



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Clinical and molecular insights into BAFopathies

Sluijs, P.J. van der

Citation

Sluijs, P. J. van der. (2025, October 30). *Clinical and molecular insights into BAFopathies*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4282041>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4282041>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

SAMENVATTING

BAFopathieën vormen een groep neurologische ontwikkelingsstoornissen veroorzaakt door pathogene varianten in genen die coderen voor subunits van het BAF (BRG1/BRM-associated factor) chromatine-remodelleringscomplex. Coffin-Siris syndroom (CSS) is de bekendste en meest voorkomende BAFopathie. Patiënten met CSS hebben meestal een verstandelijke beperking (VB), karakteristieke gelaatskenmerken en korte vijfde vingers en/of kleine of afwezige nagels. Daarnaast hebben CSS-patiënten een specifiek DNA-methylatiepatroon (episignature) in hun bloed vergeleken met controles. Deze patronen zijn vooral nuttig om wanneer een variant van onbekende betekenis (VUS) wordt gevonden in een CSS-geassocieerd gen onderscheid te maken tussen ziekteveroorzakende (pathogene) en onschuldige varianten.

Door het brede gebruik van *next-generation sequencing* in de diagnostiek worden er steeds meer varianten gevonden in BAFopathie-gerelateerde genen. Veel hiervan zijn duidelijk pathogeen, waardoor klinici diagnoses kunnen stellen. Echter, een aanzienlijk deel wordt als VUS geclassificeerd, wat een belangrijke uitdaging vormt. In de kliniek kan zo een VUS verder worden geclassificeerd door vergelijking van het patiëntfenotype met de literatuur en/of door inzetten van aanvullende tools. Dit onderstreept de noodzaak van gedegen genotype-fenotype studies en hulpmiddelen zoals episignatures en gezichtsanalyses om genetische varianten beter te interpreteren.

Een andere belangrijke klinische uitdaging is het ontbreken van ziektespecifieke behandelingen voor BAFopathieën. De ontwikkeling van therapieën vereist een beter begrip van de ziekteoorzaak, geschikte cel- of diermodellen en een duidelijke studie opzet om de effectiviteit van behandelingen te beoordelen. Klinische studies bij zeldzame ziekten zoals BAFopathieën zijn uitdagend door de kleine patiënten aantallen, variabele symptomen en hoge verwachtingen van families. Het is daarom essentieel om studies zorgvuldig te ontwerpen, met ziekte specifieke en mogelijk zelfs patiënt specifieke uitkomstmaten.

Het doel van het eerste deel van dit proefschrift (hoofdstuk 2-6) is om meer inzicht te geven in het fenotypisch spectrum van pathogene varianten in BAFopathie-genen en nieuwe (epi)genetische kenmerken van deze aandoeningen te ontdekken. In het tweede deel (hoofdstuk 7-8) richtten we ons op het ontwikkelen van een *in vitro* model om de ziekteprocessen bij CSS te bestuderen en om een mogelijke behandelingsoptie, voor patiënten met een *ARID1B*-gerelateerde aandoening, te verkennen.

In **hoofdstuk 2** vergeleken we twee cohorten van patiënten met een pathogene variant in *ARID1B*: I) patiënten die klinisch als CSS waren gediagnosticeerd of verdacht werden van CSS vóór genetische testen (*ARID1B*-CSS), en II) patiënten geïdentificeerd via exoom *sequencing* (*ARID1B*-ID). Onze studie met 143 patiënten toonde aan dat hoewel CSS-kenmerken vaker voorkwamen in de *ARID1B*-CSS groep, de verschillen tussen beide groepen klein waren. Dit bevestigt dat het fenotype van *ARID1B* patiënten uit een breed overlappend spectrum bestaat in plaats van twee verschillende entiteiten en dat alle *ARID1B*-patiënten vergelijkbare zorg verdienen. We toonden ook aan dat gangbare methoden voor het rapporteren van fenotypes belangrijke gen-gerelateerde kenmerken kunnen missen. Dit benadrukt de noodzaak van grondige gegevensverzamelingsmethoden.

In **hoofdstuk 3** onderzochten we de prenatale presentatie van CSS. We verzamelden gegevens van 44 patiënten met prenatale afwijkingen en een pathogene variant in een CSS-gen. Veelvoorkomende prenatale kenmerken waren hydrocefalie, agenesie van het corpus callosum en hartafwijkingen. Opvallend was dat *ARID1A*-varianten veel vaker voorkwamen in dit prenatale cohort. Onze bevindingen bieden waardevolle nieuwe inzichten in het prenatale spectrum van CSS, welke bijdragen aan de interpretatie van varianten in de prenatale setting.

In **hoofdstuk 4** gingen we de uitdaging aan om overgeërfde *loss-of-function* (LoF) varianten in *ARID1B* te interpreteren. We bestudeerden 12 families met varianten die moeilijk te classificeren waren omdat ze overgeërfd waren of omdat de overerving onbekend was. Met behulp van DNA-methylatie analyse en klinische beoordelingen, waren we in staat om de meeste van deze varianten te herclassificeren. Onze resultaten lieten zien dat sommige pathogene varianten sterk variabele expressie vertonen, zelfs binnen families. We hypotheeserden over een alternatief startcodon in *ARID1B* en we stelden een update voor van de ACMG-criteria (richtlijnen voor classificatie van genetische varianten) om DNA methylatie analyse en gezichtsanalyse hierin op te nemen.

In **hoofdstuk 5** bestudeerden we het natuurlijke beloop van *ARID1B*-gerelateerde aandoening bij volwassenen. We verzamelden gegevens van 87 volwassen patiënten en vonden een breed spectrum, van ernstige VB tot normale IQ-scores. We ontdekten ook nieuwe leeftijdsgebonden kenmerken, zoals verlies van bepaalde vaardigheden en terugkerende patella luxaties. De variabiliteit binnen de aandoening werd ook weerspiegeld in de mate van zelfstandigheid van de patiënten. Gezichtsanalyse toonde aan dat *ARID1B*-patiënten duidelijke, leeftijdsafhankelijke gelaatskenmerken hebben. Ook onderzochten we de genotype-fenotype correlatie die we in hoofdstuk 4 hadden

beschreven. Daar zagen we dat overgeërfde pathogene varianten vaak in exon 1 van *ARID1B* lagen en bevestigden we dat patiënten met zo'n variant meestal een milder fenotype hebben.

In **hoofdstuk 6** richtten we ons op duplicaties van het hele gen in *ARID1A* en *ARID1B*, waarover eerder weinig bekend was. We analyseerden 29 patiënten met zulke duplicaties. Zowel *ARID1A*- als *ARID1B*-duplicaties veroorzaken verstandelijke beperkingen. De patiënten verschillen van CSS patiënten. Patiënten met een *ARID1A*-duplicatie hadden meestal ernstigere ontwikkelings- en groeiachterstand dan *ARID1B*-patiënten. DNA-methylatie analyse onthulde specifieke epesignatures voor de patiënten met een duplicatie van het hele *ARID1A*-gen, wat aangeeft dat deze duplicaties een aparte soort BAFopathie vormen. We konden meerdere voorheen duplicaties met onzekere betekenis nu als pathogeen herclassificeren.

In **hoofdstuk 7** beschreven we de ontwikkeling van een *in vitro* ziekte model met geïnduceerde pluripotente stamcellen (iPSCs) van patiënten met *ARID1B*- of *SMARCB1*-varianten. Differentiatie naar neurale voorlopercellen bevestigde de geschiktheid van dit model om effecten van CSS-varianten op neuronale ontwikkeling te bestuderen. Dit biedt een platform voor verder onderzoek naar pathofysiologie van CSS.

Tot slot beschreven we in **hoofdstuk 8** een klinische trial met clonazepam bij *ARID1B*-patiënten. Onze klinische trial bestond uit een gerandomiseerde gecontroleerde cross-over studie (RCT) aangevuld met 3 N=1 studies. Een N=1 studie is een RCT uitgevoerd bij 1 patiënt met gepersonaliseerde uitkomstmaten. Ondanks veelbelovende preklinische data bij muizen, toonde onze studie geen overtuigend effect van clonazepam bij patiënten. Onze studie benadrukte de haalbaarheid van het combineren van conventionele RCT en N=1 studies voor therapeutische studies in populaties met verstandelijke beperkingen, waarbij echte behandelingseffecten worden onderscheiden van verwachtingsbias.

Dit proefschrift vergroot het begrip van het genetische en fenotypische landschap van BAFopathieën, met name het Coffin-Siris syndroom en *ARID1B*-gerelateerde aandoeningen, en legt de basis voor *precision medicine* benaderingen op dit gebied. Door het integreren van gedetailleerde genotype-fenotype correlaties, het ontdekken van nieuwe epesignatures, ziektemodellering en de eerste therapeutische trial in BAFopathie patiënten, leveren we nieuwe wetenschappelijke, diagnostische en klinische hulpmiddelen om gepersonaliseerde zorg te ondersteunen.