecu gadu vecumā zēnam sākās afektīvi garastāvokļa traucējumi, depresīvi traucējumi, stereotipas roku kustības, pastiprināta sensorā uztvere. Zēnam sākās komunikācijas un socializācijas traucējumi gan skolā, gan mājās, viņš kļuva vienaldzīgs pret vienaudžiem. Zēnam veikta izmeklēšana izmantojot SSK-10 diagnostiskos kritērijus, AQ (*Autism Spectrum Quotient* – autiskā spektra traucējumu aptauja bērniem vecumā no četri līdz 11 gadu vecumam), (Baron-Cohen et al., 2006); Kembridžas Universitātes sociālās un komunikatīvās attīstības jautājumi; CAST (*Childhood Asperger Syndrome Test* – bērniības Aspergera sindroma tests), (Scott et al., 2002; Williams et al., 2006), ADOS-R (*Autism Diagnostic Observation Schedule*) testu, izvēloties vecumam atbilstošu diagnostisko moduli (Lord et al., 2002), kā rezultātā zēnam apstiprināja Aspergera sindromu. Izmantojot Vudkoka-Džonsona Intelekta skalas bērniem (Woodcock, 2003), Vekslera testa (Wechsler, 1974), modifikāciju atbilstoši bērna vecumam, pārbaudīja intelektu. IQ līmenis bija normāls (> 70).

III-3 (māte). 45 gadus veca sieviete, kurai kopš agrīna bērna vecuma, skolas laikā bijušas komunikācijas problēmas, socializācijas traucējumi un specifiskas

intereses par pūkiem un dinozauriem. Pusaudžu vecumā bijuši depresīvi traucējumi. Pēc klīniskā psihologa diagnostikas, mātei apstiprināts Aspergera sindroms.

III-4 (tēvs). 45 gadus vecs vīrietis. Garīgās veselības traucējumi nebija konstatēti.

3.1.3. Kontroles grupa

Atlasīta kontroles grupa, kurā pēc nejaušas atlases principa iekļāva 190 potenciāli veselas, savstarpēji neradniecīgas personas no Valsts iedzīvotāju genoma datubāzes Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā. Šo personu anamnēzē nebija datu par AST vai citiem psihiskiem traucējumiem ģimenē un pēc dzimuma attiecības kontroles grupa tika saskaņota ar pētāmo grupu.

3.2. Metodes

3.2.1. Antropometrisko mērījumu veikšana AST pacientiem

Antropometriskie mērījumi veikti visiem AST pacientiem. Kā galvenie mērījumi tika izvēlēti auguma garums, ķermeņa svars un galvas apkārtmērs. Katra AST pacienta veikto mērījumu izvērtēšanai izmantoja Latvijas bērnu fiziskās attīstības novērtēšanas normatīvus (Krūmiņa *et al.*, 2007) un starptautiski standartizētās percentīļu līknes (Jones, 2006). Salīdzināti AST antropometrisko mērījumu percentīļu procentuālais rādītājs ar standartpopulācijas percentīļu procentuālo rādījumu.

Kā biežākās AST blakus slimības analizētas garīgās atpalcības, anamnēzē konstatētās epilepsijas lēkmes un valodas traucējumi. Savstarpēji salīdzināts to biežums starp AST pacientu zēnu un meiteņu grupām.

3.2.2. DNS izdalīšana AST pacientiem un kontroles grupas pārstāvjiem

AST pacientiem un kontroles grupas pārstāvjiem DNS izdalīts no asins parauga Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā, izmantojot standarta hloroforma – fenola metodi (*Sambrook et al.*, 1989), pēc Latvijas Valsts Iedzīvotāju genoma datubāzes standartiem.

3.2.3. AST asociācijas pētījuma SNP izvēle

SNP izvēlēti vadoties pēc publikācijām par plašiem genoma un AST asociācijas pētījumu rezultātiem, kuros analizēti AST potenciāli nozīmīgi lokusi. Par SNP atlases kritērijiem tika izvēlēti izvērtēto publikāciju pētāmo grupu lielums, kuras veidoja pārstāvji no dažādām etniskām populācijām, kā arī nesindromālo AST subfenotipi (valodas traucējumi, garīgās atpalicības) un iepriekš ar AST asociēto SNP nozīmīgākās LOD vērtības (*Liu et al.* 2008; *Cho et al.*, 2011). Tika izvēlēti divi savstarpēji nesaistīti plaši genoma saistības pētījumi (*Liu et al.*, 2008; *Cho et al.*, 2011). Pirmajā pētījumā 1397 ģimenēm ar AST no Ziemeļamerikas un Eiropas analizēti 5371 SNP (*Liu et al.*, 2008). Savukārt, otrajā pētījumā 42 korejiešu ģimenēm ar AST analizēti 3022 SNP (*Cho et al.*, 2011). Vadoties pēc šo pētījumu rezultātiem, atlasīti četri potenciāli nozīmīgi SNP, kuri iesaistīti AST attīstībā. Izvēlētajiem SNP, bija noteikta augstākā asociācija ar AST un izvērtējot p vērtības, tās bija mazākas par 0,0001. Genotipēšanai tika izvēlēti sekojoši marķieri: rs11212733, kurš lokalizēts 11q22.3 hromosomas lokusā ($p = 9,76 \times 10^{-6}$), (*Cho et al.*, 2011), rs1394119 ($p = 0,00004$), kurš lokalizēts 11p15.4-15.3 lokusā, rs2421826 ($p = 0,0003$), kurš lokalizēts 11p13 hromosomā, kā arī rs1454985 ($p = 0,00001$), kurš lokalizēts 15q13.3-14 lokusā (*Cho et al.*, 2011; *Liu et al.*, 2008).

3.2.4. AST asociācijas pētījumam izvēlēto SNP genotipēšana

Gadījuma kontroles asociācijas pētījumam izvēlēto SNP genotipēšana veikta Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā, izmantojot *TaqMan* reaktīvu principus. Genotipēšana ar *RT-PCR/HRM* (reālā laika polimerāzes ķēdes reakcija ar augstas izšķirtspējas kušanas analīzi) veikta ar *ViiATM7 Real-Time PCR* sistēmu (*Applied Biosystems*, Karlsbāde, ASV) un *GeneAmp® PCR System 9700* sistēmu (*Applied Biosystems*) (*ABI 7500 Real-Time PCR system*, *Applied Biosystem*, Karlsbāde,

ASV), vadoties pēc ražotāja ieteikumiem. Izvēlēto *TaqMan* oligonukleotīdu raksturojums attēlots 3.1. tabulā (*dbDNP* datubāze, *RefSNP*, 2011).

3.1. tabula

Oligonukleotīdu raksturojums

SNP (<i>dbDNP</i> datubāze, 2011, <i>RefSNP</i>)	TaqMan ID (<i>AppliedBiosystems</i>)	Oligonukleotīdu sekvence	Hromosomālā lokālizācija
rs11212733	ID:C_1868071_10	5'GAACATTCAGGAC [A/T]AGCTA3'	11q22.3
rs2421826	ID:C_15804567_10	5'CAGTGACATAAA A[C/T]GGAAA3'	11p13
rs1454985	ID: C_8926269_10	5'TTGTCATATTCCA A[C/T]TTTGT3'	15q13.3-14
rs1394119	ID:C_9599703_10	5'GTCTGATGAATGT [A/C]CTTTAG3'	11p15.4-15.3

Gadījuma un kontroles grupu DNS paraugi tika alikvotēti, līdz darba koncentrācijai 7ng/μl. DNS paraugi automātiski iepildīti 96 bedrīšu platēs ar automatizēto robotu Freedom Evo (*Tecan, Mannedorf, Šveice*).

Reakcijas maisījums 1 reakcijai:

H₂O (*Millipore*) – 5μl

DNS – 4 μl

TaqMan Genotyping Mix (*Applied Biosystem*, Karlsbāde, ASV) – 4,75 μl

TaqMan zonde – 0,25 μl

Master Mix = 1 reakcija × 100 +10%

Sagatavoja plati centrifugēšanai 15 sek – 1500 apgr./min. Genotipēšanas reakciju veica, izmantojot reālā laika *PCR* iekārtas *7500 Real Time PCR System* un *ViiATM7 Real-Time PCR* sistēmu (*Applied Biosystem*, Karlsbāde, ASV), visas reakcijas veiktas pēc ražotāju ieteiktā standarta protokola. Amplifikācijas reakcijas apstākļi attēloti 3.2. tabulā.

Amplifikācijas reakcijas apstākļi

Temperatūra	Laiks	Ciklu skaits
95° C	15 minūtes	1
95° C	15 sekundes	40
60° C	1 minūte	
60° C	1 minūte	1

Iegūtos rezultātus manuāli analizēja ar *7500 Real Time PCR System Software* versiju.

3.2.5. Farmakoģenētiskā marķiera izvēle

AST pacientiem farmakoterapijā kā viens no biežāk izvēlētiem medikamentiem ir otrās paaudzes antipsihotiskais līdzeklis risperidons, kurš pēc starptautisko pediatrijas asociāciju, Latvijas Zāļu valsts aģentūras (ZVA) ir atļauts lietot medikamentozā terapijā bērniem no piecu līdz 17 gadu vecumam (*Mandell et al.*, 2008; *Stahl*, 2008; *Taylor et al.*, 2009; ZVA, 2011). Risperidona metabolizācija noris aknās. Metabolizācijas procesā būtiska nozīme ir citohromu grupas (CYP) P450 marķierim *CYP2D6*, kurš aknās intensīvi hidrolizē risperidonu par 9-hidroksi-risperidonu. *CYP2D6* primāri 50% nodrošina medikamenta metabolizāciju (*Ingelman-Sundberg et al.*, 2007; *Rodriguez-Antona et al.*, 2009). Risperidona abiem metabolītiem ir nozīme gan terapijas efektivitātē, gan arī blakņu attīstībā. *CYP2D6* gēns ir ļoti polimorfs, balstoties uz publikācijām, datubāzēm un komerciāli piedāvātiem testiem, pētījumam izvēlētas šī gēna divas alēles: *CYP2D6*4* (rs3892097), *CYP2D6*41* (rs28371725) (*Ingelman-Sundberg et al.*, 2007; *Rodriguez-Antona et al.*, 2009; *Anderson*, 2010; *Correia et al.*, 2010; ZVA, 2011; *cggenetics*, 2011).

3.2.6. Farmakoģenētiskā marķiera genotipēšana

*CYP2D6*4* (rs3892097) un *CYP2D6*41* (rs28371725) genotipēšana veikta Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā, izmantojot *TaqMan* reaktīvus. Genotipēšanai izmantota reālā laika *PCR* veikta ar *ViiATM7 Real-Time PCR* sistēmu (*Applied Biosystem*, Karlsbāde, ASV) un *GeneAmp® PCR System 9700* sistēmu (*Applied Biosystems*) (*ABI 7500 Real-Time PCR system*, *Applied Biosystem*, Karlsbāde, ASV), vadoties pēc ražotāja ieteikumiem. Izvēlēto alēļu raksturojums attēlots 3.3. tabulā (*dbDNP* datubāze, *RefSNP*, 2012)

3.3. tabula

Oligonukleotīdu raksturojums

Gēns/alēle	SNP (<i>dbDNP</i> datubāze, 2011, <i>RefSNP</i>)	TaqMan ID (<i>AppliedBiosystems</i>)	Oligonukleotīdu sekvence	Hromosomālā lokālizācija
<i>CYP2D6*4</i>	rs3892097	C_27102431	5'CGAAAGGGG CGTC[C/T]TGG GG3'	22q13.1
<i>CYP2D6*41</i>	rs28371725	C_3416116	5'CCGCCTGTAC CCTT[C/T]CTC CC3'	22q13.1

Gadījuma un kontroles grupu DNS paraugi tika atšķaidīti līdz darba koncentrācijai 7ng/μl. DNS paraugi iepildīti 96 bedrīšu platē ar automatizēto robotu *Freedom Evo* (*Tecan, Mannedorf, Šveice*).

Reakcijas maisījums 1 reakcijai:

H₂O (*Millipore*) – 5μl

DNS – 4 μl

TaqMan Genotyping Mix (*Applied Biosystem*, Karlsbāde, ASV) – 4,75 μl

TaqMan zonde – 0,25 μl

Master Mix = 1 reakcija × 100 +10%

Sagatavoja plati centrifugēšanai 15 sek – 1500 apgr./min. Genotipēšanas reakciju veica, izmantojot reālā laika *PCR* iekārtas *7500 Real Time PCR System* un *ViiATM7 Real-Time PCR sistēmu* (*Applied Biosystem*, Karlsbāde, ASV), visas reakcijas

veiktas pēc ražotāju ieteiktā standarta protokola. Amplifikācijas reakcijas apstākļi attēloti 3.4. tabulā.

3.4. tabula

Amplifikācijas reakcijas apstākļi

Temperatūra	Laiks	Ciklu skaits
95° C	15 minūtes	1
95° C	15 sekundes	40
60° C	1 minūte	
60° C	1 minūte	1

Iegūtos rezultātus analizēja ar *7500 Real Time PCR System Software* versiju.

3.2.7. Risperidona terapijas izvērtēšanas kritēriji

Informācija par medikamentozo terapiju tika iegūta, atlasot pacientu ar AST medicīniskās vēstures, kuri laika posmā no 2006. līdz 2013. gadam ārstējušies BKUS BS Gaiļezērā Bērnu psihiatrijas klīnikā un lietojuši otrās paaudzes antipsihotisko līdzekli risperidonu.

Risperidona terapijas efektivitātes izvērtēšanas galvenais kritērijs bija AST uzvedības simptomu mazināšanās, tādu kā: pašdestruktīva uzvedība, agresija, destruktīva uzvedība pret citiem, miega traucējumi, stereotipiskas kustības un rituāli. Kā arī tika izvērtētas izmaiņas valodas, komunikācijas un socializēšanās prasmēs. Efektivitātē novērtēja vai medikamenta terapijas efekts ir labvēlīgs, neefektīvs vai pretējs, blakņu izraisošs. Risperidona terapijas efektivitāti izvērtēja sākot no viena mēneša līdz diviem gadiem, kopš terapijas uzsākšanas brīža.

Risperidona blaknes klasificēja, izmantojot Zāļu valsts aģentūras reģistra un medikamenta ražotāju rekomendācijas. Visbiežākās ($\geq 1/10$), biežākās ($\geq 1/100$ līdz $1/10$), retākās ($\geq 1/1000$ līdz $< 1/100$), retas ($\geq 1/10000$ līdz $< 1/1000$), ļoti retas ($< 1/10000$) (ZVA, 2011). Tika izvērtētas visbiežāk sastopamās risperidona blaknes: paaugstināts prolaktīna līmenis, virssvars, pastiprināta apetīte, tahikardija, sedācija,

ekstrapiramidālie simptomi. Kā retākās risperidona blaknes tika minētas pagarināts QTc intervāls, anēmija, trombocitopēnija, reibonis, diskinēzija, apātija, izsitumi. Savukārt, kā risperidona panesamības kritēriji tika izvērtēti klīniskās atradnes parametri: prolaktīna, aspartātaminotransferāzes (ASAT) un alanīnaminotransferāzes (ALAT) līmenis asinīs, elektrokardiogrāfijas (EKG) rādītāji, neiroloģiskie simptomi, tajā skaitā arī ekstrapiramidālie traucējumi.

3.2.8. Pilna eksoma sekvenēšana ģimenei ar Aspergera sindromu

Ģimenei, kurā diagnosticēts Aspergera sindroms divās paaudzēs, veikta pilna eksoma sekvenēšana slimajam bērnam (IV-3) un abiem vecākiem (III-3, III-4) Pekinas Genoma institūtā, Ķīnā (*Beijing Genomics institute*), izmantojot *Illumina HiSeq 2000* sistēmu, „sapāroto-galu” („*paired-end*”) sekvenēšanas metodi.

3.2.9. Eksoma sekvenēšanas datu analīze

Eksoma sekvenēšanas rezultātu analīze veikta sadarbībā ar Latvijas Biomedicīnas studiju un pētījuma centra speciālistiem. Tālākai analīzei izvēlējās SNP, kuri atbilda alternatīvās alēles dominantā pārmantošanas tipa modelim. Atlasīja SNP, kuru biežums 1000 genomu datubāzē bija $\leq 0,01$ un kuri nebija sastopami dbSNP132 datu bāzē (*1000genome*, 2013).

3.2.9.1. Datu izlīdzināšana

Eksoma sekvenēšanā iegūtie sekvenētie fragmenti tika attiecināti un salīdzināti pret jau izstrādāto cilvēka genoma referenci hg19 (GRCh37.2 *homo sapiens*). *Homo sapiens* populācijai ir izstrādātas vairākas genoma sekvenču references, kā nozīmīgākā, pēc literatūras datiem, tika izvēlēta jaunākā UCSC (*University of California Santa Cruz*) Bioinformātikas grupas centra izstrādātā hg19 datu bāze, kas apvieno informāciju par cilvēka genomu no visām datubāzēm (GRCh37.2 *homo sapiens*), (GRCh37.2, 2013).

Tālākā paraugu analīze tika veikta izmantojot programmas *BEDTools* (*Browser extensible Data format*) (BEDTools, 2013) un *SAMTools* (*short DNA sequence read alignments*) (SAMTools, 2013).

Lai iegūtu to rajonu visu trīs paraugu koordinātes, kuri pārklājās, izmantota programma *BEDTools* (komandu kopums, kas risina biežākos genoma analīzes uzdevumus, tādus kā pazīmju pārklājums un genoma fragmentu salīdzināšana). Savukārt, lai atrastu pozīciju

koordinātes tika izmantota programma *SAMTools*. Salīdzināšanas rezultātā pret hg19 references genomu tika iegūts *SAM* fails (*Sequence Alignment/Map format*), savukārt, lai samazinātu analizējamās informācijas apjomu, *SAM* fails tika konvertēts uz *BAM* failu (*binary Alignment/Map format*). Lai veiktu konvertāciju, tika izmantota programma *Picard* (programma *SAM* un *BAM* failu datu apstrādei un izvadei) (*Picard*, 2013).

3.2.9.2. PCR duplikāciju iezīmēšana

Sekvenēšanas tehnoloģijas kļūdu dēļ dažas nolasas var būt savstarpēji atkārtotas kopijas (tās var ietvert vienādu secības un atrašanās pozīcijas informāciju). PCR amplifikācijas procesa kļūdu dēļ var rasties duplikāti, kuri tiek saukti par PCR duplikātiem un var radīt problēmas SNP atpazīšanas laikā (atkārtota vienas un tās pašas alēles identificēšana). Šajā etapā tika veikta datu attīrīšana, dubulto kļūdu izslēgšana *BAM* failā, izmantojot *Picard* programmatūru.

3.2.9.3. Inserciju un delēciju vai to kombināciju lokāla izlīdzināšana

Sekvenēšanas nolasas beigās insercijas vai delēcijas var būt par cēloni nepatiesi pozitīviem SNP rezultātiem. Lai novērstu iespējamās kļūdas, tika veikta atkārtota datu lokāla izlīdzināšana (*local realignment*), izmantojot *GATK* programmu (*Genome Analysis Tool Kit-2.1-8*) (*GATK*, 2013). Ar *Picard* programmas palīdzību tika saglabāta „sapāroto-galu” („*paired-end*”) informācija, lai tā netiktu izmainīta veiktās lokālās izlīdzināšanas laikā.

3.2.9.4. Kvalitātes vērtējuma pārvērtēšana

Sekvenēšanas rezultātā iegūtie kvalitātes rādītāji ne vienmēr ir pietiekoši precīzi SNP atpazīšanas procesam. Tādēļ ar *GATK* programmas palīdzību tika pārkalibrēti kvalitātes rādītāji.

3.2.9.5. SNP identificēšana

SNP atpazīšana veikta, izmantojot *GATK* programmu. Rezultātā ieguva SNP, inserciju un delēciju aprakstošu *VCF* failu (*Variant Call Format* teksta fails), kurā tika norādīta SNP pozīcija genomā. SNP tika identificēti tikai tajos rajonos, kuros bija pārklājums ar visiem trim paraugiem.

3.2.9.6. SNP filtrēšana

Nosauktie SNP tika atfiltrēti, izmantojot *Bash* (*Linux* operētājsistēmas komandrindas vide) un *Awk* (viena no komandām *Bash* vidē) komandas, lai atbilstu alternatīvās alēles pazīmes dominantās iedzimšanas modelim. Mātei (slima) AA vai Aa, meitai (slima) Aa, bet tēvam (vesels) aa.

Atfiltrētie SNP, kas iegūti iepriekšējā solī, tika anotēti ar *SnpEff* programmu (ģenētisko variantu anotācijas un aminoskābju izmaiņu ietekmes uz gēniem prognozes programmu kopums), lai noskaidrotu SNP ietekmi uz kodējošo aminoskābi (*SnpEff*, 2013). No anotētajiem SNP tika atlasīti tie, kuri mainīja kodējošo aminoskābi. Ar programmu *ANNOVAR* (multifunkcionāla programma ģenētisko variantu detalizētai anotācijai) tika izveidots SNP saraksts ar visām anotācijām tālākai analīzei (*annovar*, 2013). No šī saraksta izslēdza SNP, kuri sastopami biežāk par 1%, ar mērķi atrast retu ģenētisko variantu.

3.2.10. Potenciālo kandidātgēnu atlase

Izveidotais SNP saraksts pēc to lokalizācijas tika salīdzināts ar jau eksistējošām AST datu bāzēm. No šīm datu bāzēm atlasīti potenciālie AST kandidātgēni. Izslēgšanas kritēriji:

- 1) izvēlēti tikai *homo sapiens* modeļi, lai atrastu iespējamus slimību izraisošos kandidātgēnus cilvēkiem;
- 2) gēna ekspresija notiek CNS, izslēgti tie SNP, kuri neekspresējas CNS;
- 3) tā kā pētījuma mērķis bija atrast iespējamus nesindromālā AST kandidātgēnus, no izveidotā SNP saraksta izslēgti jau aprakstītie un datubāzē iekļautie monogēno slimību SNP (*omim*, 2013).

Lai atlasītu potenciālos AST kandidātgēnus, izmantotas uz pierādījumiem balstītas datu bāzes:

- 1) *AutDB* (*autDB*, 2013),
- 2) *OMIM* (*omim*, 2013)
- 3) *Ensembl* (*ensembl*, 2013)
- 4) *GeneCards* (*genecards*, 2013)
- 5) *EMBL-EBI* (*ebi*, 2013)

3.2.11. Kandidātģēnu sekvenēšana un analīze

Tālākā darba procesā tika veikta atlasīto astoņu variantu (*ARPP21*, *KCNH6*, *KCNJ10*, *KIAA051*, *LRFN2*, *PCDHA9-10*, *MPDZ*, *PLD5*) sekvenēšana pēc Sanger metodes visiem ģimenes ar Asperģera sindromu locekļiem (III-3, III-4, IV-3, IV-4, IV-5).

Izmantojot autosomāli dominantās pārmantošanas tipa modeli, ģimenei ar Asperģera sindromu analizēja piecus iespējamus potenciāli nozīmīgos ģēnus (*KCNJ10*, *ARPP21*, *PLD5*, *KCNH6*, *MPDZ*).

Lai noteiktu SNP iespējamo patogenitāti, noteikta polimorfisma vieta transkriptos, kas kodē olbaltumvielu, izmantojot *Ensembl* (*ensembl*, 2013) un *Mutalyzer* (*mutalyzer*, 2013) datu bāzes.

3.3. Datu statistiskā analīze

Pētījuma ietvaros iegūtie dati fiksēti speciāli izstrādātā pētījuma anketā kā arī elektroniskajā datu bāzē. Dati analizēti, izmantojot aprakstošās un analītiskās statistikas metodes.

Aprakstošā statistikā izmantota procentuālā proporcija, vidējais aritmētiskais, standartnovirze, mediāna vērtība. Analizēta antropometrisko mērījumu (augums, svars, galvas apkārtmērs) procentīļu procentuālā attiecība starp AST pacientu dzimumiem un standarpopulāciju. Savstarpēji salīdzināts blakus slimību (garīgā atpalcība, epilepsijas lēkmes, valodas traucējumi) biežums starp AST pacientu dzimumiem.

Analītiskajā statistikā nulles hipotēzes pārbaudei, salīdzinot pētāmo AST grupu dzimumu, lai pārbaudītu antropometrisko mērījumu un biežāko blakus slimību saistību ar AST, izmantots Fišera precīzais tests (*Fisher Exact*). Noteikts, ka statistiskās ticamības p vērtības sliekšnis ir mazāks par 0,05. Izredžu attiecība (OR), kas ir viena notikuma varbūtība vienā no grupām attiecībā uz šā paša notikuma varbūtību otrajā grupā, aprēķināta ar 95% ticamības intervālu (CI).

Datu statistiskai apstrādei izmantota *SPSS 19 Windows* programmatūra (*SPSS Inc., Chicago, IL, ASV*).

Gadījuma kontroles AST un izvēlēto SNP asociācijas pētījuma analīze veikta izmantojot *PLINK 1.06* programmatūru (*Purcell et al., 2007*), salīdzinot AST un kontroles grupu datu statistiskai apstrādei izmantots standarta Hī kvadrāta (χ^2) tests ar Bonferoni korekciju, jeb multiplās testēšanas korekciju. Visiem analizētajiem

marķieriem tika noteikts vai ir novirze no Hārdija-Veinberga līdzsvara. Haplotipa analīze veikta, izmantojot standarta Hī kvadrāta (χ^2) testu. Alēļu biežuma un 95% ticamības intervāls noteikts izmantojot standarta Hī kvadrāta (χ^2) testu. Statistiski ticama asociācija tika uzskatīta, ja $p < 0,05$. Lineārās regresijas analīzei kā mainīgos rādītājus izmantoja AST pacientu vecumu, dzimumu, IQ līmeni un anamnēzē konstatētās epilepsijas lēkmes.

AST un farmakoģenētiskā marķiera pētījumā izmantota aprakstošās statistikas procentuālā proporcija, analizēts alēļu biežums pacientu un kontroles grupā, izmantots Fišera precīzais tests. Statistiski ticama asociācija tika uzskatīta, ja $p < 0,05$. Izvērtēts otrās paaudzes antipsihotiskā līdzekļa risperidona blakņu un terapijas korekcijas biežums pacientu grupā. Veikta haplotipu analīze AST pacientu un kontroles grupā. Izmantota lineārās regresijas analīze, lai noteiktu saistību starp risperidona devu un izvēlētajiem ģenētiskajiem marķieriem. Kā mainīgie rādītāji izvēlēti bērna vecums, dzimums, risperidona deva, IQ līmeni, ASAT, ALAT rādītāji. Statistiskā analīze veikta izmantojot *PLINK 1.06* programmatūru (*Purcell et al.*, 2007).

Eksoma sekvenēšanas datu analīzei, izmantota DNASTAR programmu, *Bio Linux* brīvi pieejamās *GATK* (*gatk*, 2013) un *ANNOVAR* (*annovar*, 2013) programmas.

4. REZULTĀTI

4.1. AST pacientu antropometriskais un klīniskais raksturojums

Pētījuma pirmā fāze veikta VSIA BKUS BS Gaiļezers Bērnu psihiatrijas un Medicīniskās ģenētikas klīnikās. Šajā pētījuma fāzē aprakstīts AST atlasītās pētījuma grupas fenotips. Analizēti AST pacientu antropometriskie mērījumi rādītāji un biežākās AST blakus slimības.

Pēc SSK-10 diagnostiskajiem kritērijiem, ADOS testa rezultātiem atlasīti 173 pacienti ar AST. Lai atdiferencētu sindromālo autismu no nesindromālā, AST pacientiem veikta ģenētiskā izmeklēšana, kā rezultātā atklātas 23 (13,29%) monogēna, hromosomāla un iedzimta vielmaiņas patoloģija, kuru sākotnējā izpausme pacientam bija AST ar attīstības regresu. Iegūtie dati par atklāto ģenētisko patoloģiju skaitu un to procentuālo sadalījumu apkopoti 4.1. tabulā. Šie pacienti tika izslēgti no tālākā pētījuma.

4.1. tabula

Sindromālā autismu pacientu skaits un procentuālais sadalījums sākotnēji atlasītajā pacientu grupā

Diagnosticētā ģenētiskā patoloģija	Gadījumu skaits	Procentuālais sadalījums
Kompleksa hromosomu pārmaiņa 46,XY,t(1;2;17)(q23;p21;q25.3)	1	4,35%
Kompleksa hromosomu pārmaiņa 46,XY,der(1)(1pter→1q25:13q21→13q32:7p21→7pter), der(7)(13qter→13q21:7q31→7p21:7q32→7qter), der(13)(13pter→13q21:1q25→1qter)	1	4,35%
15q11-13 duplikācija (MIM #608636)	2	8,69%
15q11-13 delēcija Eindželmaņa sindroms (MIM #105830)	3	13,04%
Kabuki sindroms (MIM #147920)	1	4,35%
22q11.2 delēcija DiGeorge sindroms (MIM #188400)	2	8,69%

4.1. tabulas nobeigums

Diagnosticētā ģenētiskā patoloģija	Gadījumu skaits	Procentuālais sadalījums
Trauslās X hromosomas sindroms <i>FMR1</i> gēna mutācija (MIM #300624)	6	20,09%
Retta sindroms <i>MECP2</i> gēna mutācija (MIM #312750)	2	8,69%
α -1-mannozidoze (MIM #609458)	1	4,35%
Cx26 gēna mutācija (sensoneirāla vājdzirdība) (MIM #220290)	2	8,69%
Tuberozā skleroze (MIM #191100)	2	8,69%

Izslēdzot sindromālā AST pacientus no paraugkopas, tālāko pētījuma grupu veidoja 150 nesindromālā AST pacienti. Aprakstīti un analizēti AST raksturojošie antropometriskie un biežāko blakus slimību vidējie rādītāji.

Pētījumā analizēti dati par 150 AST pacientiem, kuru vidējais vecums bija 8,1 (SD = 3,15) gads. No visiem pētāmā grupā iekļautiem 150 AST pacientiem 121 (80,66%) bija zēni, kuru vidējais vecums bija 7,9 (SD = 2,82) gadi un 29 (19,33%) meitenes, kuru vidējais vecums bija 8,4 (SD = 4,24) gadi.

Analizējot pēc AST apakštipiem, vidējie rādītāji pacientu vecumam bērnības autisma grupā (n = 58) bija 7,6 (SD = 2,54) gadi, Aspergera sindroma grupā (n = 4) vidējais bērna vecums bija 7,7 (SD = 3,34) gadi un AST pacientu grupā (n = 88), vidējais bērna vecums bija 8,3 (SD = 3,46) gadi.

Pēc diagnožu sadalījuma visiem pētījumā iekļautajiem AST pacientiem, bērnības autisma grupā bija 58 (38,66%) pacienti, Aspergera sindroma grupā četri (2,66%) pacienti, bet AST grupā 88 (58,66%) pacienti.

Salīdzinot dzimuma sadalījumu tika iegūti dati, kas atspoguļoti 4.2. tabulā.

Dzimuma sadalījums starp diagnožu grupām

Dzimums	AST apakštīps	Bērnības autisms	Asperģera sindroms	AST
Zēni (n = 121)		47 (38,84%)	3 (2,47%)	71 (58,67%)
Meitenes (n = 29)		11 (37,93%)	1 (3,45%)	17 (58,62%)
Kopā (n = 150)		58	4	88

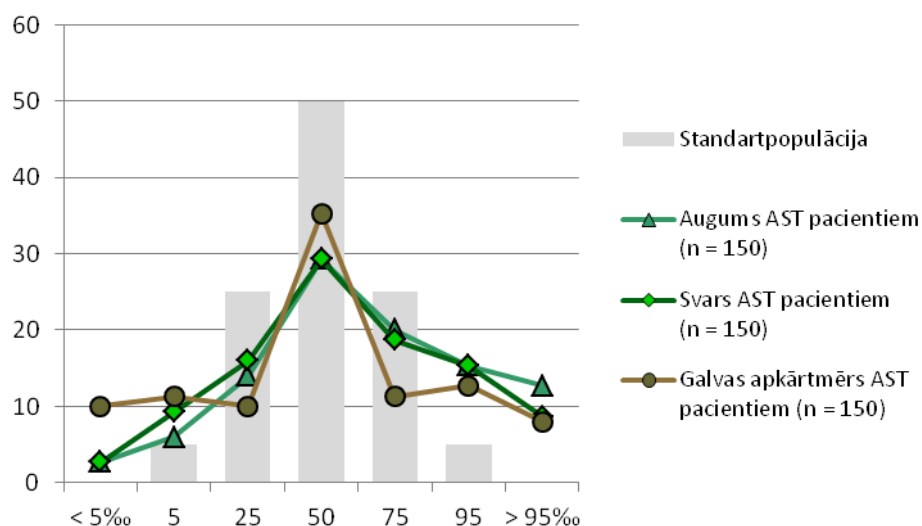
Savukārt, analizējot dzimumu procentuālo sadalījumu starp visiem AST apakštīpiem, novēroja, ka bērnības autisms zēniem ir sastopams 81,03%, bet meitenēm 18,96%, Asperģera sindroms zēniem ir sastopams 75%, bet meitenēm 25%, AST zēniem tika konstatēts 80,68%, savukārt meitenēm 19,32% gadījumos no visiem AST apakštīpiem. Statistiski ticamas atšķirības starp dzimumu grupām AST gadījumā netika konstatētas ($p = 0,485$).

Analizējot AST pacientu antropometrisko mērījumu percentīlu rādītājus, kā normas variants tika pieņemts no piektās līdz 95‰ (percentīlei). Rezultāts, kurš bija mazāks par 5‰ tika pieņemts kā mazs savam vecumam, savukārt lielāks par 95‰, tika definēts kā liels savam vecumam (Jones, 2006; Krūmiņa *et al.*, 2007). Analizēja iegūtās AST pacientu un standartpopulācijas auguma, svara, galvas apkārtmēra percentīlu procentuālo attiecību. Iegūtie rezultāti atspoguļoti 4.3. tabulā.

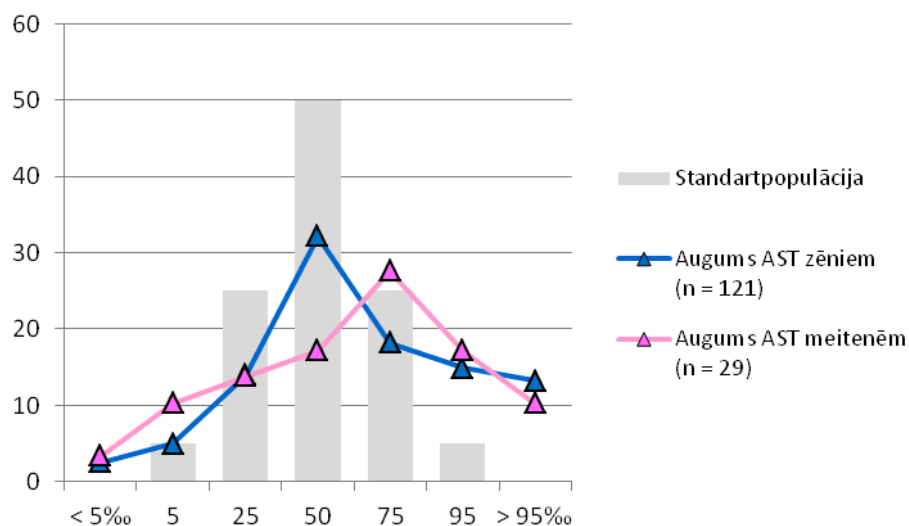
AST pacientu antropometrisko mērījumu procentuālais sadalījums

Percentīles	Augums AST pacientiem (n = 150) %	Svars AST pacientiem (n = 150) %	Galvas apkārtmērs AST pacientiem (n = 150) %	Augums AST zēniem (n = 121) %	Svars AST zēniem (n = 121) %	Galvas apkārtmērs AST zēniem (n = 121) %	Augums AST meitenēm (n = 29) %	Svars AST meitenēm (n = 29) %	Galvas apkārtmērs AST meitenēm (n = 29) %
< 5‰	2,7	2,7	10	2,5	2,5	9,9	3,4	3,4	10,3
5	6	9,3	11,3	5	9,9	8,3	10,3	6,9	24,1
25	14	16	10	14	15,7	10,7	13,8	17,2	6,9
50	29,3	29,3	35,3	32,2	29,8	36,4	17,2	27,6	31
75	20	18,7	11,3	18,2	15,7	13,2	27,6	31	10,3
95	15,3	15,3	12,7	14,9	17,4	14	17,2	6,9	6,9
> 95‰	12,7	8,7	8	13,2	9,1	7,4	10,3	6,9	10,3

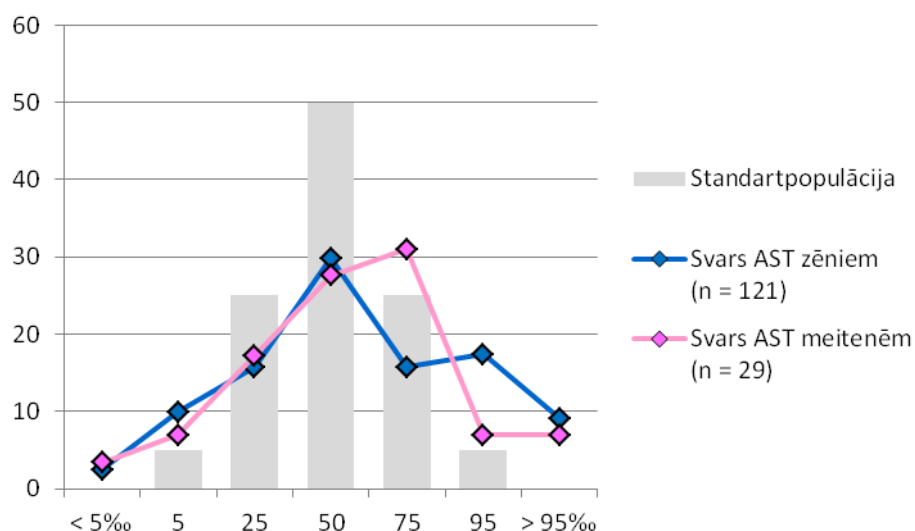
Savstarpēji salīdzināja antropometrisko mērījumu procentīļu rādītāju dzimuma sadalījumu attiecībā pret standartpopulācijas sadalījumu. Salīdzinātie auguma, svara un galvas apkārtmēra rādītāji attēloti 4.1, 4.2., 4.3. un 4.4. attēlos.



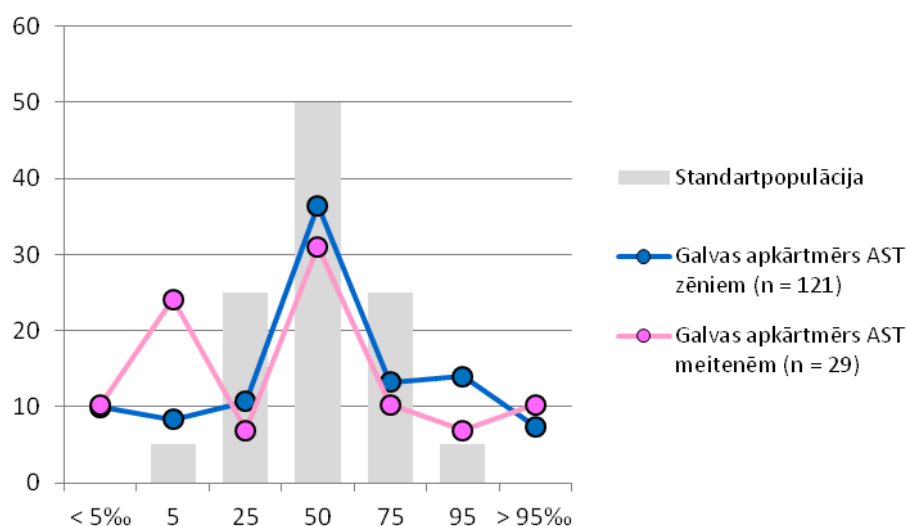
4.1. att. AST pacientu un standartpopulācijas antropometrisko mērījumu procentuālais sadalījums



4.2. att. AST pacientu auguma procentīļu dzimumu procentuālais sadalījums un salīdzinājums



4.3. att. AST pacientu svara percentīlu dzimumu procentuālais sadalījums un salīdzinājums



4.4. att. AST pacientu galvas apkārtmēra percentīlu dzimumu procentuālais sadalījums un salīdzinājums

Kā biežākās blakus slimības AST pacientiem analizēja garīgās atpalcības pakāpes un epilepsijas lēkmju biežumu. Konstatēja, ka no visiem AST pacientiem normāls intelekta (IQ > 70) līmenis bija 29 (18,66%) pacientiem, viegla (IQ 50–69) garīga atpalcība 77 (51,33%) pacientiem, vidēji smaga (IQ 35–49) garīga atpalcība 34 (22,66%) pacientiem un smaga (IQ 24–30) garīga atpalcība desmit (6,66%) pacientiem.

Salīdzinot IQ sadalījumu pa dzimumiem, statistiski nozīmīgas atšķirības nekonstatēja, dati atspoguļoti 4.4. tabulā. Tomēr novēroja, ka meiteņu grupā procentuāli biežāka bija vieglas un smagas pakāpes garīgā atpalcība nekā zēnu grupā.

4.4. tabula

IQ sadalījums pa AST pacientu dzimumiem

Garīgās atpalcības pakāpe	zēniem (n = 121)	meitenēm (n = 29)	p vērtība
Normāls IQ līmenis	26 (21,48%)	3 (10,34%)	0,2019
Viegla (IQ 50–69)	59 (48,76%)	18 (62,1%)	0,2202
Vidēji smaga (IQ 35–49)	30 (24,79%)	4 (13,79%)	0,3223
Smaga (IQ 24–30)	6 (4,95%)	4 (13,79%)	0,1021

Analizējot medicīnisko ierakstu datus par epilepsijas lēkmju biežumu anamnēzē visiem pētījumā iekļautajiem AST apakštipu pacientiem, novēroja, ka 135 (90%) pacientiem epilepsijas lēkmes netika konstatētas, astoņiem (5,33%) pacientiem bijušas febrīlas epilepsijas lēkmes agrīnā bērna vecumā, diviem (1,33%) pacientiem konstatētas atsevišķas epilepsijas lēkmes dzīves laikā, bet pieciem (3,33%) pacientiem diagnosticēta epilepsija. Analizējot pa dzimumiem, epilepsijas lēkmes AST zēnu grupā konstatētas astoņiem pacientiem (6,61%), bet AST meiteņu grupā tās novērotas septiņiem pacientiem (24,13%). Salīdzinot pa dzimumu grupām, epilepsijas lēkmes statistiski ticami biežāk novēroja AST meiteņu grupā ($p = 0,0106$).

Salīdzinot epilepsijas lēkmju biežumu AST pacientiem un garīgās atpalcības pakāpi, statistiski ticamu atšķirību novēroja, ka vieglas garīgas atpalcības grupā epilepsijas lēkmes sastopamas retāk ($p = 0,057$), bet biežāk tās konstatēja smagas garīgas atpalcības grupā ($p = 0,009$) (sk. 4.5. tabulu).

Epilepsijas lēkmju biežums AST pacientiem ar dažādas pakāpes garīgu atpalcību

Garīgās atpalcības pakāpe	Bez epilepsijas lēkmēm (n = 135)	Ar epilepsijas lēkmēm (n = 15)	p vērtība
Normāls IQ līmenis	26 (19,25%)	3 (20%)	1,000
Viegla (IQ 50–69)	73 (54,07%)	4 (26,66%)	0,057
Vidēji smaga (IQ 35–49)	30 (22,22%)	4 (26,66%)	0,746
Smaga (IQ 24–30)	6 (4,44%)	4 (26,66%)	0,009

Analizējot valodas attīstības traucējumus, konstatēja, ka 148 (98,66%) pacientiem diagnosticēti gan ekspresīvās, gan receptīvās valodas attīstības traucējumi un tikai diviem (1,33%) pacientiem no AST grupas, valodas traucējumi netika novēroti. Analizējot pēc dzimuma sadalījuma, AST zēnu grupā valodas traucējumi konstatēti 119 pacientiem (98,34%), bet AST meiteņu grupā tos konstatēja visām 29 pacientēm (100%).

4.2. Izvēlēto SNP asociācijas analīze

Pētījuma otrajā fāzē 95 pētījumā iekļautiem AST pacientiem, no kuriem bija iegūts bioloģiskais materiāls un kuru vecāki bija piekrituši bērna bioloģiskā materiāla analīzei un 190 nejaušināti atlasītiem, nosacīti veseliem kontroles grupas pārstāvjiem veikta genotipēšana četriem ģenētiskiem marķieriem: rs11212733, rs1394119, rs2421826 un rs1454985.

Analizējot genotipa sadalījumu, pēc Hārdija – Veinberga vienādojuma, atklāja, ka alēļu sadalījums AST pacientu un kontroles grupā ir līdzsvarā, izņemot rs1394119 polimorfismu ($p < 0,05$), tādēļ šis polimorfisms no tālākā pētījuma tika izslēgts. Iegūtie rezultāti atspoguļoti 4.6. tabulā.

Analizēto SNP alēļu gadījuma kontroles asociācijas rezultāti

SNP	Hromosomālā lokalizācija	MAF pacientiem	MAF kontrolei	χ^2	P vērtība	P koriģētā	OR	95% CI
rs11212733 g.12041239 T>A	11q22.3	0,552	0,432	6,982	0,008	0,024	1,625	1,13–2,31
rs2421826 g.35170605 G>A	11p13	0,352	0,432	0,554	0,456	1,0	1,154	0,79–1,68
rs1454985 g.4205023 T>C	15q13.3-q14	0,447	0,399	1,118	0,291	1,0	1,217	0,84–1,75

SNP (*single nucleotide polymorphism*) – viena nukleotīda polimorfisms

MAF(*minor allele frequency*) – retākās alēles biežums

χ^2 – Hī kvadrāts

$P_{\text{korģētā}}$ –Bonferroni korekcija

CI – ticamības intervāls

OR – izredžu attiecība

Analizējot izvēlētos marķierus, tika atrasts, ka SNP rs11212733 ir statistiski nozīmīgi asociēts ar AST ($p = 0,008$, $p_{\text{koriģētā}} = 0,024$), savukārt rs2421826 ($p = 0,456$, $p_{\text{koriģētā}} = 1,0$) un rs1454985 ($p = 0,291$, $p_{\text{koriģētā}} = 1,0$) polimorfismam netika konstatēta statistiski nozīmīga asociācija ar AST.

Analizējot haplotipus rs11212733/rs2421826, kuri lokalizēti 11. hromosomā, haplotipu biežumu, novēroja, ka biežākais haplotips AST pacientu grupā ir A/A ($p = 0,122$), bet kontroles grupā T/A ($p = 0,012$), atšķirība starp grupām bija statistiski nozīmīga, iegūtie dati atspoguļoti 4.7. tabulā.

4.7. tabula

Haplotipu biežums AST un kontroles grupās

Haplotips rs11212733/ rs2421826	Haplotipu biežums		χ^2	p-vērtība
	AST pacienti	Kontrole		
A/G	0,185	0,131	2,774	0,096
T/G	0,167	0,18	0,139	0,708
A/A	0,367	0,301	2,385	0,122
T/A	0,281	0,389	6,244	0,012

Veicot AST lineārās regresijas analīzi, lai noteiktu AST asociāciju ar analizēto SNP polimorfismu, kā kovariātus izmantoja AST pacientu vecumu, dzimumu, IQ līmeni un anamnēzē konstatētās epilepsijas lēkmes. Veicot datu analīzi, statistiski ticama asociācija netika atklāta, rezultāti nav atspoguļoti.

4.3. Farmakoģenētiskā marķiera *CYP2D6* analīze

Farmakoģenētikas mērķis bija noteikt *CYP2D6**4, *CYP2D6**41 alēļu biežumu AST pacientu un kontroles grupās, kā arī izvērtēt šo alēļu nozīmi izvēlētajās otrās paaudzes antipsihotika risperidona terapijas efektivitātes prognozei.

Medikamentozās terapijas efektivitātes izvērtēšanai, ņemot vērā, ka pētījums bija veikts 2011. gadā un rekrutēti 113 AST pacienti, šiem pacientiem un 190 kontroles grupas pārstāvjiem noteica citohromgrupas P450 psihotropo medikamentu metabolizācijas pakāpi. Analizējot abas grupas, statistiski ticama atšķirība starp pacientu un kontroles grupām netika atklāta. *CYP2D6**4 T alēles biežums pacientu

grupā bija 0,191, bet kontroles grupā 0,188 ($p = 0.933$, $OR = 1,019$), *CYP2D6*41* T alēles biežums pacientu grupā bija 0,113, bet kontroles grupā 0,053 ($p = 0.012$, $OR = 2,257$).

Analizējot *CYP2D6*41/CYP2D6*4* (rs28371725/rs3892097) haplotipu biežumu starp AST pacientiem ($n = 113$) un kontroles grupu ($n = 190$), statistiski ticamu atšķirību neatklāja. Biežākais haplotips abās grupās bija *CYP2D6*41/CYP2D6*4* (rs28371725/rs3892097) C/C biežums pacientu grupā bija 0,729 ($p = 0,428$), bet haplotipu *CYP2D6*41/CYP2D6*4* (rs28371725/rs3892097) TT nekonstatēja ne kontroles, ne pacientu grupās (4.8. tabula).

4.8. tabula

Haplotipu biežums starp AST pacientu un kontroles grupām

Haplotips <i>CYP2D6*41/CYP2D6*4</i> (rs28371725/rs3892097)	Haplotipu biežums		χ^2	p vērtība
	AST pacienti	Kontrole		
T/T	0	0	NA	NA
C/T	0,174	0,187	0,129	0,718
T/C	0,096	0,053	3,519	0,061
C/C	0,729	0,76	0,627	0,428

NA – nav attiecināms

AST pacientu grupā 83 pacienti nesaņēma medikamentozo terapiju, jo AST traucējumu ārstēšanā izmantoja nemedikamentozās terapijas metodes. 30 pacienti medikamentozā terapijā saņēma antipsihotisku medikamentu risperidonu. Šo grupu veidoja 23 zēni un septiņas meitenes vecumā no četriem līdz 15 gadiem (vidējais vecums 7,16 gadi).

Lai analizētu polimorfismu saistību ar terapijas efektivitāti, AST pacienti, kuri lietoja risperidonu monoterapijā, tika sadalīti divās grupās, kuriem terapija bija efektīva ($n = 28$) un kuriem bija neefektīva ($n = 2$).

Ņemot vērā, ka neefektīva risperidona terapija konstatēta tikai diviem pacientiem, statistiskās metodes datu salīdzināšanai nav izmantotas, bet analizējot *CYP2D6*41* alēles genotipus efektīvas risperidona terapijas grupā, atklāja, ka biežākais bija CC genotips (85,7%). Neefektīvas risperidona terapija grupā *CYP2D6*41*

TT genotips netika atrasts, vienam pacientam konstatēja CT genotipu, bet otram CC genotipu. Savukārt, analizējot *CYP2D6*4* alēles genotipus efektīvas risperidona terapijas grupā, biežākais genotips bija CC (78,6%), bet neefektīvas risperidona terapijas grupā, TT un CT genotips netika atklāts, taču CC genotips konstatēts diviem pacientiem.

Tālākajā pētījumā izveidotajai AST pacientu grupai, kuri lietoja risperidonu monoterapijā, analizēja risperidona blaknes. Konstatēto blakņu rezultātā medikamentozo terapiju ar risperidonu bija nepieciešams atcelt un mainīt pret citas grupas psihotropiem medikamentiem, kurus atļauts lietot bērnu psihiatrijas praksē.

Analizējot blakņu biežumu, 23 (76,66%) pacientiem blaknes netika novērotas. Savukārt septiņiem pacientiem (23,33%) konstatēja blaknes, līdz ar to veikta terapijas korekcija. Pieciem pacientiem (16,6%) konstatēja hiperprolaktinēmiju, vienam pacientam (3,33%) novēroja svara pieaugumu un vienam pacientam (3,33%) bradikardiju. Neiroloģiskie simptomi netika konstatēti nevienam no AST pacientam (sk. 4.9. tabulu).

Risperidona blakņu un genotipa sadalījums pa dzimuma un vecuma grupām

Dzimums	Vecums	IQ	Ķermeņa svars kg	CYP2D6*4 (C>T)	CYP2D6*41 (C>T)	Blaknes
M	6	35 – 49	15,0	CC	TT	–
Z	9	50 – 69	30,0	CC	TT	–
Z	9	35 – 49	28,0	CC	TT	–
Z	9	35 – 49	24,0	CT	CC	–
Z	11	50 – 69	33,0	CT	CC	Bradikardija
Z	7	≥ 70	20,0	TT	CC	–
Z	7	50 – 69	28,0	CT	CC	–
Z	8	≥ 70	30,0	CC	CC	–
M	7	50 – 69	20,0	CC	CC	↑PRL
M	6	50 – 69	23,0	CC	CC	↑PRL
Z	7	35 – 49	18,0	CC	CC	–
Z	9	35 – 49	23,0	CC	CC	–
Z	7	35 – 49	16,0	CC	CC	–
M	15	35 – 49	61,0	CC	CT	↑PRL
Z	6	≥ 70	21,0	CC	CT	–
Z	11	≥ 70	34,0	CT	CC	–
M	4	35 – 49	13,5	CT	CC	–
Z	8	35 – 49	24,0	CC	CC	–
Z	4	50 – 69	15,0	CC	CC	–
Z	7	35 – 49	22,0	CC	CC	Virsvars
Z	8	50 – 69	19,0	CC	CC	–
M	5	50 – 69	16,0	CC	CC	–
M	5	50 – 69	17,0	CC	CC	–
Z	7	50 – 69	24,0	CC	CC	↑PRL
Z	7	35 – 49	21,0	CC	CC	–
Z	5	35 – 49	20,0	CC	CC	–
Z	4	35 – 49	23,0	CC	CC	–
Z	4	35 – 49	18,7	CC	CC	–
Z	7	≥ 70	20,0	CC	CC	–
Z	6	50 – 69	19,0	CC	CC	↑PRL

Z – zēns

M – meitene

↑PRL – paaugstināts prolaktīna līmenis

– - nav konstatētas blaknes

Salīdzinot *CYP2D6*41/CYP2D6*4* (rs28371725/rs3892097) CT haplotipu efektīvas un neefektīvas risperidona grupās, haplotipa *CYP2D6*41/CYP2D6*4* (rs28371725/rs3892097) CT saistību ar AST traucējumiem un farmakoterapijas efekti - vitāti nav konstatēti, līdz ar to šo nevar izmantot terapijas prognozei mūsu grupai (4.10. tabula).

4.10. tabula

***CYP2D6*41/CYP2D6*4* (rs28371725/ rs3892097) haplotipu saistība ar risperidona efektivitāti un izraisītajām blaknēm**

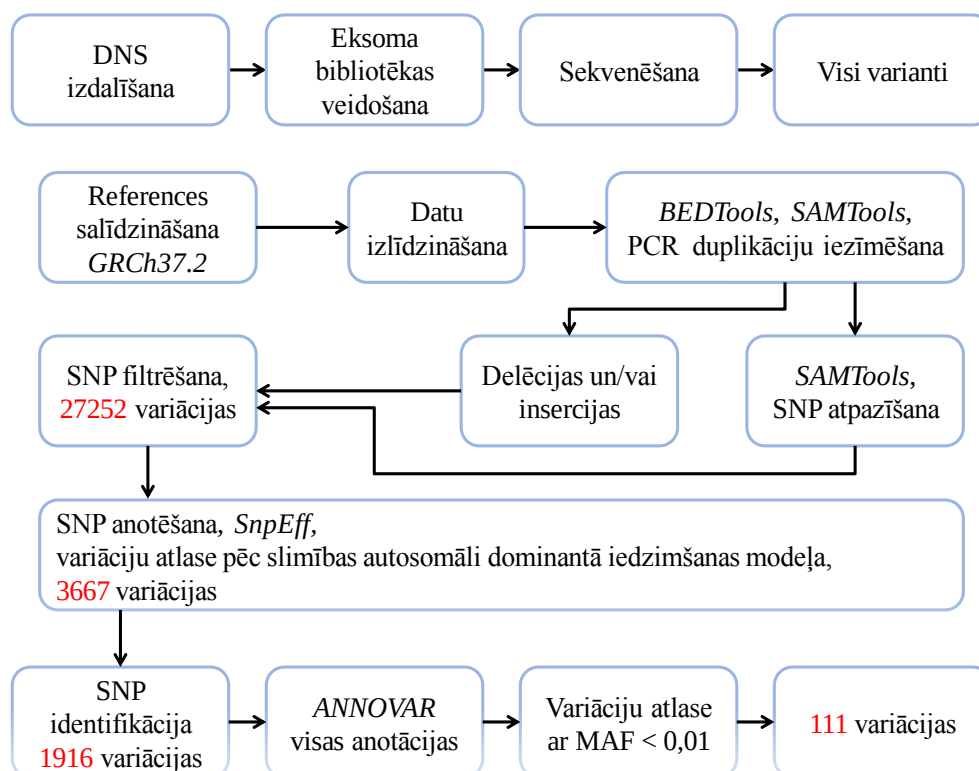
Haplotips <i>CYP2D6*41/ CYP2D6*4</i> (rs28371725/ rs3892097)	Haplotipu biežums pacientu grupās		<i>p</i> vērtība	Haplotipu biežums pacientu grupās		<i>p</i> vērtība
	Efektīva terapija	Neefektīva terapija		Blaknes	Nav blaknes	
C/T	0	0,125	0,416	0,062	0,136	0,431
T/C	0,25	0,125	0,452	0,062	0,159	0,331
C/C	0,75	0	1	0,875	0,704	0,177

Analizējot *CYP2D6*4* alēli risperidona blakņu grupā T alēles biežums bija 0,07143, savukārt grupā bez risperidona blaknēm, T alēles biežums bija 0,1522 ($p = 0,4365$, $OR = 0,4286$, $95\%CI=0,0481-3,189$). Analizējot *CYP2D6*41* alēli, risperidona blakņu grupā, T alēles biežums bija 0,07143, bet grupā bez risperidona blaknēm T alēles biežums bija 0,1304 ($p = 0,5471$, $OR = 0,5128$, $95\%CI = 0,0564-4,663$). Pacienti, kuriem konstatēja risperidona blaknes, kā arī pacienti bez risperidona blaknēm, analizējot haplotipu *CYP2D6*41/CYP2D6*4* (rs28371725/rs3892097) C/T statistiski nozīmīgu saistību neatklāja ($p = 0,431$) (4.10. tabula).

Risperidona vidējā deva, ko pacienti lietoja bija 0,6 mg/dn ($SD = 0,56$). Visiem pacientiem, kuri lietoja risperidonu monoterapijā, ASAT un ALAT rādītāji bija normas robežās. Pacienti, kuri monoterapijā lietoja risperidonu, lineāras regresijas analizē analizēja risperidona devu, ASAT, ALAT rādītājus saistībā ar *CYP2D6*4*, *CYP2D6*41* alēlēm, kā kovariāti tika izmantoti pacienta dzimums, vecums un svars. Statistiski nozīmīgus rezultātus neieguva, rezultāti nav atspoguļoti.

4.4. Eksoma sekvenēšanas analīze ģimenei ar Aspergera sindromu

Ģimenē, kurā konstatēts Aspergera sindroms divās paaudzēs, abiem vecākiem un slimajam bērnam veica pilnu eksoma sekvenēšanu un iegūto datu analīzi. Eksoma sekvenēšanā iegūtie dati tika salīdzināti pret hg19 cilvēka genomu un paraugi III-3, III-4, IV-3 pārklāja references genoma eksomu par 91,63%, 91,66% un 91,78%. (sk. 4.5. att).



4.5. att. Eksoma datu analīzes algoritms

SNP filtrēšanas un anotēšanas rezultātā atbilstoši slimības dominantajam iedzimšanas modelim tika atlasīti potenciālie AST SNP varianti 111 gēnos.

SNP šajos gēnos izraisīja aminoskābju nomaiņu jeb *missens* mutācijas. Tālākajā darba procesā anotēto SNP saraksts tika salīdzināts ar jau eksistējošām, uz pierādījumiem balstītām datubāzēm, lai atlasītu potenciāli nozīmīgākos SNP, kuri ekspresējas CNS un varētu būt saistīti ar AST. Anotētie 111 SNP varianti salīdzināti ar:

- 1) *AutDB* (*autdb*, 2013),
- 2) *OMIM* (*omim*, 2013)
- 3) *Ensembl* (*ensembl*, 2013)
- 4) *GeneCards* (*genecards*, 2013)
- 5) *EMBL-EBI* (*ebi*, 2013)

Kā svarīgākā tika izvēlēta AST datu bāze *AutDB*. Iegūtie rezultāti apkopoti 4.11. tabulā.

4.11. tabula

Ar AST potenciāli saistīto gēnu atlasē rezultāti.

N.p.k.	Gēns	Ekspresējas CNS	Aprakstīti <i>AutDB</i>
1.	<i>AGPAT5</i>	—	—
2.	<i>KDSR</i>	—	—
3.	<i>ABCB5</i>	—	—
4.	<i>BANK1</i>	—	—
5.	<i>CD109</i>	—	—
6.	<i>CBLB</i>	—	—
7.	<i>D2HGDH</i>	—	—
8.	<i>DDX25</i>	—	—
9.	<i>GPR3</i>	—	—
10.	<i>GRK4</i>	—	—
11.	<i>KIAA0040</i>	—	—
12.	<i>KIAA0513</i>	+ <i>Lauriat et al., 2006</i>	—
13.	<i>KIAA1107</i>	—	—
14.	<i>MARK3</i>	—	—
15.	<i>MICALL2</i>	—	—
16.	<i>NMI</i>	—	—
17.	<i>NARG2</i>	—	—
18.	<i>NKPD1</i>	—	—
19.	<i>OTUD7B</i>	—	—
20.	<i>RAP1GAP</i>	—	—
21.	<i>STIL</i>	—	—
22.	<i>SEC24D</i>	—	—
23.	<i>SRCAP</i>	—	—
24.	<i>STARD8</i>	—	—
25.	<i>TAF8</i>	—	—

N.p.k.	Gēns	Ekspresējas CNS	Aprakstīti <i>AutDB</i>
57.	<i>LRFN2</i>	+ <i>Nagase et al., 2009</i>	—
58.	<i>KDM4A</i>	—	—
59.	<i>MRPS9</i>	—	—
60.	<i>MAP4K1</i>	—	—
61.	<i>MUC6</i>	—	—
62.	<i>MPDZ</i>	+ <i>Al-Dosari et al., 2013</i>	—
63.	<i>MLL3</i>	—	—
64.	<i>MYOM3</i>	—	—
65.	<i>MYO1D</i>	—	—
66.	<i>NFATC2</i>	—	—
67.	<i>NCOA2</i>	—	—
68.	<i>OR10G4</i>	—	—
69.	<i>PTH2R</i>	—	—
70.	<i>PPRC1</i>	—	—
71.	<i>PLD5</i>	+ <i>Anney et al., 2010</i>	—
72.	<i>PABPC1</i>	—	—
73.	<i>PNLDC1</i>	—	—
74.	<i>PAOX</i>	—	—
75.	<i>KCNJ10</i>	+ <i>Sicca et al., 2011</i>	+ <i>Sicca et al., 2011</i>
76.	<i>KCNH6</i>	+ <i>Papa et al., 2003</i>	—
77.	<i>PLOD2</i>	—	—
78.	<i>PRKCB</i>	—	—
79.	<i>PPP2R5B</i>	—	—
80.	<i>PCDHA11</i>	—	—
81.	<i>PCDHA12</i>	—	—

N.p.k.	Gēns	Ekspresējas CNS	Aprakstīti AutDB
26.	<i>UBAC2</i>	—	—
27.	<i>WDR43</i>	—	—
28.	<i>ABR</i>	—	—
29.	<i>AP1B1</i>	—	—
30.	<i>AP3D1</i>	—	—
31.	<i>ABTB2</i>	—	—
32.	<i>ANKRD55</i>	—	—
33.	<i>AADAC</i>	—	—
34.	<i>BCAR3</i>	—	—
35.	<i>CAMSAP1</i>	+ <i>Baines et al.,</i> 2009	—
36.	<i>CMYA5</i>	—	—
37.	<i>CHIT1</i>	—	—
38.	<i>C9orf114</i>	—	—
39.	<i>CROCC</i>	—	—
40.	<i>CLTCL1</i>	—	—
41.	<i>COL6A6</i>	—	—
42.	<i>COL6A3</i>	—	—
43.	<i>ARPP21</i>	+ <i>Rakhilin, 2004</i>	—
44.	<i>DAP</i>	—	—
45.	<i>DNAH1</i>	—	—
46.	<i>ETFA</i>	—	—
47.	<i>EXD3</i>	—	—
48.	<i>FOXH1</i>	—	—
49.	<i>GSTM3</i>	—	—
50.	<i>GUCY2F</i>	—	—
51.	<i>HERC6</i>	—	—
52.	<i>FAM193B</i>	—	—
53.	<i>ITGA11</i>	—	—
54.	<i>PAPL</i>	—	—
55.	<i>KRT10</i>	—	—
56.	<i>KRT74</i>	—	—

N.p.k.	Gēns	Ekspresējas CNS	Aprakstīti AutDB
82.	<i>PCDHA10</i>	+ <i>Morrow et al.,</i> 2010	+ <i>Morrow et al.,</i> 2010
83.	<i>PCDHA1,</i> <i>PCDHA4</i>	—	—
84.	<i>PCDHA2</i>	—	—
85.	<i>PCDHA3</i>	—	—
86.	<i>PCDHA5</i>	—	—
87.	<i>PCDHA7</i>	—	—
88.	<i>PCDHA6,</i> <i>PCDHA8</i>	—	—
89.	<i>PCDHA9</i>	+ <i>Marshall et al.,</i> 2008	+ <i>Marshall et al.,</i> 2008
90.	<i>PCDHGA7</i>	—	—
91.	<i>RNF175</i>	—	—
92.	<i>MYO5B</i>	—	—
93.	<i>SCN9A</i>	—	—
94.	<i>SLC17A8</i>	—	—
95.	<i>SLC25A41</i>	—	—
96.	<i>SLC6A12</i>	—	—
97.	<i>SHH</i>	—	—
98.	<i>SRA1</i>	—	—
99.	<i>SUV420H1</i>	—	—
100.	<i>SVEP1</i>	—	—
101.	<i>TEKT5</i>	—	—
102.	<i>TNC</i>	—	—
103.	<i>TEX9</i>	—	—
104.	<i>TGM1</i>	—	—
105.	<i>TMEM82</i>	—	—
106.	<i>TDRD9</i>	—	—
107.	<i>USP25</i>	—	—
108.	<i>VWDE</i>	—	—
109.	<i>ZNF335</i>	—	—
110.	<i>ZNF653</i>	—	—
111.	<i>ZNF880</i>	—	—

Rezultātā tika atlasīti astoņu gēnu varianti, kuri, pēc literatūras datiem, ekspresējas CNS. No tiem divi varianti ir aprakstīti AST iespējamajos kandidātgēnos – **KCNJ10**, **PCDHA9-10**, kuri iekļauti AST datu bāzē *AutDB* (4.11. tabula).

Tālākajā procesā astoņiem gēnu variantiem tika noteikta references secība, nukleotīdu pozīcija kodējošās secībā, aminoskābju izmaiņas olbaltumvielā un alēles nomaiņas biežumu visu populāciju eksoma sekvenēšanas projektā (*annovar*, 2013). Iegūtie dati apkopoti 4.12. tabulā.

4.12. tabula

Potenciālo AST kandidātgēnu variantu anotācija

Gēns/SNP	Kodējošās aminoskābes maiņa (references secība, nukleotīdu pozīcija kodējošā secībā, aminoskābju nomaiņa olbaltumvielā)	ESP5400_ALL¹ MAF
<i>ARPP21</i> (rs151173813)	NM_001267617:c.G1726A:p.A576T	0,003439
<i>KCNH6</i> (rs138601922)	NM_030779:c.A161G:p.Y54C	0,003997
<i>KCNJ10</i> (rs115466046)	NM_002241:c.G53A:p.R18Q	0,01227
<i>KIAA051</i> (rs139487660)	NM_014732:c.G37A:p.D13N	0,002138
<i>LRFN2</i> (nav rs)	NM_020737:c.G983A:p.R328H	0,000093
<i>PCDHA9-10</i> (rs79247475)	NM_018898:c.C2558G:p.P853R	0,003067
<i>MPDZ</i> (nav rs)	NM_001261406:c.A4525G:p.I1509V	0,000104
<i>PLD5</i> (rs140243407)	NM_001195812:c.G13A:p.A5T	0,000327

¹ *ESP5400_ALL* — MAF in Exome Sequencing Project dataset (5,400 exomes) for all populations — visu populāciju Eksoma Sekvenēšanas projekta MAF (alēles nomaiņas biežums) (*annovar*, 2013)

Tālākajā procesā tika veikta atlasīto gēnu variantu sekvenēšana pēc Sangera metodes, pārējiem ģimenes locekļiem. Tika izvēlēts autosomāli dominantais pārmantošanas modelis, ņemot vērā ģimenes anamnēzes datus, ka slimība ir bērnu māte. Rezultātā, ģimenei ar Asperģera sindromu tika atrasti pieci SNP potenciāli nozīmīgos gēnos: *KCNJ10*, *ARPP21*, *PLD5*, *KCNH6*, *MPDZ*.

Lai noteiktu pārējo SNP iespējamo patogenitāti, tika noteikta polimorfisma vieta transkriptos, kas kodē olbaltumvielu, izmantojot *Ensembl* (*ensembl*, 2013) un *Mutalyzer* (*mutalyzer*, 2013) datu bāzes. Atrastās potenciāli nozīmīgās izmaiņas tika analizētas tiešsaistē ar *SIFT* un *Polyphen* datubāzēm, kā rezultātā tika atrasts, ka iespējama patogēna nomaiņa varētu būt *LRFN2*, *KIAA0513* un *KCNH6* gēnos (sk. tabulu 4.13.). Trīs gēnus *KIAA051*, *LRFN2*, *PCDHA9-10* izslēdza, jo šie varianti tika atrasti arī veselajiem ģimenes locekļiem – tēvam un bērnam. Pēc veiktajiem atlases etapiem tika atrasts, ka mutācija *KCNH6* gēnā varētu būt iemesls Asperģera sindroma attīstībai.

Potenciālo kandidātģēnu variantu patogenitātes analīze

Ģēns	SNP identifikācija	SNP hromosomālā pozīcija	SNP ietekme transkriptos un kodētajās olbaltumvielās	SNP iespējamā patogenitāte	
				<i>SIFT</i> ¹	<i>Polyphen</i> ¹
<i>KCNJ10</i>	rs115466046	NC_000001.10:g.160012270 C>T	NM_002241.4(KCNJ10_i001): c.53G>A, p.(Arg18Gln)	Labdabīga 0.34	Labdabīga 0.098
<i>PLD5</i>	rs140243407	NC_000001.10:g.242383388 C>T	NM_001195811.1(PLD5_i001):c.451G>A,p.(Ala151Thr)	Labdabīga 0.33	Iesp. ļaudabīga 0.749
			NM_001195812.1(PLD5_i001): c.13G>A, p.(Ala5Thr)	ND	ND
			NM_152666.2(PLD5_i001): c.637G>A, p.(Ala213Thr)	Labdabīga 0.26	Iesp. ļaudabīga 0.84
<i>ARPP21</i>	rs151173813	NC_000003.11:g.35780947 G>A	NM_152666.1(PLD5_i001): c.361G>A, p.(Ala121Thr)	Labdabīga 0.18	Iesp. ļaudabīga 0.84
			NM_001267617.1(ARPP21_i001):c.1726G>p.(Ala576Thr)	Labdabīga 0.46	Labdabīga 0.023
			NM_001267619.1(ARPP21_i001):c.1786G>A,p.(Ala596Thr)	Labdabīga 0.48	Labdabīga 0.037
<i>PCDHA</i>	rs79247475 ^a	NC_000005.9:g.140362125 C>G	NM_016300.4(ARPP21_i001): c.1783G>A,p.(Ala595Thr)	Labdabīga 0.29	Labdabīga 0.007
<i>LRFN2</i>	TMP_ESP_6_40399870	NC_000006.11:g.40399870 C>T	NM_018905.2(PCDHA2_i001): c.2513C>G, p.(Pro838Arg)	ND	ND
			NM_020737.1(LRFN2_i001): c.983G>A, p.(Arg328His)	Ļaudabīga 0.01	Ļaudabīga0 .981

4.13. tabulas nobeigums

Gēns	SNP identifikācija	SNP hromosomālā pozīcija	SNP ietekme transkriptos un kodētajās olbaltumvielās	SNP iespējamā patogenitāte	
				<i>SIFT</i> ¹	<i>Polyphen</i> ¹
MPDZ	TMP_ESP_9_13126523	NC_000009.11:g.13126523 T>C	NM_001261406.1(MPDZ_i001): c.4525A>G, p.(Ile1509Val)	Labdabīga 1	Labdabīga 0.001
			NM_001261407.1(MPDZ_i001): c.4525A>G, p.(Ile1509Val)	Labdabīga 1	Labdabīga 0.001
			NM_003829.4(MPDZ_i001): c.4624A>G, p.(Ile1542Val)	Labdabīga 1	Labdabīga 0.001
			NM_003829.3(MPDZ_i001): c.4624A>G, p.(Ile1542Val)	Labdabīga 1	Labdabīga 0.001
KIAA0513	rs139487660	NC_000016.9:85100714 G>A	NP_055547.1: c.37G>A, p.Asp13Asn	Ļaundabīga 0.03	Ļaundabīga 0.991
KCNH6	rs138601922	NC_000017.10:g.61601584 A>G	NM_030779.2(KCNH6_i001): c.161A>G, p.(Tyr54Cys)	Ļaundabīga 0	Ļaundabīga 0.974
			NM_173092.1(KCNH6_i001): c.161A>G, p.(Tyr54Cys)	Ļaundabīga 0	Ļaundabīga 0.991

¹ dati no *Ensembl* datubāzes (*ensembl*, 2013)

ND – nav datu

^a pēc datiem *NCBI* datu bāzē iespējams, ka SNP atrodas gēna *PCDHA* paralogā, tādēļ dati par šo SNP būtu visticamāk jāvērtē kā artefakti

5. DISKUSIJA

Veiktajā pētījumā iekļautā AST pacientu grupa nepārstāv visu Latvijas AST populāciju, pētīta izveidotā AST paraugkopa. Pētījuma dati neatspoguļo informāciju par visiem AST Latvijā, bet ļauj spriest par AST kopējām tendencēm. No pētījuma izslēgti pacienti ar sindromālo autismu, tālākajā procesā analizēti AST pacienti ar nesindromālo jeb idiopātisko autismu. Izveidota fenotipu un genotipu raksturojoša datu bāze, analizēti antropometriskie parametri, izvēlēto polimorfismu asociācija ar AST. Izvērtēta nemedikamentozās un medikamentozās terapijas izvēle, analizēta medikamentozā terapijā izvēlētajā otrās paaudzes antipsihotika risperidona efektivitāte un biežākās blaknes saistībā ar izvēlēto farmakoģenētisko marķieri. Atbilstoši autosomāli dominantajam pārmantošanas modelim, izvēlēta ģimene ar Asperģera sindromu divās paaudzēs un veikta pilna eksoma sekvenēšana trīs šīs ģimenes locekļiem, lai atrastu iespējamus AST kandidātģēnus, kuri varētu būt iesaistīti AST etioloģijā. Dati ir unikāli, jo šis ir pirmais AST pētījums Latvijā.

5.1. AST pacientu antropometriskais un klīniskais raksturojums

Lai aprakstītu iespējamo AST fenotipu, tika analizēti antropometriskie parametri un klīniskās pazīmes, kas raksturīgas AST, kā arī meklētas iespējamās atšķirības salīdzinājumā ar standartpopulāciju. Šajā pētījuma fāzē izveidota labi raksturota un aprakstīta AST paraugkopa, kuru izmantoja tālāko ģenētisko pētījumu veikšanā. Apkopota informācija par AST klīnisko izpausmju smagumu un iespējamiem ietekmējošiem faktoriem, kas būtu svarīgi nākotnē, lai risinātu AST pacientu sociālpsiholoģiskos un izglītības jautājumus Latvijā.

Lai atrastu AST raksturīgās fenotipiskās pazīmes, tika analizēti antropometriskie un klīniskie parametri, izmantojot SSK-10 diagnostiskos kritērijus, izvērtēšanas skalas un ADOS testu. AST pacientiem tika izvērtēts IQ, kā arī, izmantojot medicīnisko ierakstu anamnēzes datus, analizēts epilepsijas lēkmju sākšanās vecums, lēkmju profils un biežums.

Lai nodrošinātu pēc iespējas homogēnāku AST grupu, no kopējās AST pacientu grupas izslēdza tos, kuriem diagnosticēts sindromālais autisms. Veiktajā pētījumā tika konstatēts, ka 13,29% pacientiem ar AST ir diagnosticēts un apstiprināts sindromālais autisms. Mūsu pētījumā konstatētais sindromālā autismā biežums sakrīt ar citās valstīs

veiktajiem līdzīgiem pētījumiem, ņemot vērā, ka šis bija pirmais šāda vieda veiktais pētījums Latvijā (*Gillberg and Coleman, 1996; Muhle et al., 2004; Lintas and Persico, 2009*). AST bieži vien ir raksturīgākais pirmais simptoms pacientiem ar hromosomālu vai monogēnu slimību. Apmēram 5% sastopamas hromosomu mikroskopiskas aberācijas, delēcijas, inversijas un translokācijas (*Jacquemont et al., 2006; Sebat et al., 2007; Marshall et al., 2008; Christian et al., 2008*). Arī mūsu pētījumā 4,35% gadījumā kā AST etioloģiskais faktors bija hromosomu aberācijas. Savukārt, no monogēnām slimībām, līdzīgi kā citās populācijās, biežākā zēniem ir traušlās X hromosomas sindroms, bet meitenēm Retta sindroms (*Muhle et al., 2004, Lintas and Persico, 2009*).

Kā galvenie antropometriskie mērījumu parametri AST pacientiem izvēlēti augums, svars un galvas apkārtmērs. Šie mērījumi veikti visās AST apakšgrupās un analizēta mērījumu procentīļu procentuālā attiecība pret standartpopulācijas mērījumu procentīļu procentiem.

Analizējot kopējo AST auguma, svara, galvas apkārtmēra procentīļu procentuālo attiecību pret standartpopulāciju, novēroja, ka AST pacientu mērījumu rādītājiem ir palielinātas nestandarta vērtības ($< 5\%$ un $> 95\%$), kā arī samazināta 50% vērtība, salīdzinot ar standartpopulāciju, īpaši tas attiecas uz galvas apkārtmēru, kas būtu definējams kā par mazu vai par lielu savam vecumam. Ja kopīgā statistika rāda apmēram simetrisku sadalījumu starp centrālo asi (50%), tad analizējot parametrus atsevišķi zēnu un meiteņu grupām, novēroja zināmu asimetriju. Īpaši atšķirības sadalījumā vērojamas auguma un svara grafikos. Pētījuma mērījumi norāda, ka īpaši paaugstināts ir auguma un svara mērījumu indekss meitenēm (75%). Zēniem, lai arī novērojami nesimetriski auguma un svara grafiki, palielināts auguma un svara indekss nav izteikts. Tajā pašā laikā, galvas apkārtmēra indeksa sadalījums zēniem ir simetrisks pret 50% , kā arī novērojama samazināta galvas apkārtmēra ($< 5\%$) un palielināta galvas apkārtmēra ($> 95\%$) pārsvars, salīdzinot ar standartpopulācijas parametru. Līdzīgs galvas apkārtmēra sadalījums vērojams arī meiteņu grupai. Taču no kopējās tendences atšķiras augsti rezultāti, kas saistīti ar 5% . Sakarā ar mazu AST meiteņu paraugkopu ($n = 29$), nevar apgalvot, ka tā būtu raksturīga tendence.

AST pacientiem ir raksturīgs palielināts galvas apkārtmērs (*Mile et al., 2000; Sacco et al., 2007*), ko apstiprina arī šajā pētījumā iegūtie dati, taču vērojama asimetrija dzimumu sadalījumā, redzams, ka procentuāli ir vairāk zēnu, kuriem galvas apkārtmērs atbilst 95% , kas uzskatāms kā normas varianta augšējā robeža, bet meitenēm attiecīgi zemāks, lai gan meitenēm procentuāli ir vairāk gan $> 95\%$, gan $< 5\%$ grupās.

Salīdzinot ar antropometrisko pētījumu rezultātiem Latvijā, kurš veikts 2010. gadā, lai izvērtētu bērnu aptaukošanās risku un kurā apsekoti tikai 7–8 gadus veci bērni, kuri uzsāk mācības vispārizglītojošās skolās pirmajā klasē, var secināt, ka saglabājas tendence uz aptaukošanos, taču salīdzot pa dzimumiem šī tendence izteiktāka ir zēniem nekā meitenēm, kas vērojams arī mūsu veiktajā pētījumā, kurā zēniem (9,1%) procentuāli ir lielāka tendence svara rādītājiem virs 95% nekā meitenēm (6,9%) (*Velika et al.*, 2011). Palielināta svara rādītāji varētu būt saistīti gan ar ēšanas traucējumiem, kas raksturīgi AST pacientiem, gan kā medikamentozās terapijas blakņu izpausme. AST pacienti savā ēdienkartē izvēlās vienveidīgu pārtiku, kas bieži vien satur tikai ogļhidrātus. Savukārt, smagu garastāvokļu un uzvedības traucējumu gadījumā AST pacientiem medikamentozā terapijā tiek izmantoti gan konvenciālie, gan otrās paaudzes antipsihotiskie medikamenti, kuru biežākā izraisītā blakne ir svara pieaugums.

Kā viena no biežākajām AST blakus slimībām ir garīgā atpalcība. Veiktajā pētījumā tika atklāts, ka Latvijā 80,66% pacientiem ar AST ir diagnosticēta dažādas pakāpes garīgā atpalcība un tikai 18,66% AST pacientiem intelekts atbilst normai. Veiktā pētījuma iegūtie dati norāda, ka garīgā atpalcība ir viena no biežākām AST blakus slimībām, tās biežums dažādās populācijās tiek minēts no 50 – 70% (*Gillberg*, 2006; *Sacco et al.*, 2007). Salīdzinot garīgās atpalcības pakāpes starp dzimumiem, statistiski ticama atšķirība netika konstatēta, taču vērojama tendence, ka meiteņu grupā procentuāli biežāk konstatēta vieglas un smagas pakāpes garīga atpalcība, salīdzinot ar AST zēnu grupu, kas sakrīt ar citu pētījumu datiem par smagāku AST norisi meiteņu populācijā (*Fombonne*, 2009).

Epilepsijas lēkmju biežums populācijā kopumā sastopams 0,1–5% gadījumos. Epilepsijas lēkmes AST pacientiem sastopamas 8–30% gadījumos, nekā populācijā kopumā (*Danielsson et al.*, 2005; *Tuchman and Cuccaro*, 2011). Pacientiem, kuriem ir dažādas pakāpes garīgās atpalcības, epilepsijas lēkmju biežums ir 37% (*Gillberg and Coleman*, 1996; *Steinhausen*, 2006; *Tuchman and Cuccaro*, 2011). Mūsu pētījumā tika atklāts, ka tikai 5,33% pacientiem ar AST ir konstatētas epilepsijas lēkmes. Viena no hipotēzēm varētu būt, ka epilepsijas lēkmju biežums ir cieši saistīts ar bērna vecumu (*Spence and Schneider*, 2009). Epilepsijai raksturīgi divi sākšanās pīķi: līdz piecu gadu vecumam un pusaudžu vecumā (*Folstein and Rosen-Sheidley*, 2001; *Spence and Schneider*, 2009). Lielāks risks, lai sāktos epilepsija AST pacientiem ir tieši pusaudžu vecumā (*Spence and Schneider*, 2009). Esošajā pētījumā vidējais bērna vecums bija astoņi gadi, kas sakrīt ar periodu, kurā epilepsijas lēkmes ir sastopamas reti. Otra

hipotēze, iespējams, varētu būt, ka epilepsijas lēkmes bieži ir blakus slimība pacientiem ar monogēnām vai hromosomālām patoloģijām, lai padarītu esošā pētījuma grupu homogēnāku, no pētījuma grupas tika izslēgti pacienti ar diagnosticētu ģenētisku patoloģiju. Iespējams, iepriekš izvirzītās hipotēzes varētu apstiprināt, kādēļ veiktajā pētījumā epilepsijas lēkmju biežums bija zemāks, nekā citās populācijās veiktajos pētījumos.

42% AST pacientiem, kuriem ir garīga atpalcība, tiek diagnosticēta epilepsija (Folstein and Rosen-Sheidley, 2001). Veiktajā pētījumā epilepsijas lēkmes biežāk tika konstatētas pacientiem ar smagu garīgu atpalcību, nekā pacientiem ar normālu IQ līmeni ($p = 0,009$), kas apstiprina hipotēzi, ka smagāka garīgās atpalcības pakāpe var būt biežāk saistīta ar epilepsijas lēkmēm. Iespējams to var izskaidrot, ka agrīns CNS bojājums, intrauterīna, perinatāla vai postnatāla infekcija, hipoksija vai citi ārējās vides faktori, kuri var būt par cēloni psihomotorās attīstības aizturei bērnam pēc viena gada vecuma. Otra hipotēze, kas sakrīt ar publikāciju datiem, ka pacientiem, kuriem ir garīga atpalcība, pie garīgās attīstības regresa pastāv lielāks risks, ka sāksies epilepsijas lēkmes (Tuchman, 2006). AST klīnika manifestējas bērniem līdz divu gadu vecumam, kas sakrīt ar biežāko epilepsijas lēkmju attīstības riska periodu, kā arī šajā periodā AST pacientiem novēro psihiskās attīstības regresu. Tas nozīmē, ja pacienta slimības anamēzē ir bijusi kaut viena epilepsijas lēkmes epizode, jādoma, ka tā varētu izraisīt bērna psihiskās attīstības regresu, kas savukārt var provocēt atkārtotu epilepsijas lēkmju attīstību, tādējādi provocējot vēl smagākas garīgās atpalcības pakāpes attīstību. Katra epilepsijas lēkme var provocēt IQ līmeņa pazemināšanos AST pacientiem. Jo agrīnākā vecumā bērnam sākušās epilepsijas lēkmes, jo pastāv lielāks risks, ka var attīstīties smagāka garīgās atpalcības pakāpe. Veiktajā pētījumā konstatēja, ka epilepsijas lēkmes bija biežāk novērotas meitenēm ar smagu garīgu atpalcību ($p = 0,0106$).

Analizējot valodas traucējumus, vērojams, ka gan zēnu, gan meiteņu grupā AST pacientiem ir konstatēti gan ekspresīvās, gan receptīvās valodas traucējumi, kas saistīti arī ar garīgās atpalcības pakāpi. Bērna intelekta attīstībā svarīgas ir valodas prasmes, lai veicinātu socializāciju, komunikāciju, kā arī izziņas procesus. Taču valodas traucējumu gadījumā šie procesi tiek kavēti un var būt kā viens no faktoriem garīgās atpalcības attīstībā. Tādēļ ir svarīgi jau ļoti agrīnā bērna vecumā veicināt valodas prasmju attīstību.

Komandas darbā ar bērnu, kuram ir AST, noteikti jāiekļauj logopēds, ergoterapeits, speciālais pedagogs, psihologs un bērnu psihiatrs. Lai plānotu katram bērnam nepieciešamo palīdzību, svarīgi veikt vispusīgu bērna grūtību un arī resursu

izvērtējumu. Ļoti būtisks ir valodas attīstības līmeņa un īpatnību izvērtējums, ko veic logopēds. Tāpat svarīgi ir psihologam izvērtēt bērna intelektuālās spējas, kas AST gadījumos var variēt no smagas garīgās atpalicības līdz ģenialitātes līmenim.

AST diagnostika Latvijā bieži vien ir novēlota un nav pieejama adekvāta ambulatorā aprūpe visā Latvijas teritorijā, kas nodrošinātu multidisciplināru pieeju AST pacientu agrīnai intervencei. Vidējais bērna vecums, kurā tiek diagnosticēts kāds no AST apakštipiem ir astoņi gadi, kā rezultātā ir zaudēts laiks, lai iegūtu pozitīvus rezultātus no veiktās nemedikamentozās terapijas, gan valodas attīstībā, gan speciālā pedagoga apmācībā, kā arī socializācijā un integrācijā sabiedrībā. Līdz ar to, laicīgi nediagnosticētu traucējumu gadījumā, AST pacientiem iespējama smagāka garīgās atpalicības pakāpe un invalidizācija.

Ne mazāk svarīgi, bērna apmācības procesā iesaistīt ģimeni, respektīvi, apmācīt ģimeni, lai bērna integrācija noritētu sekmīgāk. Tādēļ jebkurā terapijas procesā AST pacientu ģimenes locekļiem ir jāiesaistās aktīvi, ne pasīvi vērojot un gaidot rezultātu no speciālista. Terapijas procesam pamatā vajadzētu noritēt ģimenē.

5.2. Izvēlēto SNP asociācijas analīze

AST etioloģijā nozīmīga ir 7. hromosoma, kurā nelīdzsvarotās saistības, kandidātģēnu un CNV pētījumos atklāti AST kandidātģēni (*IMGSAC*, 1998; *Trikalinos et al.*, 2006; *Alacorn et al.*, 2002; *Alacorn et al.*, 2005; *Schellenberg et al.*, 2006; *Stankiewicz and Lupski*, 2010; *Freitag et al.*, 2010). Mazāk pētīta ir 11. un 15. hromosomu asociācija ar AST (*Szatmari et al.*, 2007; *Liu et al.*, 2008; *Cho et al.*, 2011). Nozīmīgi ir 11p15.4-p15.3 un 15q13.3-q14 lokusi (*Spence et al.*, 2006; *Duvall et al.*, 2007). Tādēļ šie lokusi izvēlēti mūsu pētījumā. Analizēti četri SNP, kuri varētu būt iesaistīti AST etioloģijā. SNP izvēle balstīta uz literatūras datiem, ka 11. un 15. hromosomām varētu būt būtiska nozīme AST etioloģijā. Pamatojoties uz visa genoma asociācijas pētījumu, kurā tika analizēti AST subfenotipi un iekļautas 976 ģimenes no Autisma Genoma projekta, tika atrasta nozīmīga asociācija ar 11.hromosomas 11p13 rs2421826 (LOD = 2,55, $p = 0,0003$), 11p14-p15.3 rs1394119 (LOD = 3,40, $p = 0,00004$) un 15q13.3-q14 rs1454985 (LOD = 4,01, $p = 0,00001$) lokusiem (*Liu et al.*, 2008). Savukārt, 2011.gadā Cho ar kolēģiem veiktajā asociāciju pētījumā, kurā analizēti 3022 SNP, kā nozīmīgākie tika atlasīti 30 SNP, no kuriem, statistiski ticama asociācija ar AST bija rs11212733 ($p = 9,76 \times 10^{-6}$), kurš lokalizēts 11q22.3 lokusā

(Cho et al., 2011). Tādēļ šajā pētījumā tika izvēlēti šie četri SNP, lai analizētu, vai šiem SNP ir nozīme AST attīstībā mūsu AST pacientu grupā.

Mūsu veiktajā pētījumā netika atrasta SNP rs2421826, rs1394119 un rs1454985 asociācija ar AST. Kā viens no iemesliem varētu būt maza AST pacientu grupa, bet otrs, ne mazāk svarīgs iemesls, AST grupas homogenitāte, ņemot vērā, ka no pētāmās grupas tika izslēgti pacienti ar sindromālo autismu.

Analizētais SNP rs11212733, kurš lokalizēts starp 11q22.3 hromosomas ekso - filina 5 (*EXPH5*) gēna 5' un DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polipeptīda 10 (*DDX10*) gēna 3' reģioniem, bija statistiski ticami asociēts ar AST ($\chi^2 = 6.982$, $p_{\text{koriģētā}} = 0.033$, OR = 1.625, 95%CI 1,13–2,31).

EXPH5 ir proteīnu-kodējošais gēns, kurš lokalizēts 11. hromosomas garā pleca lokusā 22.3. Zināms, ka šī gēna funkcijas saistītas ar *Rab27*, kurš regulē neneironālo šūnu eksocitozi, tādu kā lītisko granulu (*lytic granule*) sekrēciju citotoksiskās T šūnās, aizkuņģa dziedzera β -šūnu insulīna produkciju, kā arī atbrīvo histamīnu saturošās granulas tuklajās šūnās. *Rab27* atbild arī par melanosomu transportu melanocītos (Kondo et al., 2006). *EXPH5* nav iesaistīts neirolōģiskajos procesos, tādēļ iespējams, tam nav ievērojamas nozīmes AST attīstībā.

DDX10 gēns ir lokalizēts 11. hromosomas garā pleca 22–23 lokusā un kodē RNS helikāzi, iesaistīts daudzos šūnas procesos, kas saistītas ar sekundārām RNS strukturālām izmaiņām. Šis gēns iesaistās translācijas iniciācijā, šūnas kodola un mitohondriālā splaisingā, ribosomu un splaisosomu izveidē. Lai gan nav zināms, kuras RNS molekulas ietekmē šī helikāze, samazināta *DDX10* gēna funkcija var radīt regulācijas problēmas RNS līmenī (Savitsky et al., 1996). AST etioloģijā iesaistīti citi *DDX* grupas gēni. Autisma datu bāzē kā potenciālie AST kandidātģēni minēti *DDX11* un *DDX35* gēni (autDB, 2013). *DDX11* gēns, kurš lokalizēts hromosomas 12p11 lokusā ir saistīts ar neirogliālo šūnu diferenciācijas traucējumiem AST pacientiem (Hu et al., 2006). *DDX35* gēnam, kurš lokalizēts hromosomas Xp22.11 lokusā un kodē RNS helikāzi, atrasta saistība ar AST (Pinto et al., 2010). *DDX10* gēns arī varētu būt kā iespējamais kandidātģēns, kuram būtu nepieciešams veikt turpmāko izpēti saistībā ar AST attīstību.

Analizējot iespējamo haplotipu saistību ar AST, statistiski ticami atšķīrās rs11212733/rs2421826 T/A haplotipa biežums kontroles un AST pacientu grupās ($p = 0,012$). Haplotips rs11212733/rs2421826 T/A biežāk bija sastopams kontroles

grupā. Tas norāda, ka šis haplotips varētu būt protektīvs. Hipotētiski varētu pieņemt, ka šis haplotips varētu būt saistīts ar zemāku AST attīstības risku.

AST pacientiem lineārās regresijas analizē pārbaudot saistību ar SNP un diagnozi, intelektu (normāls, viegla, vidēji smaga un smaga garīga atpālicība), epilepsijas lēkmju esamību (ir/nav bijuši anamnēzē) netika atrasta statistiski ticama asociācija ($p < 0,05$). Iespējamo saistību varētu ietekmēt pacientu dzimums, vecums, galvas apkārtmērs, IQ līmenis un anamnēzē konstatētās epilepsijas lēkmes, šie rādītāji tika izmantoti kā kovariāti, taču arī šajā gadījumā netika iegūti statistiski ticami rezultāti ($p < 0,05$).

5.3. Farmakoģenētiskā marķiera *CYP2D6* analīze

Pētījuma trešās fāzes mērķis bija izvērtēt otrās paaudzes antipsihotiskā medikamenta risperidona farmakoterapijas efektivitāti un panesamību pacientiem ar AST. AST pacientu ārstēšanā, smagos slimības gadījumos, tiek izmantota medikamentozā terapija: ja pacientam ir izteikta hiperaktivitāte un uzmanības deficīta sindroms, agresivitāte, epilepsijas lēkmes, miega traucējumi, garastāvokļa traucējumi, kā arī obsesīvi–kompulsīvi traucējumi un šizofrēnijai līdzīgu simptomu gadījumā (*Mandell et al.*, 2008). Šo traucējumu ārstēšanā pamatā izmanto psihotropos medikamentus. Biežāk tiek lietoti atipiskie jeb otrās paaudzes antipsihotiskie līdzekļi, antidepresanti, garastāvokļa stabilizatori un psihostimulatori. Terapijas izvēle saistīta ar prevalējošo sindromu. Taču medikamentozās terapijas izvēle ir problemātiska, jo bieži uz medikamentiem var būt paradoksālas, neadekvātas reakcijas (*Gillberg*, 2006). Farmakoterapija AST pacientiem tiek izvēlēta individuāli. Uz pierādījumiem balstīti dati liecina par risperidona, metilfenidīna un atsevišķu SASI izmantošanu AST uzvedības traucējumu ārstēšanā (*Taylor et al.*, 2009). Viens no biežāk ieteiktajiem otrās paaudzes antipsihotiskajiem preparātiem ir risperidons (*Correia et al.*, 2010). Tomēr jāņem vērā, ka medikaments var izraisīt nopietnas blaknes: metabolos traucējumus, tādus kā svara pieaugums, hiperprolaktinēmiju, kā arī lielu devu gadījumā iespējamās nopietnas neiroloģiskas, ekstrapiramidālas blaknes (*West and Waldrop*, 2006; *Jesner et al.*, 2007). Nav veiktu pētījumu un datu par medikamentu efektivitāti un panesamību bērniem līdz piecu gadu vecumam. Līdz ar to medikamenta un devu izvēle ir jāpielāgo individuāli, vadoties pēc klīniskās gaitas (*Taylor et al.*, 2009).

Ņemot vērā, ka psihiatrijas praksē pacientiem, sakarā ar nevienmērīgo slimības klīnisko gaitu un atšķirīgo medikamentu metabolizāciju, iespējama atšķirīga reakcija uz psihotropo medikamentu ietekmi, bieži vien nav iespējams izmantot antipsihotisko līdzekļu terapijas shēmas visiem pacientiem vienādi. Reti, bet var klīniskā praksē pielietot personalizēto medicīnu, kas balstās uz medikamenta metabolizācijas pakāpes noteikšanu pirms medikamentozās terapijas uzsākšanas. Katram pacientam reakcija uz terapiju ir atšķirīga, tā ir atkarīga no medikamentu metabolizācijas. Izmantojot personalizētās medicīnas iespējas, nosakot katram pacientam psihotropo medikamentu metabolizācijas pakāpi, iespējams izvēlēties piemērotāko medikamentu un tā devu (Woodcock and Lesko, 2009). Psihisku traucējumu gadījumā cēlonis var būt vienlaicīgi vairāku faktoru ietekme, gan ārvides, gan ģenētisko, tādējādi tiek izjaukta normāla neurotransmisija smadzenēs. Genotipēšanas rezultātā tiek noteiktas gēnu variācijas, kuru kodējošie proteīni ir iesaistīti neurotransmisijā, kā arī psihotropo medikamentu metabolizācijā (Costa e Silva, 2013). Tādējādi farmakoģenētikas pielietošanai psihiatrijas praksē ir potenciāls paaugstināt klīnisko efektivitāti un mazināt blaknes (Woodcock and Lesko, 2009). Uz doto brīdi jau tiek piedāvāti psihotropo medikamentu farmakoģenētiskie testi, kuru izmantošanas gadījumā ir iespējams noteikt katram pacientam piemērotāko psihotropo medikamentu un tā devu (cgcggenetics, 2011).

Par medikamenta metabolisma individuālām atšķirībām primāri ir atbildīgas CYP450 enzīmu oksidatīvās un katalītiskās reakcijas (Anderson, 2010). Viens no svarīgākajiem gēniem, kurš iesaistīts otrās paaudzes antipsihotiķu metabolizācijā, tajā skaitā nodrošinot risperidona metabolisma enzīmu regulāciju, ir CYP2D6 gēns, kurš ir ļoti polimorfs (Ingelman-Sundberg et al., 2007).

Izmantojot jau gatavo piedāvāto alēļu sarakstu, mūsu veiktajā pētījumā nav iegūti pārliecinoši rezultāti. Risperidona biotransformāciju aknās nodrošina vienlaicīgi vairāku P450 marķieru darbība. Šajā pētījumā tika analizēts tikai viens CYP2D6, bet antipsihotisko medikamentu metabolizācijā nozīme ir ne tikai CYP2D6, bet arī CYP3A un CYP1A2 (Rodriguez-Antona et al., 2009). Tas varētu būt iemesls, kādēļ mūsu pētījuma rezultāti ir negatīvi. Neskatoties uz to, ka CYP2D6 tiek uzskatīts par svarīgāko, iespējams, visu iesaistīto marķieru mijiedarbībai ir lielāka nozīme, nekā izolētu marķieru analīzei, jo tā var nedot gaidītos rezultātus. Pārbaudītajiem farmakoģenētiskajiem marķieriem neatrada nozīmi risperidona blakņu un efektivitātes noteikšanā. Ņemot vērā, ka CYP2D6 gēns ir polimorfs, iespējams būtu jāanalizē arī pārējās šī gēna

alēles, kas iesaistīti risperidona metabolismā, jo *CYP2D6*4*, *CYP2D6*41* ir maz informatīvi, pēc mūsu pētījuma rezultātiem.

Veiktajā pētījumā biežākais terapijas korekcijas iemesls bija hiperprolaktinēmija. Biežākā risperidona blakne konstatēta hiperprolaktinēmija, kuras cēlonis, iespējams, ir saistīts ar AST neirotransmiteru defektu, bet ne primāri ar ksenobiotiķu metabolismu. Dopamīns nomāc prolaktīna atbrīvošanos, ja tiek stimulēti D2 receptori, turpretim serotonīns veicina prolaktīna atbrīvošanos, ja tiek stimulēti 5HT2A receptori (Stahl, 2008). Ja D2 receptori ir bloķēti, dopamīns vairs nevar kavēt prolaktīna atbrīvošanos, līdz ar to prolaktīna līmenis paaugstinās. Taču, ja vienlaicīgi inhibē 5HT2A receptorus, serotonīns vairs nevar stimulēt prolaktīna atbrīvošanos. Bloķējot D2 receptorus tiek mazināta hiperprolaktinēmija (Stahl, 2008). AST gadījumā neirotransmiteru regulācijas mehānisms ir izjaukts, tas nozīmē, ka nav izslēgts, ka AST gadījumā var tikt provocēta hiperprolaktinēmija neatkarīgi no pielietotās risperidona terapijas. Medikamentu izsauktās blaknes varētu būt saistītas ar AST pacientu vielmaiņas, serotonīna un dopamīna sintēzes traucējumiem, jo blaknes tika konstatētas, g. k., pacientiem ar dažādas pakāpes garīgu atpalcību. Tas nozīmē, ka jo smagāka ir AST gaita, jo lielāks risks, ka attīstīsies blaknes un terapija būs neefektīva, neatkarīgi no izvēlēta medikamenta grupas un metabolizācijas pakāpes. Hipotētiski var spriest, ka hiperprolaktinēmija nav saistīta ar *CYP2D6*4*, *CYP2D6*41*, 5HT2A metabolismu. Pieņemtā hipotēze balstās uz publikācijām par to, ka neirotransmiteru disbalanss AST gadījumā var izraisīt hiperprolaktinēmiju (Stahl, 2008).

Iespējams, būtu nepieciešamas izvēlēties papildus marķierus terapijas efektivitātes izvērtēšanai. Nevar izslēgt, ka pētāmās grupas jauda ir pārāk maza, lai varētu izvērtēt farmakoģenētisko marķieru nozīmi. Taču, no personalizētās medicīnas skata punkta, katrā individuālajā gadījumā marķierim ir jābūt informatīvam, jo komerciālo testu gadījumā, rezultāts tiek attiecināts uz katru gadījumu individuāli, ne kopumā uz lielām izpētes grupām. Šajā pētījumā izvēlētie farmakoģenētiskie marķieri *CYP2D6*4*, *CYP2D6*41* nav saistīti ar risperidona efektivitāti un blaknēm. Haplotipu analīzē netika atrasta saistība *CYP2D6*4/CYP2D6*41*(rs28371725/rs3892097) C/T (p = 0.4) ar risperidona devu un ģenētiskajiem marķieriem, tādēļ to nevar izmantot risperidona farmakoterapijas prognostikā.

Veiktajā pētījumā citohromgrupas (CYP) P450 marķiera *CYP2D6* izmainīto alēļu *CYP2D6*4*, *CYP2D6*41* biežums nav atšķirīgs AST pacientu un kontroles grupā. AST pacientiem lineārās regresijas analīzē pārbaudot saistību starp SNP un

bioķīmiskajiem rādītājiem ASAT, ALAT, netika atrasta statistiski ticama asociācija ($p < 0,05$). Iespējamo saistību varētu ietekmēt pacientu dzimums, vecums IQ līmenis un anamnēzē konstatētās epilepsijas lēkmes, šie rādītāji tika izmantoti kā kovariāti lineārajā regresijā, bet arī šajā gadījumā netika iegūti statistiski ticami rezultāti ($p < 0,05$).

5.4. Eksoma sekvenēšanas analīze ģimenei ar Apergera sindromu

AST ir multifaktoriāli, kuru pārmantošanas mehānisms vēl nav noskaidrots. Izteikta hipotēze, ka AST attīstībā svarīgāka nozīme ir CNV un punktveida mutācijām (Sebat et al., 2007; Marshall et al., 2008; Glessner et al., 2009; Pinto et al., 2010; Levy et al., 2011; Sanders et al., 2011). AST etioloģijā nav iesaistīts viens gēns, bet vienlaicīgi iespējamās vairāku gēnu variāciju kombinācijas ar ārējās vides faktoru ietekmi. AST raksturīgs ļoti plašs klīnisko simptomu diapazons, sākot no ļoti smaga, zemu funkcionējoša stāvokļa līdz augsti funkcionējošam stāvoklim, kuru gadījumā traucējums skar galvenokārt sociālās funkcionēšanas, komunikācijas sfēras un var būt saistīts ar valodas un mācīšanās iemaņu traucējumiem. AST traucējumu grupā labi definēti diagnostiskie kritēriji ir bērniņas autismam un Aspergera sindromam, kas patiesībā ir visu AST pretpoli. Šobrīd pētniecībā uzmanība pievērsta visu AST ģenētiskai izpētei, bet mazāk literatūrā minēti dati tieši par Aspergera sindroma ģenētisko izpēti.

Pacienti ar Aspergera sindromu agrīnā bērna attīstības periodā reti nonāk bērnu psihiatra redzeslokā, jo sindroma izpausmes var būt vieglā pakāpē. Taču vēlākajā dzīves periodā, uzsākot mācības skolā, pusaudžu vecumā traucējumam var pievienoties citi garīgās veselības traucējumi, tādi kā obsesīvi-kompulsīvi, šizotipsikas personības iezīmes, afektīvi garastāvokļa traucējumi, šizoafektīvi vai šizofrēnijai līdzīgi stāvokļi un tikai retrospektīvi, pēc anamnēzes datiem, var pieņemt, ka pacientam jau agrīnā bērna vecumā ir bijuši sociālās funkcionēšanas, emocionālie un komunikācijas traucējumi, kas varētu atbilst Aspergera sindroma simptomātikai.

Aspergera sindroms biežāk raksturīgs zēniem nekā meitenēm, bet ņemot vērā, ka pēc pēdējo gadu epidemioloģisko pētījumu datiem, prevalences rādītāji pieaug, uzlabojoties diagnostiskajām tehnoloģijām, Aspergera sindroms arvien biežāk tiek konstatēts arī meitenēm (Gillberg, 2006; Fombonne, 2009).

Šajā pētījumā pilnai eksoma sekvenēšanai tika izvēlēta ģimene, kurā Aspergera sindroms ir konstatēts divās paaudzēs, turklāt, traucējums konstatēts mātei un diviem

bērniem, gan meitai, gan dēlam. Lai gan Aspergera sindroms var tikt pārmantots gan autosomāli, gan saistīti ar X hromosomu (Betancur, 2011), tomēr pēc ciltskoka izvēlētajā ģimenē visticamākais bija autosomāli dominantais iedzimšanas tips. Analizējot no eksoma sekvenēšanas iegūtos datus, tika atlasītas iespējami patogēnas izmaiņas piecos gēnos – *KCNJ10*, *ARPP21*, *PLD5*, *KCNH6* un *MPDZ*. Lai novērtētu to iespējamo patogenitāti – sekvenču varianti tika pārbaudīti tiešsaistē ar *SIFT* (sift, 2013) un *PolyPhen* (polyphen, 2013) datubāzēm, kā arī *Ensembl* (ensembl, 2013) un *Mutalyzer* (mutalyzer, 2013) datu bāzēm, kā arī apskatīts literatūrā par šo gēnu kodēto olbaltumvielu iespējamo lomu AST patoģenēzē.

KCNJ10 (*potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 10*) gēns – lokalizēts 1q23.2 lokusā, regulē sinaptisko aktivitāti starp neironiem. Kālija kanālu regulators, saistīts ar AST (Sicca et al., 2011) un epilepsiju (Buono et al., 2004). *KCNJ10* gēnam ir viens transkripts. Identificētā nukleotīdu nomaīņa atrodas eksonā, un ierosina aminoskābes arginīna nomaīņa uz glutamīnu. Dotā nukleotīda nomaīņas biežums visu populāciju eksoma sekvenēšanas projektā ir 0,01227 (ensembl, 2013). Veicot nukleotīdu nomaīņas varianta ietekmes simulāciju, izmantojot *PolyPhen* un *SIFT* programmatūras, polimorfisms netiek atzīmēts kā iespējami patogēns, tāpēc arī tika atmests kā slimību izraisošs mūsu pētījumā.

ARPP21 (*21-kD cAMP-regulated phosphoprotein*) gēns – lokalizēts 3p24.3 lokusā un kodē olbaltumvielu, kas ir kalmodulīna (*calmodulin*) (CaM; 114180) signāla regulētājs, tam ir galvenā nozīme neirotransmiteru sistēmas regulēšanā, tas regulē CaM-atkarīgo kināzi (CaMKI) un proteīna fosfatāzi-2B (PP2B) (Rakhilin et al., 2004). Gēns ekspresējas astainā kodola (*nucleus caudatus*), zemgarozas kodolu apvalka (*putamen*), sēdošā kodola (*nucleus accumbens*), smadzenīšu garozas (*cortex cerebellum*) un filoģenētiski jaunākās garozas (*neocortex*) rajonos (Brene et al., 1994). *ARPP21* gēnam ir 37 transkripti, identificētā nukleotīdu nomaīņa kodējošā daļā atrodas piecos no tiem, un var ierosināt alanīna nomaīņu uz treonīnu. Dotā nukleotīdu nomaīņa nav aprakstīta saistībā ar patoloģiju un visu populāciju eksoma sekvenēšanas projektā tā biežums ir 0,003439 (ensembl, 2013), kā arī veicot nukleotīdu nomaīņas varianta ietekmes simulāciju, izmantojot *PolyPhen* un *SIFT* programmatūras, polimorfisms visticamāk nav patogēns.

PLD5 (*Phospholipase D family, member 5*) gēns – lokalizēts 1q43 lokusā un kodē olbaltumvielu, kura regulē aksonu veidošanos un neirotransmiteru glutamāta receptoru metabotropo signālsistēmu (Dhami and Ferguson, 2006; Kanaho et al.,

2009). Genoma plašos asociācijas pētījumos atklāts, ka viens no polimorfismiem (rs2196826) ir saistīts ar AST, kuriem nav valodas traucējumu (Anney *et al.*, 2010). *PLD5* gēnam ir astoņi transkripti, mūsu pētījumā identificētā nukleotīdu nomaiņa kodējošā daļā atrodas četros no tiem un izraisa aminoskābju izmaiņas. Minētie transkripti kodē neaktīvas enzīma izoformas un tāpēc identificētā izmaiņa visticamāk nav patogēna, kas sakrīt ar *SIFT* programmas simulācijas datiem. Identificētais SNP (rs140243407) ir aprakstīts gan 1000genoma datu bāzē un visu populāciju eksoma sekvenēšanas projektā tā biežums ir 0,000327 (*ensembl*, 2013).

MPDZ (*multiple PDZ domain protein*) gēns – lokalizēts 9p23 lokusā, tā kodētais proteīns nodrošina proteīnu savstarpējo mijiedarbību, saistībā ar serotonīna 5-HT_{2C} receptoru (Ullmer *et al.*, 1998). *MPDZ* gēnam ir 21 transkripts, atrastā nukleotīdu nomaiņa kodējošā daļā lokalizēta desmit gēna transkriptos, kuros izraisa izoleicīna nomaiņa uz valīnu. Dotā nukleotīdu nomaiņa nav aprakstīta saistībā ar patoloģiju un visu populāciju eksoma sekvenēšanas projektā tā biežums ir 0,000104 (*ensembl*, 2013). Veicot nukleotīdu nomaiņas varianta ietekmes simulāciju, izmantojot *PolyPhen* un *SIFT* programmatūras, polimorfisms nav atzīts par patogēnu.

KCNH6 (*potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 6*) gēns – lokalizēts 17q23.3 lokusā. Tā kodētais proteīns ir saistīts ar ERG (*Ether-A-Go-Go-related gene 2*), kas nosaka uzvedību. Gēns ekspresējas CNS, īpaši ožas sīpoliņa (*bulbus olfactorius*), smadzeņu garozas (*cortex cerebri*), hipokampa (*hippocampus*), hipotalāma (*hypothalamus*), un smadzenīšu rajonos (*cerebellum*) (Papa *et al.*, 2003). *KCNH6* gēnam ir seši transkripti. Mūsu pētījumā identificētā nukleotīdu nomaiņa atrodas divu transkriptu kodējošā daļā un var ierosināt aminoskābes tirozīna nomaiņu uz cisteīnu. Veicot nukleotīdu nomaiņas varianta ietekmes simulāciju, izmantojot *PolyPhen* un *SIFT* programmatūras, polimorfisms ir atzīts kā patogēns. Dotai nukleotīdu nomaiņai līdz šim vēl nav veikti funkcionālie pētījumi saistībā ar patoloģiju, kā arī tā nav iepriekš aprakstīta saistībā ar patoloģiju. Tā kā visu populāciju eksoma sekvenēšanas projektā tā biežums ir 0,003997 (*ensembl*, 2013), kā arī modulējot tās patogenitāti abās programmās, tā tika atrasta kā patogēna arī mūsu ģimenē šī izmaiņa visticamāk varētu būt izraisījusi Aspergera sindromu. Ir atrasti marķieri hromosomas 17q11-21 lokusā, kuriem ir nozīmīga saistība ar AST (Younan *et al.* 2003; Stone *et al.*, 2004; Cantor *et al.*, 2005), taču līdz šim nav aprakstīta *KCNH6* gēna asociācija ar AST.

Rezultātā tika iegūts, ka *KCNH6* varētu būt iespējamais patogēnais variants ģimenei ar Aspergera sindromu. Lai to pārbaudītu, būtu nepieciešama šī varianta analīze arī citiem pacientiem ar Aspergera sindromu, lai noteiktu vai šim variantam ir nozīme Aspergera sindroma etioloģijā, kā arī vai Aspergera sindroms varētu tik pārmantots dominatā veidā no vienas paaudzes uz otru. Patogenitātes izvērtēšanai būtu nepieciešami tālākie funkcionālie pētījumi.

Ņemot vērā, ka AST diagnostika Latvijā ir novēlota, vadoties pēc starptautiskām rekomendācijām ir izstrādātas rekomendācijas Latvijas ģimenes ārstiem, pediatriem, bērnu neirologiem un bērnu psihiatriem AST diagnostikai bērniem līdz trīs gadu vecumam (sk. 4. pielikumu). Savlaicīga un agrīna šo traucējumu diagnostika, kā arī atbilstošas terapijas izvēle ļauj mazināt bērna invalidizāciju un integrēt sabiedrībā.

6. SECINĀJUMI

1. Izveidota labi aprakstīta autiskā spektra traucējumu paraugkopa, kuras dati iekļauti speciāli šim pētījumam izveidotā anketā. Konstatēts, ka dažādas pakāpes garīgās atpalcības biežums ir 80,66%, epilepsijas lēkmju biežums ir 5,33%, valodas traucējumi 98,66%. Epilepsijas lēkmes biežāk novērotas pacientiem ar smagu garīgu atpalcību ($p = 0,009$).
2. Analizējot antropometrisko mērījumu datus un fenotipiskās pazīmes, autiskā spektra traucējumu pacientiem vērojams palielināts galvas apkārtmērs un lielāks svars, salīdzinājumā ar standartpopulāciju, kas sakrīt ar citu starptautisku pētījumu datiem.
3. Atrasta statistiski ticama asociācija ar autiskā spektra traucējumiem un SNP rs11212733 ($p = 0,008$), kurš lokalizēts 11q22.3 lokusā starp *DDX10* un *EXPH5* gēniem, kuri būtu iespējamie autiskā spektra traucējumu kandidātgēni.
4. Citohromgrupas (CYP) P450 marķiera *CYP2D6* alēļu *CYP2D6*4* T, *CYP2D6*41* T biežums nav atšķirīgs autiskā spektra traucējumu pacientu un kontroles grupā. Netika atrasta saistība autiskā spektra traucējumu medikamentozā terapijā lietotā otrās paaudzes antipsihotika risperidona blaknēm ar citohromgrupas (CYP) P450 marķiera *CYP2D6* alēlēm *CYP2D6*4* T, *CYP2D6*41* T, pētītie marķieri nav informatīvi.
5. Ģimenei ar Aspergera sindromu veikta pilna eksoma sekvenēšana, izmantojot autosomāli dominantās pārmantošanas tipa modeli, atlasīti potenciālo kandidātģēnu varianti, no kuriem, izmantojot modelēšanas metodi, identificēts patogēns *KCNH6* gēna variants, kurš varētu būt iespējamais autiskā spektra traucējumu kandidātģēns.

7. PUBLIKĀCIJAS UN ZIŅOJUMI PAR PĒTĪJUMA TĒMU

7.1. Zinātniskie raksti par pētījuma tēmu

1. A. Pentjuss, O.Rubenis, **D. Bauze**, L. Aprupe, B. Lace. Flux variability analysis approach of autism related metabolism in stoichiometric model of mitochondria. Biosystems and Information Technology, 2013; 2: 27–42.
2. **D. Bauze**, L. Keverē, Z. Kronberga, A. Rizevs, R. Andrežina, B. Lace. Role of CYP2D6*4 and CYP2D*41 in Autism Spectrum Disorder Therapy. Nordic Journal of Psychiatry, 2013.gads (iesniegts).
3. **D. Bauze**, L. Piekuse, L. Keverē, Z. Kronberga, A. Rizevs, I. Vaivade, K. Viksne, R. Andrežina, B. Lace. Association a Single Nucleotide Polymorphism in Chromosome 11 with Autism Spectrum Disorder in a North–Eastern European Population. Proceedings of the Latvian Academy of Science, 2012. gads (pieņemts).
4. **D. Bauze**, L. Keverē, Z. Kronberga, A. Rizevs, Z. Daneberga, A.Dzalbs, Dz.Locmele, R. Andrežina, B. Lace. The Clinical Analysis of Patients with Autism and Autism Spectrum Disorders. RSU zinātniskie raksti, 2012: 43–50.lpp
5. **D. Bauze**. Autisma ģenētiskais aspekts. A. Vabale “Autisms un autiskā spektra traucējumi. Ieskats teorijā un praksē”, RSU, 2008: 18.–21. lpp.
6. Z. Daneberga, Z. Krūmiņa, B. Lace, **D. Bauze**, N. Pronina, R. Lugovska. The Fragile X Syndrome: 13 Years of Experience. Proceedings of the Latvian Academy of Science, Section B, 2011; 65: 67–72.
7. Z. Daneberga, Z. Krumina, B. Lace, **D. Bauze**, N. Pronina, R. Lugovska. Fragile X Syndrome in Mentally Retarded Patients from Latvia. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences.; 2009; 63 (1): 70–72.

7.2.Citi zinātniskie raksti

1. L. Keverē, S. Purvina, **D. Bauze**, M. Zeibarts, R. Andrežina, L. Piekuse, A. Brekis, I. Purvins. Homocysteine and MTHFR C677T polymorphism in children and adolescents with psychotic and mood disorders. Nordic Journal of Psychiatry, 2013. gads (pieņemts)

2. L. Keverē, S. Purvina, **D. Bauze**, M. Zeibarts, R. Andrežina, A. Rizevs, S. Jelisejevs, L. Piekuse, M. Kreile, and I. Purvins. Elevated serum levels of homocysteine as an early prognostic factor of psychiatric disorders in children and adolescents. *Schizophrenia Research and Treatment*, 2012: 1–7.
3. L. Keverē, S. Purvina, **D. Bauze**, M. Zeibarts, A. Rizevs, L. Piekuse, M. Kreile, I. Purvins „The link between hyperhomocysteinemia and methylenetetrahydrofolate reductase 677C→T polymorphism in children and adolescents with psychotic disorders. *RSU zinātnisko rakstu krājums Zinātniskie raksti* 2011: 161.–171. lpp.
4. L. Keverē, S. Purvina, **D. Bauze**, M. Zeibarts, A. Rizevs, S. Jelisejevs, M. Caune, I. Purvins, R. Andrežina. Hyperhomocysteinemia in children and adolescents with psychotic and mood disorders. *Bridging Eastern and Western Psychiatry*, 2009; 7 (2): 23–30.
5. L. Keverē, S. Purvina, **D. Bauze**, M. Zeibarts, A. Rizevs, M. Caune, I. Purvins, R. Andrežina. Hiperhomocisteinēmija kā riska faktors un marķieris psihiatrisko slimību norisē. *RSU zinātnisko rakstu krājums Zinātniskie raksti*; 2008: 245.–249.lpp.

7.3. Konferenču tēzes par pētījuma tēmu

1. **D. Bauze**, L. Keverē, Z. Kronberga, A. Rizevs, K. Viksna, R. Andrežina, B. Lace. Pharmacogenetic Study of Second Generation Antipsychotic Therapy in Autism Spectrum Disorders. Eiropas Cilvēkā ģenētikas konference, Parīze, Francija, 2013. gada jūnijs, *European Journal of Human Genetics*, Vol. 21 Sup 2, p. 503.
2. **D. Bauze**, L. Piekuse, L. Keverē, Z. Kronberga, I. Vaivade, K. Viksne, A. Rizevs, R. Andrežina, J. Klovins, B. Lace. Study of Single Nucleotide Polymorphism in Chromosomes 11 and 15 in Autism Spectrum Disorder. 20. WPGC Hamburgā, Vācijā, 2012. gada oktobris, p. 133.
3. L. Keverē, S. Purviņa, **D. Bauze**. The link between hyperhomocysteinemia, methylenetetrahydrofolate reductase 677 C→T polymorphism and psychiatric disorders in children and adolescents. *Neuropsychiatrie de l'enfance et de l'adolescence. IACAPAP 2012 20th World Congress – Paris. Juillet 2012*, Vol. 60. No. 5S. p. S227.

4. A. Dzalbs, A. Stamere, G. Kalnberza, I. Teilane, **D. Bauze**, D. Locmele, I. Grinfelde, I. Micule, Z. Krumina, L. Kornejeva, D. Kalniete, M. Miklasevica, E. Miklasevics, R. Lugovska. Submicroscopic chromosome rearrangements in Latvian children with developmental delay and congenital anomalies. *Laboratorine Medicina*. 11th Baltic Congress of Laboratory Medicine – Vilnius, May 2012, p. 11.
5. L. Keverē, S. Purvina, **D. Bauze**, M. Zeibarts, L. Piekuse, M. Kreile. Hyperhomocysteinemia, methylenetetrahydrofolate reductase 677C→T polymorphism and psychiatric disorders in children. *European Neuropsychopharmacology*, Vol 22, Sup 1, 2012, p. S64-S65.
6. A. Dzalbs, Z. Krūmiņa, I. Grīnfelde, **D. Bauze**, G. Kalnbērza, R. Lugovska. Hromosomu trausluma sindromu ctoģenētiskās diagnostikas metodes. RSU Zinātniskās konferences tēzes, 2012., 203. lpp.
7. L. Keverē, A. Rizevs, **D. Bauze**, S. Jelisejevs, D. Doke, I. Zarde, J. Iznovs. Epilepsy in Children and Adolescents with Organic Personality and Behavioral Disorders. RSU Zinātniskās konferences tēzes, 2012, 204. lpp.
8. L. Keverē, S. Purviņa, **D. Bauze**, M. Zeibārts, R. Andrēziņa, L. Piekuse, M. Kreile, I. Purviņš. MTHFR gēna polimorfisms un homocisteīna līmeņa atšķirības bērniem un pusaudžiem ar šizofrēnijas spektra saslimšanām”, RSU 2012. gada zinātniskās konferences tēzes, 232. lpp.
9. **D. Bauze**, L. Keverē, Z. Kronberga, A. Riževs, S. Jelisejevs, Z. Daneberga, A. Dzalbs, D. Ločmele, Z. Krūmiņa, R. Andrēziņa, B. Lāce. Autisma un autiskā spektra traucējumu fenotipisko pazīmju, antropometrisko mērījumu, bioķīmisko rādītāju salīdzinājums un analīze. RSU 2011. gada Zinātniskās konferences tēzes, 239. lpp.
10. L. Keverē, S. Purviņa, **D. Bauze**, M. Zeibārts, A. Riževs, S. Jelisejevs, M. Caune, I. Purviņš, R. Andrēziņa. Paaugstināts homocisteīna līmenis bērniem un pusaudžiem ar psihotiskiem un afektīviem traucējumiem. RSU 2011. gada Zinātniskās konferences tēzes, 191. lpp.
11. A. Dzalbs, **D. Bauze**, B. Lāce, Z. Krūmiņa, D. Ločmele, I. Mičule, I. Grīnfelde, I. Teilāne, G. Kalnbērza, R. Lugovska. Subtelomēru rajonu pārmaiņas bērniem ar attīstības aizturi un iedzimtām anomālijām: sākotnējie rezultāti. RSU 2011. gada Zinātniskās konferences tēzes, 228. lpp.

12. A.Dzalbs, G. Kalnbērza, I. Teilāne, **D. Bauze**, R. Lugovska. Fluorescentā *in situ* hibridizācijas metode submikroskopisku hromosomu aberāciju diagnostikā bērniem ar attīstības aizturi un iedzimtām anomālījām. Apvienotais Pasaules Latviešu zinātnieku 3. kongresa un Letonikas 4. kongresa tēzes, 2011, 29. lpp.
13. **D. Bauze**, L. Keverē, Z. Kronberga, Rīzevs A, S. Jelisejevs, Andrežina R, B. Lace. Psychopharmacological Treatment of Autism Spectrum Disorder. ENCP, 03–07.09.11., Parīze, Francija.
14. **D. Bauze**, L. Keverē, Z. Kronberga, A. Rīzevs, S. Jelisejevs, R. Andrežina, B. Lace. Autism Spectrum Disorders and Seizure Syndrome. ESHG, 28–31.05.11., Amsterdamā, Nīderlande.
15. M. Kreile, L. Piekuse, **D. Bauze**, Y. Stankevich, A. Zarina, B. Lace, A. Krumina. No association between functional polymorphisms in MTHFR and childhood schizophrenia in Latvian population. ESHG, 28–31.05.11., Amsterdamā, Nīderlande.
16. L. Keverē, S. Purvina, **D. Bauze**, M. Zeibarts, A. Rīzevs, S. Jelisejevs, M. Caune, I. Purvins, R. Andrežina. Influence of homocysteine on psychiatric disorders. WFSBP Congress 2011, 29–02.06.11., Prāga, Čehija.
17. L. Keverē, S. Purvina, **D. Bauze**, M. Zeibarts, A. Rīzevs, S. Jelisejevs, M. Caune, I. Purvins, R. Andrežina. Elevated level of homocysteine for children and adolescents with psychotic and mood disorders. ECNP koference, 14–16.04.11., Pēterburga, Krievija.
18. L. Keverē, S. Purvina, **D. Bauze**, M. Zeibarts, A. Rīzevs, S. Jelisejevs, M. Caune, I. Purviņš, R. Andrēžiņa. Paaugstināts homocisteīna līmenis bērniem un pusaudžiem ar psihotiskiem un afektīviem traucējumiem. RSU Zinātniskā konference, 14–15.04.11., Rīga.
19. L. Piekuse, B. Lace, **D. Bauze**, Z. Daneberga, N. Pronina, A. Krumina. Novel MTDNA mutation found in patient with mental retardation. 4th International Congress of Myology, 09-13.05.11., Lille, Francija.
20. L. Keverē, A. Rīzevs, **D. Bauze**, S. Jelisejevs, D. Doke, I. Zarde, J. Iznovs. Epilepsy in children and adolescents with organic personality and behavioral disorders. BCNC, 14.06–16.06.11., Rīga.
21. Z. Daneberga, Z. Krumina, B. Lace, **D. Bauze**, N. Pronina, R. Lugovska. Fragile X syndrome in Latvia: clinical, molecular and population genetic aspects. BCNC, 14–16.06.11., Rīga.

22. L. Kevere, S. Purvina, **D. Bauze**, M. Zeibarts, A. Rizevs, S. Jelisejevs, M. Caune, I. Purvins, R. Andrezina. Children and adolescents with psychotic and mood disorders and level of homocysteine. WPA 18–22.09.11., Argentīna.
23. A. Dzalbs, G. Kalnberza, I. Teilane, **D. Bauze**, D. Locmele, I. Grinfelde, I. Micule, Z. Krumina, B. Lace, R. Lugovska. Subtelomeric aberration in Latvian children with developmental delay and congenital anomalies. *Chromosome Research*, (2011), Vol. 19, Supp.1, S37–S118-S119.
24. **D. Bauze.**, L. Kevere, Z. Kronberga, A. Rizevs, S. Jelisejevs, Dzalbs A. , N. Pronina, Z. Daneberga , Z. Krumina , D. Locmele, R. Andrezina, B. Lace. Seizure Syndrome and Autistic Spectrum Disorders. 11. Baltijas bērnu neirologu asociācijas konferences tēzes, 2011., 11. lpp.
25. Z. Daneberga, Z. Krumina, B. Lace , **D. Bauze.**, N. Pronina, R. Lugovska. Fragile X syndrome in Latvia: clinical, molecular and population genetic aspects. 11. Baltijas bērnu neirologu asociācijas konferences tēzes, 2011., 20. lpp.
26. A. Dzalbs, **D. Bauze**, Z. Krumina, B. Lace, D. Locmele, I. Grinfelde, I. Micule, G. Kalnberza, I. Teilane, R. Lugovska. Screening for subtelomeric rearrangements by fluorescent *in situ* hybridization in children with developmental delay and congenital anomalies. 11. Baltijas bērnu neirologu asociācijas konferences tēzes, 2011., 18.lpp.
27. A. Dzalbs, G. Kalnberza, B. Lace, D. Locmele, I. Teilane, **D. Bauze**, R. Lugovska. Molecular cytogenetic characterization of unbalanced karyotypes by fluorescent *in situ* hybridization using subtelomeric probes. 11. Baltijas bērnu neirologu asociācijas konferences tēzes, 2011., 22. lpp.
28. L. Kevere, S. Purvina, **D. Bauze**, M. Zeibarts, A. Rizevs, S. Jelisejevs, M. Caune, I. Purvins, R. Andrezina. Elevated level of homocysteine for children and adolescents with psychotic and mood disorders. 2nd Young Psychiatrist,s Network Meeting abstract booklet, 6–8.04.11., pp. 39–40.
29. Z.Krumina, **D. Bauze**, I.Grauduma. ERT in a girl with Hunter syndrome. 10th International Workshop on Lysosomal Storage Disorders, 3–4.12.10, pp. 53 Prāga, Čehija.

7.4. Ziņojumi kongresos un konferencēs

1. 2011. gada 14. septembris, konferencē Agrīnas bērnu rehabilitācijas iespējas referāts „Psihisko traucējumu ārstēšana BKUS klīnikā”, Rīga.
2. 2011. gada 12. augusts, Bērnu neirologu un bērnu psihiatru seminārā referāts „Autisma spektra traucējumi – vakar, šodien, rīt”, Rīga.
3. 2011. gada 14. aprīlis, RSU Zinātniskā konferencē referāts „Autisma un autiskā spektra traucējumu fenotipisko pazīmju, antropometrisko mērījumu un bioķīmisko rādītāju salīdzinājums un analīze”, Rīga.
4. 2011. gada 10. februāris, Bērnu un neonatoloģijas māsu apvienotā konferencē referāts „Autisms bērniem”, Rīga.
5. 2011. gada 17. jūnijā 11. Starptautiskā Baltijas bērnu neirologu asociācijas konferencē referāts „Seizure syndrome and autism spectrum disorder”, Rīga.
6. 2011. gada 31. martā Baltijas Metabolo slimību konferencē referāts „2-Hydroxy – glutaric aciduria, L-form”, Viļņa.
7. 2010. gada 11. decembris, 1. Apvienotais Latvijas psihologu kongresā referāts „Autisma diagnosticēšanas un ārstēšanas iespējas Latvijā”.
8. 2010. gada 1.oktobrī RSU BKUS 2. starpdisciplinārajā konferencē referāts „Autiskā spektra traucējumu agrīnās diagnostikas un ārstēšanas vadlīnijas Latvijā”.

8. PATEICĪBAS

Vislielākā un vissirsnīgākā pateicība mana darba vadītājai *Dr. med. Baibai Lācei* par ieguldīto enerģiju, darbu, padomiem, pacietību, sapratni un atbalstu promocijas darba izstrādē un sagatavošanā.

Paldies *Dr. med.* profesorei Raisai Andrēziņai par padomiem promocijas darba izstrādes un sagatavošanas laikā.

Paldies Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centram par iespēju veikt promocijas darba molekulārās ģenētikas izpēti, jo īpaši *Dr. med. Jānim Kloviņam*, par iespēju veikt eksoma sekvenēšanu un Ivaram Silamiķelim par eksoma datu analīzi.

Pateicos saviem promocijas darba konsultantiem *Dr. med. Zandai Danebergai* un bērnu psihiatram Arnim Riževam par padomiem darba sagatavošanā.

Paldies klīniskai psiholoģei Zanei Kronbergai par palīdzību promocijas darba izstrādē.

Paldies VSIA BKUS Bērnu psihiatrijas un Medicīniskās ģenētikas klīnikas kolēģiem, māsiņām, māsu palīgiem par nesavtīgo palīdzību un atbalstu darba tapšanā.

Vissirsnīgākais paldies visiem AST pacientiem, viņu vecākiem un aizbildņiem par piedalīšanos pētījumā.

Pateicos Rīgas Stradiņa Universitātei par iespēju studēt doktorantūras studiju programmā un par finansiālo atbalstu, kas tika sniegts no ESF līdzekļiem.

Vislielākais un sirsnīgākais paldies maniem vecākiem, manai ģimenei un maniem draugiem par atbalstu, sapratni, palīdzību un izturību.

9. LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Krūmiņa D., Kokare I., Biķis E. Latvijas bērnu fiziskās attīstības novērtēšana. – Rīga: SIA Medicīnas apgāds, 2007. – 23.–31. lpp.
2. Polmanis T, Pelne A, Taube M. Psihiskā veselība Latvijā 2011.gadā. Tematiskais ziņojums. 12. izdevums. – Rīga: Slimību profilakses un kontroles centrs, 2011. – 28. lpp.
3. Velika B., Pudule I., Grīnberga D. Bērnu antropometrisko parametru un skolas vides pētījums Latvijā, 2010. – Rīga: Veselības ekonomikas centrs, 2011. – 20.–27. lpp.
4. Zāļu valsts aģentūra.Latvija. <http://www.zva.gov.lv/anonymous> (sk. 20.02.2011).
5. Aase J. M., Diagnostic Dysmorphology. – New York: Plenum Medical Book Co., 1990.
6. Abrahams B. S., Geschwind D. H. Review Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology // Nat Rev Genet, 2008; 9 (5): 341–55.
7. Alarcon M., Cantor R. M., Liu J., et al. Autism Genetic Research Exchange Consortium. Evidence for a language quantitative trait locus on chromosome 7q in multiplex autism families // American Journal of Human Genetics, 2002; 70 (1): 60–71.
8. Alarcon M., Yonan A. L., Gilliam T. C., et al. Quantitative genome scan and Ordered-Subsets Analysis of autism endophenotypes support language QTLs // Molecular psychiatry, 2005; 10 (8): 747–757.
9. Al-Dosari M. S., Al-Owain M., Tulbah M., et al. Mutation in MPDZ causes severe congenital hydrocephalus // J Med Genet, 2013; 50 (1): 54–8.
10. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. – 4th ed. – Washington: D. C. American Psychiatric Publishing, 1994.
11. Anderson G. D. Developmental pharmacokinetics // Semin Pediatr Neurol, 2010; 17: 208–213.
12. Anney R. J., Kenny E. M., O'Dushlaine C., et al. Geneontologyenrichment analysis in two independent family-based samples highlights biologically plausible processes for autism spectrum disorders // European journal of human genetics: EJHG, 2011; 19 (10) :1082-1089.

13. Anney R., Klei L., Pinto D., et al. A genome-wide scan for common alleles affecting risk for autism // *Human molecular genetics*, 2010; 19 (20): 4072-4082.
14. Arnt J., Skarsfeldt T. Do novel antypsychotics have similar pharmacological characteristics? A review of the evidence // *Neuropsychopharmacology*, 1998; 18:63-101.
15. Asperger H. "Autistic psychopathy" in childhood // *Autism and Asperger syndrome* / Ed. by Frith U. – Cambridge: Cambridge University Press; 1994/1991. – Pp. 37–92.
16. Atladottir H. O. Maternal infection requiring hospitalization during pregnancy and autism spectrum disorders // *J. Autism Devel Dis*, 2010;40:1423–1430.
17. Auranen M., Vanhala R., Varilo T., et al. A genomewide screen for autism-spectrum disorders: evidence for a major susceptibility locus on chromosome 3q25-27 // *Am. J Hum Genet*, 2002; 71 (4):777–90.
18. Aylward E. H., Minshew N. J., Field K., et al. Effects of age on brain volume and head circumference in autism // *Neurology*, 2002; 59:175–183.
19. Bailey A., Le Couteur A., Gottesman I., et al. Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study // *Psychological medicine* 1995; 25 (1): 63–77.
20. Baines A. J., Bignone P. A., King M. D. A., et al. The CKK domain (DUF1781) binds microtubules and defines the CAMSAP/ssp4 family of animal proteins // *Molec. Biol. Evol*, 2009; 26: 2005–2014.
21. Baron-Cohen S., Allen J., Gillberg C. Can autism be detected at 18 month? The needle, the haystack, and the CHAT // *Br J Psychiatry*, 1992; 161: 839–843.
22. Baron-Cohen S., Hoekstra A. R., Knickmeyer R., Wheelwright S. The Autism Quotient (AQ) – Adolescent Version // *J Autism Dev Disord*, 2006; 36:343–350.
23. Belmonte M. K., Allen G., Beckel-Mitchener A., et al. Autism and abnormal development of brain connectivity // *J. Neurosci*, 2004; 24: 9228–9231.
24. Berkel S., Tang W., Trevino M., et al. Inherited and de novo SHANK2 variants associated with autism spectrum disorder impair neuronal morphogenesis and physiology // *Human molecular genetics*, 2012; 21 (2): 344–357.
25. Betancur C. Etiological heterogeneity in autism spectrum disorders: more than 100 genetic and genomic disorders and still counting // *Brain research*, 2011; 1380: 42–77.

26. Bettelheim B. *The Empty Fortress: Infantile Autism and the Birth of the Self.* – New York: Free Press; 1967.
27. Bleuler E. *Dementia Praecox or the Group of Schizophrenias.* – New York: J. Zinkin International Universities Press; 1950.
28. Bonati M. T., Russo S., Finelli P., et al. Evaluation of autism traits in Angelman syndrome: a resource to unfold autism genes // *Neurogenetics*, 2007; 8 (3): 169–178.
29. Bourgeron T. A synaptic trek to autism // *Current opinion in neurobiology*, 2009; 19 (2): 231–234.
30. Brene S., Lindefors N., Ehrlich M., et al. Expression of mRNAs encoding ARPP-16/19, ARPP-21, and DARPP-32 in human brain tissue // *J. Neurosci*, 1994; 14: 985–998.
31. Bryson S. E., Clark B. S., Smith I. M. First report of a Canadian epidemiological study of autistic syndromes // *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 1988; 29 (4): 433–445.
32. Buono R. J., Lohoff F.W., Sander T., et al. Association between variation in the human KCNJ10 potassium ion channel gene and seizure susceptibility // , 2004; 58 (2-3): 175–83.
33. Burgess N. K., Sweeten T. L., McMahon W. M., Fujinami R. S. Hyperserotoninemia and altered immunity in autism // *J. Autism Dev Disord*, 2006; 36: 697–704.
34. Buxbaum J. D., Silverman J., Keddache M. et al. Linkage analysis for autism in a subset families with obsessive-compulsive behaviors: evidence for an autism susceptibility gene on chromosome 1 and further support for susceptibility genes on chromosome 6 and 19 // *Molecular psychiatry*, 2004; 9 (2): 144–150.
35. Cafiero J. *Meaningful exchanges for people with autism: An introduction to AAC.* – Bethesda, CA: Woodbine House, 2005.
36. Campbell M., Geller B., Small A. M. et al. Minor physical anomalies in young psychotic children // *American Journal of Psychiatry*, 1978; 135 (5): 573–575.
37. Campbell M., Shay J. *Pervasive developmental disorders* // *Comprehensive text book of psychiatry* / Ed.by Kaplan H. J., Saddok B. T. – 6th ed., vol. 2. – Baltimore: Williams and Wilkins, 1995. – Pp. 2277.

38. Canitano R., Luchetti A., Zapella M. Epilepsy, elektroencephalographic abnormalities, and regression in children with autism // *J Child Neurol* 2005; 20 (1): 27–31.
39. Cantor R. M., Kono N., Duvall J. A., et al. Replication of autism linkage: fine-mapping peak at 17q21 // *American Journal of Human Genetics*, 2005; 76 (6): 1050–1056.
40. Carper R. A., Courchesne E. Localized enlargement of the frontal cortex in early autism // *Biol Psychiatry*, 2005; 57: 126–133.
41. Chakrabarti S., Fombonne E. Pervasive developmental disorders in preschool children // *JAMA: the journal of the American Medical Association*, 2001; 285 (24): 3093–3099.
42. Chess S. Follow-up report on autism in congenital rubella // *Journal of Autism and Childhood Schizophrenia*, 1977; 7:69–81.
43. Chez M. G., Chang M., Krasne V. et al. Frequency of epileptiform EEG abnormalities in sequential screening of autistic patients with no known clinical epilepsy from 1996 to 2005 // *Epilepsy Behav*, 2006; 8: 267–271.
44. Cho S. C., Yoo H. J., Park M. et al. Genome-wide association scan of Korean autism spectrum disorders with language delay: a preliminary study // *Psychiatry Investig*, 2011; 8: 61–66.
45. Christian S. L., Brune C. W., Sudi J. et al. Novel submicroscopic chromosomal abnormalities detected in autism spectrum disorder // *J Biologic Psychiatry*, 2008; 63 (12): 1111–1117.
46. Cohen I. L., Tsiouris J. A. Maternal recurrent mood disorders and high-functioning autism // *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2006; 36 (8): 1077-1088.
47. Connolly J. J., Glessner J. T., Hakonarson H. A Genome-Wide Association Study of Autism Incorporating Autism Diagnostic Interview-Revised, Autism Diagnostic Observation Schedule, and Social Responsiveness Scale // *Child development*, 2012; 84 (1): 17–33.
48. Cook E., Leventhal B. The serotonin system in autism. A review of the evidence for involvement of the serotonin system in the aetiology of autism // *Curr Opin Pediatr*, 1996; 8: 348–354.

49. Coon H., Matsunami N., Stevens J. et al. Evidence for linkage on chromosome 3q25-27 in a large autism extended pedigree // *Human heredity*, 2005; 60 (4): 220–226.
50. Cooper G. M., Coe B., Girirajan S. et al. A copy number variation morbidity map of developmental delay // *Nature genetics*, 2011; 43 (9): 838–846.
51. Correia C. T., Almeida J. P., Santos P. E., et al. Pharmacogenetics of risperidone therapy in autism: association analysis of eight candidate genes with drug efficacy and adverse drug reactions // *Pharmacogenomics J*, 2010; 10: 418–430.
52. Costa e Silva J. A. Personalized medicine in psychiatry: new technologies and approaches // *Metabolism*, 2013; 62 (1): 40–4.
53. Courchesne E., Carper R., Akshoomoff N. Evidence of brain overgrowth in the first year of life in autism // *Journal of the American Medical Association*, 2003; 290 (3): 337–344.
54. Courchesne E., Pierce K. Brain overgrowth in autism during a critical time in development: implications for frontal pyramidal neuron and interneuron development and connectivity // *Int J. Dev Neurosci*, 2005; 23: 153–170.
55. Croonenberghs J., Delmeire L., Verkerk R., et al. Peripheral markers of serotonergic and noradrenergic function in post-pubertal, caucasian males with autistic disorder // *Neuropsychopharmacology*, 2000; 22: 275–283.
56. Crow J. F. The origins, patterns and implications of human spontaneous mutation // *Nature reviews.Genetics*, 2000; 1 (1): 40–47.
57. Cuscó I., Medrano A., Gener B. et al. Autism-specific copy number variants further implicate the phosphatidylinositol signaling pathway and the glutamatergic synapse in the etiology of the disorder // *Hum Mol Genet*, 2009; 18: 1795–1804.
58. Danielsson S., Gillberg I. C., Billstedt E. et al. Epilepsy in young adults with autism: a prospective population-based follow-up study of 120 individuals diagnosed in childhood // *Epilepsia*, 2005; 46 (6): 918–23.
59. Deykin E. Y., MacMahon B. Viral exposure and autism // *American Journal of Epidemiology*, 1979; 109: 628–638.
60. Dhami G. K., Ferguson S. S. Regulation of metabotropic glutamate receptor signaling, desensitization and endocytosis // *Pharmacol Ther*, 2006; 111 (1): 260–71.
61. DiLavore P. C., Lord C., Rutter M. The pre-linguistic autism diagnostic observation Schedule // *J Autism Dev Disord*, 1995; 25 (4): 355–79.

62. Duvall J. A., Lu A., Cantor R. M., et al. A quantitative trait locus analysis of social responsiveness in multiplex autism families // *The American Journal of Psychiatry*, 2007; 164 (4): 656–662.
63. Ehlers S., Gillberg C. The epidemiology of Asperger syndrome. A total population study // *Journal of child psychology and psychiatry*, 1993; 34 (8): 1327–1350.
64. Ehlers S., Gillberg C., Wing L. Autism Spectrum Screening Questionnaire (ASSQ) // *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 1999; 29: 129–141.
65. Elia J., Glessner J. T., Wang K., et al. Genome-wide copy number variation study associates metabotropic glutamate receptor gene networks with attention deficit hyperactivity disorder // *Nature genetics*, 2011; 44 (1): 78–84.
66. Elsabbagh M., Divan G., Koh Y. J., et al. Global prevalence of autism and other pervasive developmental disorders // *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, 2012; 5 (3): 160–179.
67. Erickson C. A., Stigler K. A., Corkins M. R., et al. Gastrointestinal factors in autistic disorder: a critical review // *J Autism Dev Disord*. 2005; 35 (6): 713–727.
68. Erlenmeyer-Kimling L., Rock D., Roberts S. A., et al. Attention, memory, and motor skills as childhood predictors of schizophrenia-related psychoses: the New York High-Risk Project // *American Journal of Psychiatry*, 2000; 157: 1416–1422.
69. Farrington C. P., Miller E., Taylor B. MMR and autism: further evidence against a causal association // *Vaccine*, 2001; 19 (27): 3632–3635.
70. First M. B. Harmonisation of ICD–11 and DSM–V: opportunities and challenges // *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, 2009; 195 (5): 382–390.
71. Fitzgerald M., Corvin A. Diagnosis and differential diagnosis of Asperger syndrome // *Advances in Psychiatric Treatment*, 2001; 7: 310–318.
72. Folstein S. E., Rosen-Sheidley A. Genetics of autism: complex aetiology for a heterogeneous disorder // *Nature reviews. Genetics*, 2001; 2 (12): 943–955.
73. Folstein S., Rutter M. Genetic influences and infantile autism // *Nature*, 1977b; 265 (5596): 726–728.
74. Folstein S., Rutter M. Infantile autism: a genetic study of 21 twin pairs // *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 1977a; 18 (4): 297–321.

75. Fombone E. Prevalence of childhood disintegrative disorder // *Autism*, 2002; 6 (2): 149–157.
76. Fombonne E. Epidemiology of Pervasive Developmental Disorders // *Pediatric Res*, 2009; 65(6): 591–598.
77. Fombonne E. Is autism getting commoner? // *Br J Psychiatry*, 2008; 193 (1): 56–59.
78. Fombonne E., Zakarian R., Bennett A., et al. Pervasive developmental disorders in Montreal, Quebec, Canada: prevalence and links with immunizations, *Pediatrics*, 2006; 118 (1): 139–50.
79. Freitag C. M., Staal W., Klauck S. M., et al. Genetics of autistic disorders: review and clinical implications // *European child and adolescent psychiatry*, 2010; 19 (3): 169–178.
80. Gardener H., Spiegelman D., Buka S. L. Perinatal and neonatal risk factors for autism: a comprehensive meta-analysis // *Pediatrics*, 2011; 128 (2): 344–355.
81. Gardener H., Spiegelman D., Buka S. L. Prenatal risk factors for autism: comprehensive meta-analysis // *Br J Psychiatry*, 2009, 195 (1): 7–14.
82. Geschwind D. H. Advances in autism // *Annual Review of Medicine*, 2009; 60: 367–380.
83. Geschwind D. H., Levitt P. Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes // *Curr Opin Neurobiol*, 2007; 17: 103–111.
84. Gillberg C. Asperger syndrome and high-functioning autism // *Br J Psychiatry*. 1998; 172: 200–209.
85. Gillberg C. Autism spectrum disorders // *A Clinician's Handbook of Child and Adolescent Psychiatry* / Ed. by Gillberg C., Harrington R., Steinhausen, H. C. – Cambridge, UK; New York: Cambridge University Press, 2006 – Pp. 447–489.
86. Gillberg C. The Emmanuel Miller Memorial Lecture 1991. Autism and autistic-like conditions: subclasses among disorders of empathy // *J Child Psychol Psychiatry*, 1992; 33(5): 813–842.
87. Gillberg C., Billstedt E. Autism and Asperger syndrome: coexistence with other clinical disorders // *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 2000; 102: 321–330.
88. Gillberg C., Coleman M. Autism and medical disorders: a review of the literature // *Dev Med Child Neurol*, 1996; 38: 191–202.

89. Gillberg C., Ehlers S. High functioning people with autism and Asperger's syndrome // *Asperger's Syndrome or High Functioning Autism* / Ed by Schoplar E, Mesihov G., Kunc L. J. – New York, NY: Plenum, 1998 – Pp. 77–100.
90. Gillberg C., Gillberg C., Rastam M., Wentz E. The Asperger syndrome (and high-functioning autism) Diagnostic Interview (ASDI): a preliminary study of a new structured clinical interview // *Autism*, 2001; 5(1):57–66.
91. Gillberg I. C., Gillberg C. Asperger syndrome—some epidemiological considerations: a research note // *J Child Psychol Psychiatry*, 1989; 30 (4): 631–638.
92. Glessner J. T., Connolly J. J., Hakonarson H. Rare Genomic Deletions and Duplications and their Role in Neurodevelopmental Disorders // *Current topics in behavioral neurosciences*, 2012; (12): 345–360.
93. Glessner J. T., Wang K., Cai G., et al. Autism genome-wide copy number variation reveals ubiquitin and neuronal genes // *Nature*, 2009; 459 (7246): 569–573.
94. Green W .H., Campbell M., Hardesty A. S., et al. A comparison of schizophrenic and autistic children // *J Am Acad Child Psychiatry*, 1984; 23 (4): 390–409.
95. Gualtieri C. T., Adams A., Shen C .D., Loiselle D. Minor physical anomalies in alcoholic and schizophrenic adults and hyperactive and autistic children // *American Journal of Psychiatry*, 1982; 139 (5): 640–643.
96. Guilmatre A., Dubourg C., Mosca A. L., et al. Recurrent rearrangements in synaptic and neurodevelopmental genes and shared biologic pathways in schizophrenia, autism, and mental retardation // *Archives of General Psychiatry*, 2009; 66 (9): 947–956.
97. Haavik J., Blau N., Thöny B. Mutations in human monoamine-related neurotransmitter pathway genes // *Hum Mutat.*, 2007; 29: 891–902.
98. Hallmayer J., Cleveland S., Torres A., et al. Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism // *Archives of General Psychiatry*, 2011; 68 (11): 1095–1102.
99. Hammond P., Forster-Gibson C., Chudley A. E., et al. Face-brain asymmetry in autism spectrum disorders // *Molecular Psychiatry*, 2008; 13 (6): 614–623.
100. Haraksingh R. R., Abyzov A., Gerstein M., et al. Genome-wide mapping of copy number variation in humans: comparative analysis of high resolution array platforms // *PloSone*, 2011; 6 (11): e27859.

101. Hardan A. Y., Keshavan M. S., Sreedhar S., et al. An MRI study of minor physical anomalies in autism // *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2006; 36 (5): 607–611.
102. Hebebrand J., Buitelaar J. K. On the way to DSM-V // *European child and adolescent psychiatry*, 2011; 20 (2) :57–60.
103. Hellbrugge T., Lajosi F., Menara D. Münchener Funktionelle Entwicklung - gsdiagnostik. – Luubeck : Hansisches Verlagskontor, 1994.
104. Herbert M. R. Large brains in autism: the challenge of pervasive abnormality // *Neuroscientist*, 2005; 11:417–440.
105. Herlenius E., Lagercrantz H. Development of neurotransmitter systems during critical periods // *Exp Neurol*, 2004; 190 (1): S8–21.
106. Honda H., Shimizu Y., Misumi K., et al. Cumulative incidence and prevalence of childhood autism in children in Japan // *Br J Psychiatry*, 1996; 169 (2): 228–35.
107. Horvath K., Papadimitriou J. C., Rabsztyn A., et al. Gastrointestinal abnormalities in children with autistic disorders // *J Pediatr*, 1999; 135 (5): 559–563.
108. Horvath K., Perman J. A. Autism and gastrointestinal symptoms // *Curr Gastroenterol Rep*. 2002; 4 (3): 251–258.
109. Hu V. W., Frank B. C., Heine S., et al. Gene expression profiling of lymphoblastoid cell lines from monozygotic twins discordant in severity of autism reveals differential regulation of neurologically relevant genes // *BMC Genomics*, 2006; 18 (7): 118.
110. Hukkanen J. Xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 enzymes in human lung. – University of Oulu publications. – Finland: Oulu University, 2000.
111. Hultman C. M., Sparen P., Cnattingius S. Perinatal risk factors for infantile autism // *Epidemiology*, 2002; 13: 417–423.
112. Icasiano F. Childhood autism spectrum disorder in the Barwon region: a community based study // *Journal of paediatrics and child health*, 2004; 40 (12): 696.
113. Ingelman-Sundberg M., Sim S. C., Gomez A., Rodriguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeconomic and clinical aspects // *Pharmacol Ther*, 2007; 116 (3): 496–526.

114. International Molecular Genetic Study of Autism Consortium (IMGSAC). A full genome screen for autism with evidence for linkage to a region on chromosome 7q // *Hum Mol Genet*, 1998; 7: 571–8.
115. International Molecular Genetic Study of Autism Consortium (IMGSAC). A genomewide screen for autism: strong evidence for linkage to chromosomes 2q, 7q, and 16p // *American Journal of Human Genetics*, 2001; 69 (3): 570–581.
116. Jacquemont M. L., Sanlaville D., Redon R., et al. Array-based comparative genomic hybridisation identifies high frequency of cryptic chromosomal rearrangements in patients with syndromic autism spectrum disorders // *J Med Genet*, 2006; 43 (11): 843–849.
117. Jamain S., Quach H., Betancur C., et al. Mutations of the Xlinked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism // *Nature genetics*, 2003; 34 (1): 27–29.
118. Jesner O. S., Aref-Adib M., Coren E. Risperidone for autism spectrum disorder // *Cochrane Database Syst Rev*, 2007; 24: CD005040.
119. Jones K. L. Smith's recognizable patterns of human malformation. – 6th ed. – Philadelphia: W.B.Saunders, 2006. – Pp. 835–863.
120. Juranek J., Filipek P. A., Berenji G. R., et al. Association between amygdala volume and anxiety level: magnetic resonance imaging (MRI) study in autistic children // *J. Child Neurol*. 2006; 21: 1051–1058.
121. Kagan-Kushnir T., Roberts S. W., Snead O. C. 3rd. Screening electroencephalograms in autism spectrum disorders: evidence-based guideline // *J Child Neurol*, 2005; 20 (3): 197–206.
122. Kakinuma H., Sato H. Copy-number variations associated with autism spectrum disorder // *Pharmacogenomics*, 2008; 9 (8): 1143–1154.
123. Kanaho Y., Funakoshi Y., Hasegawa H. Phospholipase D signalling and its involvement in neurite outgrowth // *Biochim Biophys Acta*, 2009; 1791 (9): 898–904.
124. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact // *Nerv Child*. 1943; 2: 217–250 / Reprinted in *Acta Paedopsychiatr*. 1968; 35(4): 100–136.
125. Kanner L. Problems of nosology and psychodynamics in early childhood autism // *Am J Orthopsychiatry*, 1949; 19(3): 416–426.
126. Kaplan HJ, Saddok BT, editors. Comprehensive text book of psychiatry. – 6th ed. – Baltimore: Williams and Wilkins, 1995. – Pp. 1191 – 1206.

127. Kaufman L., Ayub M., Vincent J. B. The genetic basis of non-syndromic intellectual disability: a review // *Journal of neurodevelopmental disorders*, 2010; 2 (4): 182–209.
128. Kerin T., Ramanathan A., Rivas K., et al. A noncoding RNA antisense to moesin at 5p14.1 in autism // *Science translational medicine*, 2012; 4 (128): 128–140.
129. Kolevzon A., Gross R. W., Reichenberg A. Prenatal and perinatal risk factors for autism a review and integration of findings // *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2007; 161 (4): 326–33.
130. Kolvin I. Infantile autism or infantile psychoses // *Br Med J*, 1972; 3 (5829): 753–755.
131. Kondo H., Shirakawa R., Higashi T., et al. Constitutive GDP/GTP exchange and secretion-dependent GTP hydrolysis activity for Rab27 in platelets // *J. Biol Chem*, 2006; 281 (39): 28657–28665.
132. Kong A., Frigge M. L., Masson G., et al. Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk // *Nature*, 2012; 488 (7412): 471–475.
133. Krug D. A., Arick J., Almond P. Behavior checklist for identifying severely handicapped individuals with high levels of autistic behavior // *J Child Psychol Psychiatry*, 1980; 21 (3): 221–229.
134. Kumar R. A., KaraMohamed S., Sudi J., et al. Recurrent 16p11.2 microdeletions in autism // *Human molecular genetics*, 2008; 17 (4): 628–638.
135. Lainhart J. E., Ozonoff S., Coon H., et al. // *Am J Med Genet*, 2002; 113 (3): 231–237.
136. Lane A., Kinsella A., Murphy P., et al. The anthropometric assessment of dysmorphic features in schizophrenia as an index of its developmental origins // *Psychological Medicine*, 1997; 27 (5): 1155–1164.
137. Laumonnier F., Bonnet-Brilhault F., Gomot M., et al. X-linked mental retardation and autism are associated with a mutation in the NLGN4 gene, a member of the neuroligin family // *Am. J. Hum. Genet*, 2004; 74: 552–557.
138. Lauriat T. L., Dracheva S., Kremerskothen J., et al. Characterization of KIAA0513, a novel signaling molecule that interacts with modulators of neuroplasticity, apoptosis, and the cytoskeleton // *Brain Res* 2006; 1121: 1–11.
139. Lauritsen M. B., Pedersen C. B, Mortensen P. B. Effects of familial risk factors and place of birth on the risk of autism: a nationwide register-based study //

- Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines, 2005; 46 (9): 963–971.
140. Levy D., Ronemus M., Yamrom B., et al. Rare de novo and transmitted copy-number variation in autistic spectrum disorders // *Neuron* 2011; 70 (5): 886–897.
 141. Levy S. E., Mandell D. S., Schultz R. T. Autism // *Lancet*, 2009; 374 (7): 1627–1638.
 142. Li X., Zou H., Brown W. T. Genes associated with autism spectrum disorder // *Brain research bulletin*, 2012; 88 (6): 543–552.
 143. Libbey J. E., Sweeten T. L., McMahon W. M., Fujinami R. S. Autistic disorder and viral infections // *Journal of Neurovirology*, 2005; 11: 1–10.
 144. Lightdale J. R., Siegel B., Heyman M. B. Gastrointestinal symptoms in autistic children // *Clinical Perspectives in Gastroenterology*, 2001; 1: 56–58.
 145. Lintas C., Persico A. M. Autistic phenotypes and genetic testing: state-of-the art for the clinical geneticist // *J Med Genet*, 2009; 46 (1): 1–8.
 146. Liu J., Nyholt D. R., Magnussen P., et al. A genomewide screen for autism susceptibility loci // *American Journal of Human Genetics*, 2001; 69 (2): 327–340.
 147. Liu X. Q., Paterson A. D., Szatmari P. Genome-wide linkage analyses of quantitative and categorical autism subphenotypes // *Biol Psychiatry*, 2008; 64 (7): 561–570.
 148. Lord C., Rutter M., DiLavore P. C., Risi S. Autism diagnostic observation schedule manual. – Los Angeles: Western Psychological Services, 2002.
 149. Lord C., Rutter M., Goode S., et al. Autism diagnostic observation schedule: a standardized observation of communicative and social behavior // *J Autism Dev Disord*, 1989; 19 (2): 185–212.
 150. Lord C., Rutter M., Le Couteur A. Autism Diagnostic Interview-Revised: a revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders // *J Autism Dev Disord*, 1994; 24 (5): 659–685.
 151. Lovaas O. I. Behavioral treatment and normal educational and intellectual functioning in young autistic children // *J Consult Clin Psycho*, 1987; 55 (1): 3–9.
 152. Lutz J. Über Schizophrenie im Kindesalter // *Schweizer Archiv für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie*, 1937/38; (39): 335–372.
 153. Mallow B. A. Sleep disorders, epilepsy, and autism // *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 2004; 10 (2): 122–125.

154. Mandell D. S., Morales K. H., Marcus S. C., et al. Psychotropic medication use among Medicaid-enrolled children with autism spectrum disorders // *Pediatrics*, 2008; 121 (3): 441–448.
155. Manent J. B., Represa A. Neurotransmitters and brain maturation: early paracrine actions of GABA and glutamate modulate neuronal migration // *Neuroscientist*, 2007; 13: 268–279.
156. Marshall C. R., Noor A., Vincent J. B., A, et al. Structural variation of chromosomes in autism spectrum disorder // *Am J Hum Genet*, 2008; 82 (2): 477–488.
157. Matilla M., Kielinen M., Jussila K., et al. An epidemiological and diagnostic study of Asperger syndrome according to four sets of diagnostic criteria // *J. of Am. Child and Adolescent Psyc*, 2007; 46 (5): 636–646.
158. McDougle C. J., Erickson C. A., Stigler K. A., Posey D. J. Neurochemistry in the pathophysiology of autism // *J. Clin Psychiatry*, 2005; 66: 9–18.
159. McGrath J., El-Saadi O., Grim V., et al. Minor physical anomalies and quantitative measures of the head and face in patients with psychosis // *Arch Gen Psychiatry*, 2002; 59: 458–464.
160. Melmed R., Schneider C. K., Fabes R. A., et al. Metabolic markers and gastrointestinal symptoms in children with autism and related disorders // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2000; 31: S31–32.
161. Merks J. H., van Karnebeek C. D., Caron H. N., Hennekam R. C. Phenotypic abnormalities: terminology and classification // *Am. J. Med Genet*, 2003; 123A (3): 211–30.
162. Mesibov G. B., Shea V., Schopler E. *The TEACCH Approach to Autism Spectrum Disorders*. – Springer, 2004
163. Miles J. H., Hadden L. L., Takahashi T. N., Hillman R. E. Head circumference is an independent clinical finding associated with autism // *Am. J. Med Genet* 2000; 95 (4): 339–350.
164. Miles J. H., Hillman R. E. Value of a clinical morphology examination in autism // *Am. J. Med Genet*, 2000; 91: 245–253.
165. Miles J. H., Takahashi T. N., Bagby S., et al. Essential versus complex autism: definition of fundamental prognostic subtypes // *Am. J. Med Genet*, 2005; 135: 171–180.

166. Miles J. H., Takahashi T. N., Hong J., et al.. Development and validation of a measure of dysmorphology: useful for autism subgroup classification // *Am J Med Genet*, 2008; 146A (9): 1101–1116.
167. Millar D. C., Light J. C., Schlosser R. W. The impact of augmentative and alternative communication intervention on the speech production of individuals with developmental disabilities: a research review // *J Speech Lang Hear Res*, 2006; 49 (2): 248–264.
168. Minshew N. J., Williams D. L. The new neurobiology of autism: cortex, connectivity, and neuronal organization // *Arch Neurol*, 2007; 64: 945–950.
169. Morrow E. M., Yoo S. Y., Flavell S. W., et al. Identifying autism loci and genes by tracing recent shared ancestry // *Science*, 2008; 321 (5886): 218–223.
170. Muhle R., Trentacoste S. V., Rapin I. The genetics of autism // *Pediatrics*, 2004; 113 (5): 472–486.
171. Munson J. Dawson G., Abbott R., et al. Amygdalar volume and behavioral development in autism // *Arch. Gen. Psychiatry*, 2006; 63: 686–693.
172. Myers S. M. The status of pharmacotherapy for autism spectrum disorders // *Expert Opin Pharmacother*, 2007; 8 (11): 1579–1603.
173. Myers S. M., Johnson C. P. American Academy of Pediatrics Council on Children With Disabilities. Management of children with autism spectrum disorders // *Pediatrics*, 2007; 120 (5): 1162–1182.
174. Nagase T., Ishikawa K., Kikuno R., et al.. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XV. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins in vitro // *DNA Res*, 1999; 6: 337–345.
175. Neale B. M., Kou Y., Liu L., et al. Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders // *Nature*, 2012; 485: 242–245.
176. Newschaffer C. J., Fallin D., Lee N. L. Heritable and nonheritable risk factors for autism spectrum disorders // *Epidemiol Rev*. 2002; 24 (2) 137–153.
177. Nickl-Jockschat T., Michel T. M. The role of neurotrophic factors in autism // *Mol Psychiatry*, 2011; 16: 478–490.
178. Nikolov R., Jonker J., Scahill L. Autistic disorder: current psychopharmacological treatments and areas of interest for future developments // *Rev Bras Psiquiatr*, 2006; 28: 39–46.
179. Nunn K., Dey C. The Clinician's Guide to Psychotropic Prescribing in Children and Adolescents. – 1st ed. – Sydney: Glade Publishing, 2003

180. O'Roak B. J., Deriziotis P., Lee C., et al. // Nat Genet, 2011; 43 (6): 585–589.
181. O'Roak B. J., Vives L., Fu W., et al. Multiplex targeted sequencing identifies recurrently mutated genes in autism spectrum disorders // Science, 2012b; 338 (6114): 1619–1622.
182. O'Roak B. J., Vives L., Girirajan S., et al. Sporadic autism exomes reveal a highly interconnected protein network of de novo mutations // Nature, 2012a; 485 (7397): 246–250.
183. Oyane N. M., Bjorvatn B. Sleep disturbances in adolescents and young adults with autism and Asperger syndrome // Autism, 2005; 9: 83–94.
184. Ozgen H. M., Hellemann G. S., Stellato R. K., et al. Morphological Features in Children with Autism Spectrum Disorders: A Matched Case–Control Study // J. Autism Dev Disord, 2011; 41 (1): 23–31.
185. Ozgen H. M., Hop J. W., Hox J. J., et al. Minor physical anomalies in autism: a meta-analysis // Mol Psychiatry, 2010; 15 (3): 300–307.
186. Ozonoff S.. Recurrence risk for autism spectrum disorders: a Baby Siblings Research Consortium study // Pediatrics, 2011; 128 (3): e488.
187. Papa M., Boscia F., Canitano A., et al. Expression pattern of the ether-a-gogo-related (ERG) K⁺ channel-encoding genes ERG1, ERG2, and ERG3 in the adult rat central nervous system // J Comp Neurol, 2003; 3;466 (1):119–135.
188. Pardo C. A., Eberhart C. G. The neurobiology of autism // Brain Pathology, 2007; 17 (4): 434–447.
189. Parker S. K. Thimerosal-containing vaccines and autistic spectrum disorder: a critical review of published original data // Pediatrics, 2004; 114 (3):786:793.
190. Patterson P. H. Maternal infection and immune involvement in autism // Trends Mol Med, 2011; 17 (7): 389–394.
191. Philibert R. A., Winfield S. L., Sandhu H. K., et al. The structure and expression of the human neuroligin-3 gene // Gene, 2000; 246: 303–310.
192. Pinto D., Pagnamenta A. T., Klei L., et al. Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders // Nature, 2010; 466 (7304): 368–372.
193. Piven S., Arndt J., Bailey S., et al. An MRI study of brain size in autism // American Journal of Psychiatry, 1995; 152 (8): 1145–1149.

194. Polimeni M. A., Richdale A. L., Francis J. A. A survey of sleep problems in autism, Asperger's disorder and typically developing children // *J. Intellect Disabil Re*, 2005; 49: 260–268.
195. Polleux F., Lauder J. M. Toward a developmental neurobiology of autism // *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 2004; 10: 303–317.
196. Prior M., Eisenmajer R., Leekam S., et al. Are there subgroups within the autistic spectrum? A cluster analysis of a group of children with autistic spectrum disorders // *J. Child Psychol Psychiatry*, 1998; 39 (6): 893–902.
197. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses // *Am. J. Hum. Genet*, 2007; 81: 559–575.
198. Rakhilin S. V., Olson P. A., Nishi A., et al. A network of control mediated by regulator of calcium/calmodulin-dependent signaling // *Science*, 2004; 306: 698–701.
199. Reichenberg A., Gross R., Weiser M. et al. Advancing paternal age and autism // *Arch Gen Psychiatry*, 2006; 63: 1026–1032.
200. Richler J. Is there a 'regressive phenotype' of Autism Spectrum Disorder associated with the measlesmumps- rubella vaccine? A CPEA Study // *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2006; 36 (3): 299–316.
201. Rimland B. *Infantile Autism: The Syndrome and Its Implication for a Neural Theory of Behavior*. – New York: Appleton-Century-Crofts, 1964. – Pp. 65–70.
202. Rodier P. M., Bryson S. E., Welch J. P. Minor malformations and physical measurements in autism: Data from Nova Scotia // *Teratology*, 1997; 55 (5): 319–325.
203. Rodriguez-Antona C., Gurwitz D., Leon J., et al. CYP2D6 genotyping for psychiatric patients treated with risperidone: considerations for cost-effectiveness studies // *Pharmacogenomics*, 2009; 10 (4): 685–699.
204. Rutter M. Childhood schizophrenia reconsidered // *J. Autism Child Schiz*, 1972; 2: 315–337.
205. Rutter M., Hersov I. *Child and Adolescent Psychiatry: Modern Approaches*. – 2nd ed. – Oxford: Blackwell, 1985. – Pp.73–76.
206. Rutter M., Schopler E. Autism and pervasive developmental disorders: Concepts and diagnostic issues // *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 1987; 17: 159–186.

207. Sacco R., Militeri R., Froli A., et al. Clinical, morphological, and biochemical correlates of head circumference in autism // *Biol Psychiatry*, 2007; 62 (9): 1038–1047.
208. Salyakina D., Cukier H. N., Lee J. M., et al. Copy number variants in extended autism spectrum disorder families reveal candidates potentially involved in autism risk // *PloSone*, 2011; 6 (10): e26049.
209. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. – Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
210. Sanders S. J., Ercan-Sencicek A. G., Hus V., et al. Multiple recurrent de novo CNVs, including duplications of the 7q11.23 Williams syndrome region, are strongly associated with autism // *Neuron*, 2011; 70 (5): 863–885.
211. Sanders S. J., Murtha M. T., Gupta A. R., et al. De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism // *Nature*, 2012; 485 (7397): 237–241.
212. Savitsky K., Ziv Y., Bar-Shira A., et al. A human gene (DDX10) encoding a putative DEAD-box RNA helcase at 11q22-q23 // *Genomics*, 1996; 15 (33): 199–206.
213. Schaefer G. B., Mendelsohn N. J. Professional Practice and Guidelines Committee. // *Genet Med*, 2013; 15 (5): 399–407.
214. Schellenberg G. D., Dawson G., Sung Y. J., et al. Evidence for multiple loci from a genome scan of autism kindreds // *Molecular psychiatry*, 2006; 11 (11): 1049–1060.
215. Schopler E., Reichler R., DeVellis R., Daly K. Toward objective classification of childhood autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS) // *March*, 1980; 10(1): 91–103.
216. Schultz R. T. Developmental deficits in social perception in autism: the role of the amygdala and fusiform face area // *Int J. Dev Neurosci*, 2005; 23: 125–141.
217. Schumann C. M., Amaral D. G. Stereological estimation of the number of neurons in the human amygdaloid complex // *J. Comp Neurol*, 2005; 491: 320–329.
218. Schumann C. M., Amaral D. G. Stereological analysis of amygdala neuron number in autism // *J. Neurosci*, 2006; 26: 7674–7679.

219. Scordo M. G., Spina E., Facciola G., et al. Cytochrome P450 2D6 genotype and steady state plasma level of risperidone and 9-hydroxyrisperidone // *Psychopharmacology*, 1999; 147: 300–305.
220. Scott F. J., Baron-Cohen S., Bolton P., Brayne C. The CAST (Childhood Asperger Syndrome Test): preliminary development of a UK screen for mainstream primary-school age children // *Autism*, 2002; 6: 9–31.
221. Sebat J., Lakshmi B., Malhotra D., et al. Strong association of de novo copy number mutations with autism // *Science*, 2007; 316 (5823): 445–449.
222. Sicca F., Imbrici P., D'Adamo M. C., et al. Autism with seizures and intellectual disability: possible causative role of gain-of-function of the inwardly-rectifying K⁺ channel Kir4.1 // *Neurobiol Dis*, 2011; 43 (1): 239–247.
223. Smalley S. L., Asarnow R. F., Spence M. A. Autism and genetics. A decade of research // *Arch Gen Psychiatry*, 1988; 45: 953–961.
224. Spence S. J., Cantor R. M., Chung L., et al. Stratification based on language-related endophenotypes in autism: attempt to replicate reported linkage // *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2006; 141B (6): 591–598.
225. Spence S. J., Schneider M. T. The Role of Epilepsy and Epileptiform EEGs in Autism Spectrum Disorders // *Pediatr Res*, 2009; 65 (6): 599–606.
226. Stahl S. M. Antipsychotic Agents // *Stahl's Essential Psychopharmacology Neuroscientific Basis and Practical Applications* / Ed. by Stahl S. M. – 3rd ed. – USA: Cambridge University Press, 2008. – Pp. 327–413.
227. Stankiewicz P., Lupski J. R. Structural variation in the human genome and its role in disease // *Annual Review of Medicine*, 2010; 61: 437–455.
228. Steffenburg S., Gillberg C., Hellgren L., et al. A twin study of autism in Denmark, Finland, Iceland, Norway and Sweden // *J. Child Psychol Psychiatry*, 1989; 30 (3): 405–416.
229. Steg J. P., Rapoport J. L. Minor physical anomalies in normal, neurotic, learning disabled, and severely disturbed children // *Journal of Autism and Childhood Schizophrenia*, 1975; 5 (4): 299–307.
230. Steinhausen H.C. Brain Disorders // *A Clinician's Handbook of Child and Adolescent Psychiatry* / Ed. by Gillberg C. I., Harrington R., Steinhausen H. C. – UK: Cambridge University Press, 2006. – Pp. 1–54.

231. Stone J. L., Merriman B., Cantor R. M., et al. Evidence for sexspecific risk alleles in autism spectrum disorder // American Journal of Human Genetics, 2004; 75(6): 1117–1123.
232. Sweeten T. L., Posey D. J., McDougale C. J. Brief report: autistic disorder in three children with cytomegalovirus infection // Journal of Autism and Developmental Disorders, 2004; 34: 583–586.
233. Szatmari P. Differential diagnosis of Asperger 's disorder // Asperger's Syndrome or High FunctioningAutism? / Ed. by Schopler E., Mesibov G., Kuncle L. – New York: Plenum, 1998 – Pp. 71.
234. Szatmari P., Paterson A. D., Zwaigenbau L., et al.. Mapping autism risk loci using genetic linkage and chromosomal rearrangements // Nature genetics, 2007; 39 (3): 319–328.
235. Tantam D., Girgis S. Recognitionand treatment of Asperger syndrome in the community // British Medical Bulletin, 2008; 89 (1): 41– 62.
236. Taylor D., Paton C., Kapur S. The South London and Maudsley NHS Foundation Trust Oxleas NHS Foundation Trust Prescribing Guidelines. – 10th ed. 2009. – Pp. 270–275.
237. Torrente F., Anthony A., Heuschkel R. B., et al. Focal-enhanced gastritis in regressive autism with features distinct from Crohn's and Helicobacter pylori gastritis // Am. J. Gastroenterolog, 2004; 99: 598–605.
238. Trikalinos T. A., Karvouni A., Zintzaras E., et al. A heterogeneity-based genome search meta-analysis for autism-spectrum disorders // Molecular psychiatry, 2006; 11 (1): 29– 36.
239. Tuchman R. Autism and Epilepsy: What Has Regression Go to Do with It? // Epilepsy Currents, 2006; 6 (4): 107–111.
240. Tuchman R., Cuccaro M. Epilepsy and Autism: Neurodevelopmental Perspective // Curr Neurol Neurosci Rep, 2011; 11: 428–434.
241. Tuchman R., Rapin I., Shinnar S. Autistic and dysphasic children II: epilepsy // Pediatrics, 1991; 88: 1219–1225.
242. Ullmer C., Schmuck K., Figge A., Lübbert H. Cloning and characterization of MUPP1, a novel PDZ domain protein // FEBS Lett. 1998; 424 (1-2): 63–68.
243. van der Zwaag B., Staal W. G., Hochstenbach R., et al. A cosegregating microduplication of chromosome 15q11.2 pinpoints two risk genes for autism spectrum disorder // American journal of medical genetics. Part B,

- Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics, 2010; 153B (4): 960–966.
244. Veltman J. A., Brunner H. G. De novo mutations in human genetic disease // Nature reviews.Genetics, 2012; 13(8): 565–575.
 245. Veltman M. W., Thompson R. J., Roberts S. E., et al. Prader-Willi syndrome—a study comparing deletion and uniparental disomy cases with reference to autism spectrum disorders // European child & adolescent psychiatry, 2004; 13 (1): 42–50.
 246. Vitalis T., Parnavelas J. G. The role of serotonin in early cortical development // Dev Neurosci // 2003; 25: 245–256.
 247. Volkmar F. R., Nelson D. S. Seizure disorders in autism // J. Am. Acad Child Adolesc Psychiatry, 1990; 29: 127–129.
 248. Volkmar F. R., Pauls D. Autism // Lancet. 2003; 362: 1133–1141.
 249. Vorstman J. A., Breetvelt E. J., Thode K. I., et al. Expression of autism spectrum and schizophrenia in patients with a 22q11.2 deletion // Schizophrenia research, 2013; 143 (1): 55– 59.
 250. Vorstman J. A., Morcus M. E., Duijff S. N., et al. The 22q11.2 deletion in children: high rate of autistic disorders and early onset of psychotic symptoms // Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry, 2006; 45(9): 1104–1113.
 251. Vourc'h P., Bienvenu T., Beldjord C., et al. No mutations in the coding region of the Rett syndrome gene MECP2 in 59 autistic patients // Europ. J. Hum. Genet, 2001; 9: 556–558.
 252. Walker H. A. Incidence of minor physical anomaly in autism // Journal of Autism and Childhood Schizophrenia, 1977; 7(2): 165–176.
 253. Wang K., Zhang H., Ma D., Bucan et al. Common genetic variants on5p14.1 associate with autism spectrum disorders // Nature, 2009; 459 (7246): 528–533.
 254. Waterhouse L., Morris R., Allen D., et al. Diagnosis and classification in autism // J. Autism Dev Disord, 1996; 26 (1) :59– 86.
 255. Wechsler Intelligence Scale for Children – Revised (WISc – R), 1974.
 256. Weiss L. A., Shen Y., Korn J. M., et al. Association between microdeletion and microduplication at 16p11.2 and autism // The New England journal of medicine, 2008; 358 (7): 667–675.

257. West L., Waldrop J. Risperidone use in the treatment of behavioural symptoms in children with autism // *Pediatr Nurs* 2006; 32:545–549.
258. Wiggs L., Stores G. Sleep patterns and sleep disorders in children with autistic spectrum disorders: insights using parentē report and actigraphy // *Dev Med Child Neurol*. 2004; 46: 372–380.
259. Williams G. V., Goldman-Rakic P. S. Modulation of memory fields by dopamine D1 receptors in prefrontal cortex // *Nature*, 1995; 376: 572–575.
260. Williams G., Sears L. L., Allaed A. Sleep problems in children with autism J. *Sleep Res*, 2004; 13:265–268.
261. Williams J., Allison C., Scott F. et al. The Childhood Asperger Syndrome Test (CAST): test-retest reliability // *Autism*, 2006; 10: 415–427.
262. Wing L. Asperger’s syndrome: a clinical account // *Psychol Med*, 1981; 11: 115–129.
263. Wing L. Autistic spectrum disorders // *BMJ*, 1996; 312 (7027): 327–328.
264. Wing L. The autistic spectrum // *Lancet*, 1997; 350 (9093): 1761–1766.
265. Wing L. The definition and prevalence of autism: A review // *Eur Child Adolesc Psychiatry*, 1993; 2 (1): 61–74.
266. Wing L., Gould I. Severe impairments of social interaction and associated abnormalities in children: Epidemiology and classification // *J. of Autism and Childhood Schizophrenia*, 1979; 9: 11–29.
267. Wing L., Leekam S. R., Libby S. J., et al. The Diagnostic Interview for Social and Communication Disorders: background, inter-rater reliability and clinical use // *J Child Psychol Psychiatry*, 2002; 43(3): 307–25.
268. Wing L., Potter D. The epidemiology of autistic spectrum disorders: is the prevalence rising? // *Ment Retard Dev Disab Res Rev*, 2002; 8:151–161.
269. Wing L., Yeates S. R., Brierley T., Gould J. The prevalence of early childhood autism: comparison of administrative and epidemiological studies // *Psychol Med*, 1976a; 6 (1): 89– 100.
270. Wolff S. Schizoid personality in childhood: the links with Asperger ’s syndrome, schizophrenia spectrum disorders, and elective mutism // *Asperger’s Syndrome or High Functioning Autism* / Ed. by Schopler E., Mesibov G., Kunc L. – New York: Plenum, 1998. – Pp. 123–145.
271. Woodcock J., Lesko L. J. Pharmacogenetics — Tailoring Treatment for the Outliers // *N Engl J. Med*, 2009; 360 (8): 811–813.

272. Woodcock Johnson III: Tests of Cognitive Abilities (Woodcock, McGrew & Mather, 2001), Diagnostic Supplement to the WJ III Tests of Cognitive Abilities Ed. by Woodcock, McGrew, Mather and Schrank, 2003.
273. World Health Organization. The ICD–10 classification of mental and behavioural disorders; clinical description and diagnostic guidelines. Geneva: WHO, 1992.
274. Xu L. M., Li J. R., Huang Y., et al. AutismKB: an evidence-based knowledgebase of autism genetics // *Nucleic acids research*. 2012; 40: 1016–1022.
275. Yamashita Y., Fujimoto C., Nakajima E., et al. Possible association between congenital cytomegalovirus infection and autistic disorder // *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2003; 33: 455–459.
276. Ylisaukko-oja T., Nieminen-von Wendt T., Kempas E., et al. Genome-wide scan for loci of Asperger syndrome // *Mol Psychiatry*, 2004; 9 (2): 161–168.
277. Yonan A. L., Alarcon M., Cheng R., et al. A genomewide screen of 345 families for autism-susceptibility loci // *Am J Hum Genet*, 2003; 73 (4): 886–897.
278. Zimmerman A. W., Connors S. L., Pardo C. A. Neuroimmunology and neurotransmitters in autism // *Autism: A Neurological Disorder of Early Brain Development* / Ed. by Tuchman R., Rapin I. International Child Neurology Association – London: Mac Keith Press, 2006. – Pp. 141–159.
279. A Deep Catalog of Human Genetic Variation. 1000 genomes // <http://www.1000genomes.org/anonymous> (sk. 21.02.2013).
280. ANNOVAR // <http://www.openbioinformatics.org/annovar/> anonymous (sk. 12.04.2013).
281. AutDB. Autism Database // http://autism.mindspec.org/autdb/HG_Home.do, anonymous (sk. 18.02.2013).
282. BEDTools // <http://bedtools.readthedocs.org/en/latest/>; anonymous (sk. 13.04. 2013).
283. dbSNP.ShortGeneticVariation. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_summary, anonymous (sk. 18.02. 2013).
284. EMBL-EBI. <http://www.ebi.ac.uk>, anonymous (sk. 20.04.2013).
285. Ensembl. <http://ensembl.org>, anonymous (sk. 20.04.2013).
286. GATK. <http://www.broadinstitute.org/gatk/>, anonymous (sk. 18.04.2013)
287. GeneCards. <http://www.genecards.org>, anonymous (sk. 20.04.2013).
288. Genome Reference Consortium. Human Genome Assembly Data. anonymous (sk. 17.03.2013).

- 289. GRCh37.2 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_000001405.13/ anonymous (sk 21.03.2013).
- 290. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/assembly/grc/human/data/index.shtml>, anonymous(sk. 12.02. 2013).
- 291. Mutalyzer 2.0.beta-27. <https://mutalyzer.nl/>, anonymous (sk.20.04.2013).
- 292. Online Mendelian Inheritance In Man. John Hopkins University. OMIM. <http://www.omim.org>, anonymous (sk. 18.02.2013).
- 293. Picard. <http://picard.sourceforge.net/> anonymous (sk. 21.03. 2013).
- 294. Polyphen.<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/data/>, anonymous (sk. 21.04.2013).
- 295. SAMtools. <http://samtools.sourceforge.net/> anonymous (sk. 21.03.2013).
- 296. SIFT. <http://sift.jcvi.org/>, anonymous (sk. 21.04.2013).
- 297. SnpEff. <http://snpeff.sourceforge.net/> anonymous (sk. 21.04.2013).
- 298. www.cgccgenetics.com, anonymous (sk. 13.01.2011).

10. PIELIKUMI

1. pielikums

DIAGNOSTISKIE KRITĒRIJI (SSK-10)

Bērnības autisms (F84.0)

- A. Neadekvāta vai kavēta attīstība līdz trīs gadu vecumam:
1. Receptīvās vai ekspresīvās valodas pielietošana sociālā komunikācijā;
 2. Attīstās selektīva sociālā pieķeršanās vai savstarpējās sociālās mijiedarbības sfērā;
 3. Funkcionālas vai simboliskas rotaļas
- B. Jābūt vismaz sešiem simptomiem no (1), (2), (3) ar vismaz diviem no (1) un vismaz vienam no katra (2) un (3):
- (1) savstarpējās sociālās mijiedarbības traucējumi, kas parādās vismaz divās no sekojošās jomās:
- (a) nav adekvāta acu kontakta, sejas izteiksmes, ķermeņa valodas un žestu pielietojums savstarpēja komunikācijā;
 - (b) traucētas savstarpējas intereses, aktivitātes un emocijas atbilstoši bērna vecumam;
 - (c) iztrūkst sociāli – emocionāli adekvāta atbildes reakcija uz citu cilvēku emocijām vai iztrūkst atbilstoši sociālais situācijai uzvedības modelis, vai vāji integrēta sociālā, emocionālā un komunikatīvā uzvedība;
 - (d) trūkst spontanitātes, lai dalītos priekā, interesēs vai saniegos ar citiem cilvēkiem (piem., bērnam iztrūkst spēja rādīt, celt, norādīt uz citiem objektiem vai cilvēkiem).
- (2) Komunikācijas traucējumi, kuri parādās vienā no sekojošām jomām:
- (a) kavētas vai totāli iztrūkst valodas attīstības prasmes, kuru kompensēšanai netiek izmantoti žesti, mīmika vai alternatīvā komunikācijā (simptomu iezīmes bieži parādās jau pirms gugināšanas);
 - (b) attiecīgi nespēja uzsākt vai uzturēt sarunvalodu (neatkarīgi no valodas prasmēm), nav savstarpēji atsaucīgas komunikācijas ar citām personām;

- (c) stereotipi vai atkārtojoši lieto valodu vai idiosinhroniski lieto vārdus un frāzes;
 - (d) iztrūkst spontānas fantazēšanas vai, agrīnā bērna vecumā, sociāli imitējošas rotaļas.
- (3) Ierobežotas, atkārtotas un stereotipas uzvedības modeļi, intereses un aktivitātes, kuri manifestējas vismaz vienā no sekojošām jomām:
- (a) galvenā nodarbošanās (izklaidēšanās) ir tikai ar vienu vai vairākiem stereotipiem un atkārtojošiem interešu moduļiem, kas ir neparasti pēc satura un fokusa un tiek intensīvi pielietoti;
 - (b) šķietami kompulsīva pieķeršanās specifiskai, nefunkcionālai ikdienas kārtībai vai rituāliem;
 - (c) stereotipi un atkārtojoši motorie manierismi, kuros iesaistītas rokas vai pirkstu vēcināšana, locīšana, vai sarežģītas ķermeņa kustības;
 - (d) izklaidēšanās ar priekšmetiem vai rotaļu materiāla nefunkcionāliem elementiem (piem., ostīt, sajūst virsmu, troksni vai vibrāciju, kuru priekšmets ģenerē).
- C. Klīniskā aina nav attiecināma uz citiem pervazīvo attīstības traucējumu variantiem: specifiski receptīvās valodas traucējumi (F80.2) ar sekundārām socioemocionālām problēmām; reaktīvi pieķeršanās traucējumi bērniem (F94.1) vai neapvaldīta pieķeršanās bērnībā (F94.2); garīga atpalicība (F70-F72) ar emociju un uzvedību traucējumiem; šizofrēnija (F20) ar neparasti agrīnu sākumu; Retta sindroms (F84.2) .

Atipisks autisms (F84.1)

- A. Neadekvāta attīstība vai regress no/pēc trīs gadu vecuma (kritēriji ir kā autismam, izņemot sākšanās vecumu).
- B. Savstarpējās mijiedarbības vai komunikācijas traucējumi, vai ierobežots, atkārtojošs, stereotips uzvedības modelis, intereses un aktivitātes (kritēriji kā pie autisma, izņemot to, ka nav nepieciešams izpildīt traucējumu kopas kritēriju skaitu).
- C. Traucējums neatbilst autisma diagnostiskajiem kritērijiem (F84.0)

Autisms var būt atipisks pēc vecuma (F84.10) vai pēc simptomiem (F84.11); Sindromi, kas ir atipiski abās jomās ir jākodē F84.12.

Atipisks autisms pēc sākšanās vecuma (F84.10)

- A. Traucējumam nav autisma A kritērija (F84.0); tas attīstās tikai pēc trīs gadu vecuma.
- B. Traucējums atbilst autisma B un C kritērijiem (F84.0)

Atipisks pēc simptomiem (F84.11)

- A. Traucējumam ir autisma A kritēriji (F80.0); tas attīstās līdz trīs gadu vecumam.
- B. Tajā ir savstarpējās mijiedarbības vai komunikācijas traucējumi vai ierobežots, atkārtotais, stereotips uzvedības modelis, intereses un aktivitātes (kritēriji kā pie autisma, izņemot to, ka nav nepieciešams izpildīt traucējumu kopas kritēriju skaitu).
- C. Traucējumam ir autisma C kritēriji (F84.0)
- D. Traucējums pilnībā neatbilst autisma B kritērijiem (F84.0)

Atipisks pēc sākšanās vecuma un simptomiem (F84.12)

- A. Traucējumam nav autisma A kritēriji (F84.0); tas attīstās tikai vai pēc trīs gadu vecuma.
- B. Savstarpējās mijiedarbības vai komunikācijas traucējumi vai ierobežots, atkārtotais, stereotips uzvedības modelis, intereses un aktivitātes (kritēriji kā pie autisma, izņemot to, ka nav nepieciešams izpildīt traucējumu kopas kritēriju skaitu).
- C. Traucējumam ir autisma C kritēriji (F84.0)
- D. Traucējums pilnībā neatbilst autisma B kritērijiem (F84.0)

Retta sindroms (F84.2)

- A. Normāls prenatālais, perinatālais periods un pirmajos sešos mēnešos normāla psihomotorā attīstība, normāls galvas apkārtmērs dzimšanas brīdī.
- B. Palēlināta galvas augšana no piecu mēnešu vecuma līdz četrus gadus vecumam un vecumam atbilstošo roku iemaņu zaudēšana no sešu mēnešu vecumam līdz 30

mēnešu vecumam, kas norit paralēli ar komunikācijas un savstarpējās sociālas mijiedarbības traucējumiem, koordinācijas traucējumiem, nestabilas gaitas attīstību un/vai ķermeņa kustībām.

- C. Attīstās smagi ekspresīvās un receptīvās valodas traucējumi, kombinācijā ar smagu garīgu atpalicību.
- D. Roku stereotipijas (griešana, mazgāšana), kas var parādīties uzreiz vai pakāpeniski, paralēli zaudējot apgūtās roku iemaņas.

Citi disintegratīvi traucējumi bērnībā (F84.3)

- A. Attīstība šķietami norit normāli līdz divu gadu vecumam. Ar vecumam atbilstošām prasmēm komunikācijā, sociālām attiecībās, rotaļās un adaptīvā uzvedībā divu gadu vecumā vai vēlāk ir nepieciešama diagnoze.
- B. Zaudētas iepriekš apgūtās prasmes no brīža, kad parādās traucējuma pazīmes. Diagnozei nepieciešams klīniski nozīmīgs prasmju zudums (ne tikai pasliktināšanās vai to izmantošana atsevišķās situācijās), kas ir vismaz divās no sekojošām jomām:
 - (1) ekspresīvā vai receptīvā valoda;
 - (2) rotaļāšanās;
 - (3) sociālās prasmes vai adaptīva uzvedība;
 - (4) zarnu trakta vai urīnpūšļa kontrole;
 - (5) motorā veiktība.
- C. Neparasta sociālā funkcionēšana, kura izpaužas vismaz divās sekojošās jomās:
 - (1) neadekvāta savstarpējā sociālā mijiedarbība (kā pie autisma);
 - (2) neadekvāta komunikācija (kā pie autisma);
 - (3) ierobežojošs, atkārtotais, stereotips uzvedības modelis, intereses un aktivitātes, ieskaitot motorās stereotipijas un manierismu;
 - (4) pilnībā zaudē interesi par apkārtējiem priekšmetiem.
- D. Traucējums nav attiecināms uz citiem pervazīvās attīstības traucējumiem, iegūta afāzija ar epilepsiju (F80.6); selektīvs mutisms (F94.0); Retta sindroms (F84.2); vai šizofrēnija (F20).

Aspergera sindroms (F84.5)

- A. Kopumā iztrūkst jebkuru klīniski nozīmīgu runas, receptīvās valodas vai kognitīvo traucējumi. Diagnozi nosaka, ka viens vai atsevišķi vārdi var būt līdz divu gadu vecumam un frāzes līdz trīs gadu vecumam. Pašaprūpes iemaņas, intereses par apkārtējo vidi pirmajos trīs dzīves gados ir saskaņā ar normālu intelekta attīstību. Tajā pašā laikā, motorās funkcijas var būt kavētas, parasti ir motorais neveiklums (taču tā nav nepieciešama pazīme diagnostikai). Bieži ir izolētas specifiskas prasmes, rūpes, bet nav nepieciešamas diagnozei.
- B. Neadekvāta savstarpējā sociālā mijiedarbība (kā pie autisma).
- C. Neparastas intereses, ierobežota interese vai atkārtotas un stereotipas uzvedības modelis (kritēriji kā pie autisma, izņemot, izklaidēšanās ar priekšmetiem vai rotaļu materiāla nefunkcionāliem elementiem un motoro manierismu).
- D. Traucējums nav attiecināms uz citiem pervazīvās attīstības traucējumiem, šizotipiski traucējumi (F21); vienkāršā šizofrēnija (F20.6); reaktīvi pieķeršanās traucējumi (F94.1); neapvaldīta pieķeršanās bērnībā (F94.2); anankastiska personība (F60.5); obsesīvi–kompulsīvi traucējumi (F42).

Nespecifiski pervazīvi attīstības traucējumi F84.9

Šī diagnostiskā kategorija jāizmanto tiem traucējumiem, kuri kopumā atbilst pervazīvo attīstības traucējumu diagnostiskajiem kritērijiem, bet kuriem nav pietiekošas informācijas vai konstatēta pretrunīga atradne un nav iespējams piemērot kādu no F84 apakštipu kodiem.

**ASPERGERA SINDROMA PAPILDUS DIAGNOSTISKIE
KRITĒRIJI (Gillberg&Gillberg, 1989)**

1. Sociālie traucējumi (galēji egocentriski)
Vismaz divi no sekojošiem:
 - (a) grūtības kontaktēties ar vienaudžiem;
 - (b) vienaldzīgi pret kontaktu ar vienaudžiem;
 - (c) grūtības interpretēt sociālos signālus;
 - (d) sociāli un emocionāli nepiemērota uzvedība.
2. Šaurs interešu loks
Vismaz viens no sekojošiem:
 - (a) izslēdz citas aktivitātes;
 - (b) atkārtotīga pieķeršanās;
 - (c) rutīni atkārtot vairāk nekā nepieciešams.
3. Kompulsīva nepieciešamība pēc rutīnām interesēm
Vismaz viens no sekojošiem:
 - (a) kas ietekmē ikdienas dzīvi;
 - (b) kas ietekmē citus.
4. Runas un valodas īpatnības
Vismaz trīs no sekojošiem:
 - (a) kavēta runas attīstība;
 - (b) virspusēji attīstīta ekspresīvā valoda;
 - (c) formāli pedantiska valoda;
 - (d) neparasta intonācija, raksturīga īpatnēja balss;
 - (e) samazināta izpratne, nepareiza gramatikas interpretācija.
5. Neverbālās komunikācijas problēmas
Vismaz viens no sekojošiem:
 - (a) ierobežota žestu izmantošana;
 - (b) lempīgi/neveikla ķermeņa valoda;
 - (c) ierobežota sejas izteiksme;
 - (d) nepiemērota sejas izteiksme;
 - (e) savdabīgs, stīvs skatiens.
6. Motors neveiklums
Vāji atbild uz neiroloģisko izmeklēšanu

ANKETA

PACIENTA DATI

Apskates datums _____

Vārds, Uzvārds _____

Personas kods _____

Adrese _____

Sūdzības:

SANĒMTĀ TERAPIJA:

Medikamenti (nē/jā/kādi/devas/lietošanas ilgums) _____

Nemedikamentozā terapija (nē/jā/kādi/devas/lietošanas ilgums) _____

1. Emocijas _____

2. Hiperaktivitāte _____

3. Valoda _____

4. Agresija, dusmas (pret sevi/citiem) _____

5. Stereotipijas _____

6. Podiņa iemaņas _____

7. Ģērbšanās _____

8. Miega traucējumi _____

9. Epilepsijas lekmes _____

10. Vēdera izejas traucējumi (aizcietējumi/caurejas) _____

11. Dzirdes pārbaude _____

12. Sirds pārbaude _____

13. Vēdera pārbaude _____

14. Slimības (kādas/biežums) _____

GRŪTNIECĪBA (kura pēc kārtas) _____

1. Spontānā aborta draudi (nē/jā, kurā grūtniecības nedēļā) _____

2. Slimības grūtniecības laikā _____

3. Medikamenti grūtniecības laikā _____
4. Kaitīgās vielas (nikotīns/alkohols/narkotikas,biežums/daudzums) _____

DZEMDĪBAS (kuras pēc kārtas): _____

1. Ilgums _____
2. Sarežģījumi _____
3. Novērtējums pēc Apgares skalas _____

Jaundzimušo dzelte (ilgums) _____

Krūts barošana(nē/jā/ilgums) _____

Jaundzimušā periods _____

Sarežģījumi _____

AGRĪNĀ ATTĪSTĪBA:

1. Galvu tur _____
2. Veļas _____
3. Sēž _____
4. Rāpo _____
5. Stāv _____
6. Sāk staigāt _____
7. Stabili staigā _____

VALODAS ATTĪSTĪBA:

1. Pirmās zilbes _____
2. Pirmie vārdi _____
3. Teikumi _____
4. Regress (nē/jā/vecums) _____

SOMATISKĀIZMEKLĒŠANA:

1. Asins aina _____
2. Asins bioķīmiskā atradne:
 - ASAT (nē/jā/rezultāts) _____
 - ALAT(nē/jā/rezultāts) _____
 - Glikoze(nē/jā/rezultāts) _____
 - kop.olbaltums(nē/jā/rezultāts) _____
 - laktāts(nē/jā/rezultāts) _____
 - urīnskābe(nē/jā/rezultāts) _____
 - Homocisteīns(nē/jā/rezultāts) _____
 - Amonjaks(nē/jā/rezultāts) _____
 - Folskābe(nē/jā/rezultāts) _____
3. B12 vitamīna līmenis(nē/jā/rezultāts) _____
4. Dzirdes pārbaude(nē/jā/rezultāts) _____
5. EhoKg(nē/jā/rezultāts) _____
6. Vēdera dobuma US(nē/jā/rezultāts) _____
7. EEG(nē/jā/rezultāts) _____
8. MRI(nē/jā/rezultāts) _____
9. Traumas(nē/jā/rezultāts) _____

ĢIMENES ANAMNĒZE

MĀTE: _____

Dzimšanas gads _____

Tautība _____

Dzimšanas vieta _____

Izglītība _____

Augums _____

Slimības _____

TĒVS _____

Dzimšanas gads _____

Tautība _____

Dzimšanas vieta _____

Izglītība _____

Augums _____

Slimības _____

Radniecīgas laulības (nē/jā/kādā pakāpē _____

CILTSKOKS

OBJEKTĪVĀ ATRADNE:

Augums _____ cm

Svars _____ kg

OFC _____ cm (____ perc.), atbilst _____

ICD _____ cm (____ perc.), atbilst _____

OCD _____ cm (____ perc.), atbilst _____

Lb.auss _____ cm (____ perc.), atbilst _____ Kr.auss _____ cm (____ perc.), atbilst _____

Lb.roka _____ cm (____ perc.), atbilst _____ Kr.roka _____ cm (____ perc.), atbilst _____

IIIp _____ cm (____ perc.), atbilst _____ IIIp. _____ cm (____ perc.), atbilst _____

Lb.pēda _____ cm (____ perc.), atbilst _____ Kr.pēda _____ cm (____ perc.), atbilst _____

Mazās anomālijas:

ĢENĒTISKIE IZMEKLĒJUMI:

1. Kariotips (nē/jā/), rezultāts _____
2. FISH analīze (nē/jā/), rezultāts _____
3. FISH analīze hromosomu rajonam (nē/jā/), rezultāts _____
4. Aminoskābju spektrs asinīs (nē/jā/), rezultāts _____
5. Aminoskābju spektrs urīnā (nē/jā/), rezultāts _____
6. Organisko skābju spektrs urīnā (nē/jā/), rezultāts _____
7. Mukopolisaharīdu līmenis urīnā (nē/jā/), rezultāts _____
8. Oligosaharīdi urīnā (nē/jā/), rezultāts _____
9. SAICAR urīnā (nē/jā/), rezultāts _____
10. CDG asins serumā (nē/jā/), rezultāts _____

FOTOGRAFĪJA (nē/jā) _____**PLĀNOTIE IZMEKLĒJUMI:**

1. Asins aina _____
2. Asins bioķīmiskā atradne:
 - ASAT _____
 - ALAT _____
 - Glikoze _____
 - kop.olbaltums _____
 - laktāts _____
 - urīnskābe _____
 - Homocisteīns _____

- Amonjaks _____
 - Folskābe _____
 - B12 vitamīna līmenis _____
3. Dzirdes pārbaude _____
 4. EhoKg _____
 5. Vēdera dobuma US _____
 6. EEG _____
 7. MRI _____

REKOMENDĀCIJAS:

KONTROLE: _____

REKOMENDĀCIJAS

Indikācijas izmeklēšanai līdz 3 gadu vecumam un nosūtīšanai pie bērnu psihiatra:

1. Emociju traucējumi:

- Ja bērnam līdz 6 mēnešu vecumam neattīstās emocijas, viņš nesmaida, nav emocionāla kontakta ar vecākiem;
- ja līdz 9 mēnešu vecumam bērnam neattīstās vai samazinās situācijai adekvātas emocionālās izpausmes, izmainās mīmika, tā sastingst, tukšs skatiens;
- samazinās vai izzūd žesti, ko bērns izmanto, lai mērķtiecīgi norādītu, izteiktu savas vēlmes, parādās dažādas roku stereotipijas.

2. Valodas traucējumi:

- ja līdz 16 mēnešu vecumam nesaka vismaz vienu vārdu, bet līdz divu gadu vecumam nesaliek kopā divus vārdus;
- neatsaucas uz savu vārdu;
- zaudē jau apgūtos vārdus, pārstāj runāt.

3. Sociālo iemaņu traucējumi:

- neveido acu kontaktu;
- neprot spēlēties ar rotaļlietām, neizrāda par tām interesi;
- nekontaktējas ar citiem bērniem, rotaļās neveido sižetu;
- noslēdzas savā pasaulē.

Indikācijas agrīnai ģenētiskai izmeklēšanai:

1. Iedzimtība:

- dzimtas ciltskokā psihiskas slimības;
- ģimenē jau ir bērns ar autismu vai autiskā spektra traucējumiem.

2. Psihiskās attīstības aizture:

- dažādas pakāpes garīga atpalicība;
- bērnam no 16 mēnešu vecuma parādās pakāpenisks sociālo, komunikatīvo iemaņu regress vai pat zudums;
- emocionālās kontaktēšanās traucējumi, situācijai neadekvātas emocionālas reakcijas;

- hiperaktivitāte un uzmanības deficīta sindroms, agresivitāte pret sevi un citiem;
- valodas attīstības traucējumi, regress un zudums.

3. Neuroloģiskie traucējumi:

- neskaidras ģenēzes epilepsijas lēkmes;
- gaitas un līdzsvara traucējumi (ataktiska gaita, staigāšana uz pirkstgaliem, u.c.);
- dzirdes traucējumi, tās zudums, tādēļ bērns, kurš nerunā, vai zaudē apgūtās valodas iemaņas, iepriekš jāizmeklē Bērnu Dzirdes centrā.
- redzes traucējumi, zudums.

4. Somatiskie traucējumi:

- mazs vai liels augums;
- disproporcionāla ķermeņa uzbūve;
- sejas dismorfisms;
- citu orgānu patoloģijas (iedzimta sirdskaite, nieru patoloģija, u.c.);
- metaboli traucējumi