

На правах рукописи



ФЕДОТОВ ДМИТРИЙ АНДРЕЕВИЧ

**СПЕКТР CNV У ПАЦИЕНТОВ С РАССТРОЙСТВАМИ
НЕЙРОПСИХИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ И ИХ АССОЦИАЦИЯ
С АНОМАЛИЯМИ ЭМБРИОГЕНЕЗА**

1.5.7 Генетика

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Томск – 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», в Научно-исследовательском институте медицинской генетики, г. Томск.

Научный руководитель:

кандидат биологических наук

Кашеварова Анна Александровна

Официальные оппоненты:

Черных Вячеслав Борисович, доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», лаборатория генетики нарушений репродукции, заведующий (г. Москва)

Глотов Олег Сергеевич, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Отдел геномной медицины им. В.С. Баранова, лаборатория молекулярной генетики и генной терапии, ведущий научный сотрудник (г. Санкт-Петербург)

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва)

Защита состоится «__» _____ 202__ года в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.215.03 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» по адресу: г. Томск, Московский тракт, д. 3, Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского НИМЦ.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта <https://www.tnimc.ru/>

Автореферат разослан «__» _____ 202__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук



Назаренко Мария Сергеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования.

Вариации числа копий участков ДНК (Copy Number Variation, CNV) – фрагменты ДНК, размером более одной тысячи пар нуклеотидов, по числу копий отличающиеся от референсного генома [Kearney H.M. et al., 2011]. Согласно МКБ-11, расстройства нейropsychического развития (РНПР) – группа поведенческих и когнитивных расстройств, которые возникают в период развития нервной системы. РНПР представляют собой серьезную проблему для здравоохранения и выявляются у более 3% детей во всем мире [Gilissen C. et al., 2014]. CNV являются одной из распространенных причин РНПР и обнаруживаются у 7-40% пациентов [Firouzabadi S.G. et al., 2017; Zarrei M. et al., 2019; Baccarin M. et al., 2020; Chehbani F. et al., 2022]. Согласно литературным данным спектр CNV у пациентов с РНПР чрезвычайно разнообразен [Iourov I.Y. et al., 2012; Ворсанова С.Г. и др., 2013; Lopes F. et al., 2019; Zarrei M. et al., 2019; Левченко О.А., 2021; Kılıçaslan F. et al., 2025]. Несмотря на обширные знания о спектре данного типа хромосомного дисбаланса, большая часть вариантов классифицируется как CNV с неопределенной клинической значимостью. Проведение исследований на крупных выборках пациентов, анализ и обобщение полученных данных могут способствовать выявлению новых синдромов, ассоциированных с микроделециями и микродупликациями, получению новых сведений о клинических проявлениях различных CNV, выделению минимальных пересекающихся регионов, критичных для развития симптоматики, а также к описанию новых генов-кандидатов, связанных с РНПР.

В соответствии с МКБ-11, abortивный исход беременности – группа состояний, которая не закончилась рождением живого ребенка. В данную группу входят различные диагнозы, в том числе, самопроизвольный abort (JA00.0), неразвивающаяся беременность (JA03) и анэмбриония (JA04), далее упоминаемые как «спонтанные abortы» (СА). Частота репродуктивных потерь в I триместре составляет 10-15% от всех клинически распознаваемых беременностей [Quenby S. et al., 2021]. По данным четырех крупных исследований, существует взаимосвязь между рождением детей с РНПР и случаями СА у одних и тех же женщин [Paz Levy D. et al., 2019; Wang H. et al., 2020; Ji H. Et al., 2021; Jenabi E. et al., 2023]. Авторы предполагают, что в основе данной связи могут лежать такие факторы как аномалии плаценты, сердечно-сосудистые и аутоиммунные заболевания матери. Однако, вероятно, помимо заболеваний матери, существуют общие генетические факторы, которые могут объяснить рождение детей с РНПР и случаи СА в одной и той же семье. Потенциально такими факторами могут выступать CNV. Опубликованы многочисленные исследования относительно распространенности данного типа хромосомных aberrаций в выборках СА [Лебедев И.Н. и др., 2013; Савченко Р.Р. и др., 2018; Кашеварова А.А. и др., 2019; Finley J. et al., 2022; Dai Y.F. et al., 2024]. Однако к настоящему моменту времени не описано ни одной эмбриолетальной микроделеции или микродупликации. По данным мета-анализа, CNV встречаются у 14% внутриутробно погибших зародышей I триместра беременности [Drozdov G.V. et al., 2025]. Aberrации обнаруживаются и у плодов с врожденными пороками развития (ВПР) [Киевская Ю.К. и др., 2020; Cai M. et al., 2020].

Таким образом, возможно, некоторые CNV могут влиять как на пренатальное, так и на постнатальное развитие индивида, приводя к СА в одних случаях и к рождению детей с РНПР в других. Исходя из этого, нами была сформулирована гипотеза о том, что дети с РНПР, матери которых имеют СА в анамнезе, чаще являются носителями CNV, в сравнении с детьми с РНПР из семей без случаев эмбриональной гибели. При этом эмбриолетальность, вероятно, обусловлена этой же CNV, а кто-то из родителей является ее носителем. Очевидно, проявление структурной хромосомной абберации будет зависеть от дополнительных генетических, эпигенетических или средовых факторов. Выявление CNV, ассоциированных как с нарушениями пренатального, так и постнатального развития, необходимо для медико-генетического консультирования семей со случаями СА, семейных пар, имеющих ребенка с РНПР, а также для повышения эффективности пренатального генетического тестирования.

Степень научной разработанности темы исследования.

Развитие молекулярно-генетических технологий привело к открытию такого типа хромосомного дисбаланса как CNV. Некоторые CNV могут быть нейтральными и не приводить к патологическим фенотипам, а другие, наоборот, обуславливать развитие заболеваний, например, РНПР. Опубликовано множество статей отечественных и зарубежных научных коллективов относительно спектра CNV у пациентов с РНПР [Pourou I.Y. et al., 2012; Ворсанова С.Г. и др., 2013; Zarrei M. et al., 2019; Chaves T.F. et al., 2019; Левченко О.А., 2021; Akter H. et al., 2023; Kılıçaslan F. et al., 2025]. CNV обнаруживаются при проведении пренатальной диагностики и у недоношенных детей [Ворсанова С.Г. и др., 2019; Киевская Ю.К. и др., 2019, 2020, 2021, 2023]. Предполагается, что микроделеции и микродупликации могут также быть ассоциированы с нарушениями эмбриогенеза, поскольку данный тип хромосомных аббераций выявляется в выборках СА [Кашеварова А.А. и др., 2019; Wang Y. et al., 2020; Sheng Y.R. et al., 2021; Gu C. et al., 2022; Finley J. et al., 2022; Shao Y. et al., 2024; Dai Y.F. et al., 2024]. Опубликованы данные относительно влияния микроделеций и микродупликаций в одних и тех же регионах на формирование разных тканей. Так, хромосомный дисбаланс в регионах 1q21.1, 4p16.3, 9q34.3, 17p11.2, 22q11.2 сопровождается не только нарушениями со стороны нервной системы, но и приводит к различным порокам развития, например, к врожденным порокам сердца [Azamian M., Lalani S.R., 2016]. Несмотря на довольно хорошую изученность спектра CNV как среди пациентов с РНПР, так и среди СА, в мировой литературе отсутствуют исследования, анализирующие спектр CNV в семьях, имеющих одновременно ребенка с РНПР и случаи СА у матери.

Цель исследования:

Выявить хромосомные регионы, вариабельность в числе копий которых в семье ассоциирована с расстройствами нейropsychического развития у ребенка и спонтанными абортами в анамнезе матери.

Задачи исследования:

1. Определить частоту и описать спектр CNV в выборке пациентов с расстройствами нейropsychического развития.
2. Сравнить частоты встречаемости детей с расстройствами нейropsychического развития, обусловленными CNV, у матерей которых имеются или отсутствуют спонтанные аборт в анамнезе.
3. Охарактеризовать CNV, обнаруженные у пациентов с расстройствами нейropsychического развития из семей с наличием или отсутствием спонтанных абортов у матери, по клинической значимости, происхождению, копийности и размеру.
4. Провести анализ генного состава CNV, обнаруженных у пациентов с расстройствами нейropsychического развития из семей с наличием или отсутствием спонтанных абортов у матери.
5. Описать CNV, ассоциированные как с расстройствами нейropsychического развития, так и с аномалиями эмбриогенеза.

Научная новизна.

Настоящая работа представляет собой наиболее крупное исследование спектра CNV у пациентов с РНПР в Российской Федерации. В ходе диссертационного исследования проверена гипотеза о том, что дети с РНПР, матери которых имеют СА в анамнезе, чаще являются носителями CNV, в сравнении с детьми с РНПР из семей без случаев эмбриональной гибели. При этом наличие СА, вероятно, обусловлено той же CNV, что выявлена у больного ребенка. В работе впервые оценена частота семей с ребенком с РНПР, обусловленными патогенной, вероятно патогенной CNV или вариантом с неопределенной клинической значимостью, и СА в акушерско-гинекологическом анамнезе матери. Данные aberrации были охарактеризованы по направлению изменения копийности, размеру, происхождению и генному составу. Впервые было показано, что CNV, ассоциированные как с рождением ребенка с РНПР, так и с СА в одних и тех же семьях представлены микроделециями и моногенными aberrациями, в сравнении с частотами микроделаций и моногенных CNV в группе с отсутствием случаев эмбриональной гибели. Впервые описаны семьи, в которых ребенок с РНПР, мать которого имеет СА в анамнезе, является носителем унаследованной патогенной или вероятно патогенной CNV в регионах 2q23.1, 3q29, 16p11.2.

Теоретическая и практическая значимость.

В ходе работы была доказана гипотеза о том, что дети с РНПР, матери которых имеют СА в анамнезе, чаще являются носителями CNV, в сравнении с детьми с РНПР из семей без случаев эмбриональной гибели. В результате исследования были получены сведения о частоте семей, имеющих ребенка с РНПР, обусловленным патогенетически значимой CNV, и случаями СА у матери. Получены знания о спектре и структуре CNV в семьях с ребенком с РНПР и наличием/отсутствием СА у матери. Описан ряд CNV, которые могут быть значимыми как в отношении пренатального, так и постнатального периодов развития.

Полученные знания могут применяться при интерпретации результатов матричной сравнительной геномной гибридизации (aCGH) в ходе пренатального генетического тестирования, при консультировании и ведении пар, имеющих ребенка с РНПР, а также пар

с невынашиванием беременности в анамнезе. Данные могут быть использованы при создании лекционных курсов, включены в программу обучения студентов, аспирантов медицинских и биологических факультетов, курсов повышения квалификации для врачей, а также в программу обучения ординаторов по специальностям «Генетика» и «Лабораторная генетика». В ходе исследования были разработаны и внедрены в лечебно-диагностический процесс Медико-генетического центра (Генетической клиники) НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ две медицинские технологии по молекулярно-цитогенетической диагностике моногенных CNV и структурных хромосомных aberrаций на хромосоме X у пациентов с недифференцированными формами умственной отсталости.

Методология и методы исследования.

Для поиска CNV у пациентов с РНПР использовалась aCGH на микрочипах Human Genome CGH Microarray Kit 4×44K и SurePrint G3 Human CGH Microarray, 8×60K (Agilent Technologies, США), согласно протоколу производителя. Все обнаруженные CNV были интерпретированы по клинической значимости, согласно рекомендациям ACMG и POMG [Riggs E.R. et al., 2020; Brandt T. et al., 2020; Лебедев И.Н. и др., 2023]. Для анализа полученных данных использовали биоинформационные ресурсы: DGV, DECIPHER, OMIM, CNV-ClinViewer, Enrichr, MGI. Анализ происхождения CNV проводился с использованием количественной ПЦР в режиме реального времени (qPCR) и индивидуально подобранных пар праймеров для каждого подтверждаемого варианта. Подбор праймеров осуществлялся с использованием веб-ресурсов Ensemble, Primer3, Primer-BLAST. Для анализа результатов qPCR применялся пороговый метод сравнения графиков накопления ДНК. Статистический анализ данных проводился с использованием критериев хи-квадрат (χ^2) и Манна-Уитни. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Медицинская геномика» Томского НИМЦ и ресурсов биобанка «Биобанк населения Северной Евразии» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Положения, выносимые на защиту:

1. Патогенные, вероятно патогенные CNV и варианты с неопределенной клинической значимостью, обнаруженные у пробандов с расстройствами нейropsychического развития, встречаются чаще в семьях, в которых имеются случаи спонтанных аборт, в сравнении с семьями без случаев эмбриональной гибели.
2. CNV, ассоциированные как с рождением ребенка с расстройством нейropsychического развития, так и со случаями спонтанных аборт в одних и тех же семьях, главным образом, представлены микроделециями и моногенными aberrациями, в сравнении с частотами микроделений и моногенных CNV в группе с отсутствием случаев эмбриональной гибели.
3. CNV в регионах 2q23.1, 3q29 и 16p11.2 являются унаследованными в семьях с больным ребенком и спонтанными абортами у матери, а также включают гены, ассоциированные как с расстройствами нейropsychического развития, так и нарушениями эмбриогенеза.

Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Достоверность полученных результатов обеспечивается репрезентативной выборкой обследованных пациентов, использованием современных молекулярно-цитогенетических, молекулярно-генетических методов исследования, верификацией полученных результатов, привлечением информации из открытых источников для интерпретации полученных данных, а также применением методов математической статистики.

Апробация материалов диссертации.

Результаты исследования были представлены на 10 конференциях в форме устных и постерных докладов: на Всероссийском конгрессе молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины» (г. Томск, 26-27 мая 2022); на Всероссийской конференции молодых ученых «Генофонд и репродуктивное здоровье человека» (г. Санкт-Петербург, 23 июня 2022); на 38-ой Ежегодной конференции Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (г. Милан, 3-6 июля 2022); на XIII конференции «Генетика человека и патология» (г. Томск, 20-22 ноября 2022); на Научной конференции молодых ученых в рамках XXII Зимней молодежной школы по биофизике и молекулярной биологии ПИЯФ (г. Санкт-Петербург, 27 февраля-4 марта 2023); на VIII Съезде Вавиловского общества генетиков и селекционеров (г. Саратов, 14-19 июня 2024); на VI Всероссийском научно-практическом конгрессе с международным участием «Орфанные болезни» (г. Москва, 20-21 июня 2024), на 14-ой Международной мультikonференции Биоинформатика регуляции и структуры геномов/системная биология (г. Новосибирск, 5-10 августа 2024); на конференции молодых ученых в рамках Зимней школы по цитогеномике (г. Томск, 25-29 ноября 2024); на XI съезде Российского общества медицинских генетиков с международным участием (г. Санкт-Петербург, 12-15 мая 2025).

Публикации.

По теме исследования опубликовано 23 работы, среди которых 11 статей представлены в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, среди них 4 статьи, индексируемые в базах данных Web of Science/Scopus, 2 медицинские технологии профилактики, диагностики, лечения заболеваний и реабилитации пациентов, 10 тезисов российских и зарубежных конференций.

Личный вклад автора.

В процессе выполнения диссертационной работы автором был проведен самостоятельный поиск и ознакомление с имеющимися отечественными и зарубежными публикациями по теме диссертационного исследования. Основные результаты работы автором были получены самостоятельно, либо при совместной работе с сотрудниками лабораторий цитогенетики, онтогенетики и геномики орфанных болезней НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Анализ и обобщение результатов исследования, написание и оформление текста диссертации выполнено лично автором. Автор участвовал в планировании исследования, обсуждении результатов работы и подготовке публикаций.

Объем и структура диссертации.

Диссертация состоит из 177 страниц машинописного текста, которые сопровождаются 27 таблицами и 26 иллюстрациями. Работа включает такие разделы как введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, выводы, заключение, список сокращений, список литературы и иллюстративного материала, приложение. Библиографический указатель содержит 280 источников литературы, из которых 19 отечественных и 261 зарубежный.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Набор пациентов с РНПР был инициирован в 2009 году в рамках международного научно-исследовательского проекта 7 Рамочной программы Европейского союза «Улучшение диагностики умственной отсталости у детей из стран Центральной и Восточной Европы и Центральной Азии через генетическую характеристику, биоинформатику и статистику» (CHERISH) и продолжался после его окончания (до конца 2024 года) на базе Медико-генетического центра НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, а также за счет средств грантов, поддержанных Российским научным фондом «Клеточные и молекулярные механизмы патогенеза хромосомных болезней» (№ 14-15-00772) и «Патогенетика наследственных форм умственной отсталости: клеточные, молекулярные и онтогенетические аспекты» (№ 21-65-00017). Была сформирована выборка 1417 пациентов детского возраста (от 0 до 18 лет) с РНПР.

Критерии включения: дети в возрасте до 18 лет с нормальным кариотипом по результатам стандартного цитогенетического анализа и с такими диагнозами, как 6A00 – расстройства интеллектуального развития, 6A01 – расстройства развития языка или речи, 6A02 – расстройство аутистического спектра, 6A03 – расстройство развития учебных навыков, 6A04 – расстройство развития координации движений, 6A05 – синдром дефицита внимания с гиперактивностью, 6A06 – синдром стереотипных движений. Критерии исключения: пациенты с расстройствами нейropsychического развития, у которых обнаружены анеуплоидии, кольцевые хромосомы, несбалансированные транслокации, моногенные одонуклеотидные варианты, проявляющиеся морфологическими и функциональными аномалиями нервной системы. Исследование было одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ (протокол № 13 от 15.11.2021 г.), проведено согласно принципам Хельсинкской декларации.

На первом этапе каждый пробанд (n=1417) был обследован с помощью aCGH. Первые 56 пациентов, набранные в рамках проекта CHERISH, были обследованы на микрочипах Human Genome CGH Microarray Kit 4×44K, остальная часть выборки (n=1361) исследована с помощью микроматриц SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8×60K. Интерпретация обнаруженных вариантов проводилась согласно рекомендациям ACMG и POMG [Riggs E.R. et al., 2020; Brandt T. et al., 2020; Лебедев И.Н. и др., 2023]. Все CNV были разделены на 5 групп – патогенные (P-CNV), вероятно патогенные (LP-CNV), варианты с неопределенной клинической значимостью (VUS-CNV), а также вероятно доброкачественные (LB-CNV) и доброкачественные (B-CNV) варианты. При обнаружении только LB-CNV и B-CNV

кариотип пациента считался сбалансированным по результатам aCGH, что не исключает наличия у пробанда сбалансированной транслокации или инверсии.

Все CNV были охарактеризованы по числу копий, происхождению, генному составу. Анализ происхождения CNV проводили с помощью ПЦР в режиме реального времени и специально подобранных праймеров. Наличие первого этапа объясняется необходимостью получения репрезентативной выборки для проверки гипотезы исследования. Известно, что для более достоверной интерпретации данных существует необходимость в создании внутрилабораторной базы, что способствует выявлению CNV, являющихся полиморфизмом в популяции или артефактом метода исследования.

Таким образом, далее для проверки гипотезы диссертационной работы была сформирована выборка из ранее обследованной общей группы пациентов с РНПР (n=1417), матери которых имели известный акушерский анамнез (не менее двух беременностей) (n=403). Семьи с больным ребенком, в которых была только одна беременность, исключались из дальнейшего анализа (n=50). Также в последующий анализ не вошли семьи, для которых акушерский анамнез матери сообщен не был (n=964). Семьи с известным акушерским анамнезом, имеющие пробанда со сбалансированным кариотипом по результатам aCGH, выступали в роли группы сравнения (n=270). Основная анализируемая группа включала семьи с ребенком с РНПР, мать которого имела случаи abortивного исхода беременности (от англ. Abortive outcome of pregnancy) – спонтанные аборт (JA00.0), неразвивающуюся беременность (JA03) и анэмбрионию (JA04) [МКБ-11]. Далее в отношении семей, имеющих случаи эмбриональной гибели, в работе использовался термин «спонтанный аборт» (CA). Таким образом, были сформированы четыре подгруппы: с CNV и CA (n=56), с CNV и без CA (n=77), без CNV и с CA (n=84), без CNV и без CA (n=186).

Заключительный этап исследования включал сравнение CNV между группами с наличием или отсутствием CA по клинической значимости, направлению изменения копийности, размеру, происхождению, а также поиск CNV, которые потенциально могут проявляться как в пренатальном, так и постнатальном периодах развития, приводя к рождению ребенка с РНПР в одних случаях и к эмбриональной гибели в других.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектр CNV у детей с расстройствами нейropsychического развития

В результате исследования CNV (P, LP, VUS) обнаружены у 419 из 1417 (30%) пациентов с РНПР, что согласуется с литературными данными [Lopes F. et al., 2019; Baccarin M. et al., 2020; Chehbani F. et al., 2022]. Остальные индивиды имели сбалансированный кариотип по результатам aCGH – 998 из 1417 (70%). P-CNV были выявлены у 77 из 1417 (5%) индивидов. LP-CNV и VUS-CNV встречались у 40 из 1417 (3%) и 267 из 1417 (19%) пациентов, соответственно. У 35 из 1417 (3%) пробандов идентифицированы комбинации aberrаций (две и более) с разной клинической значимостью (Рисунок 1).

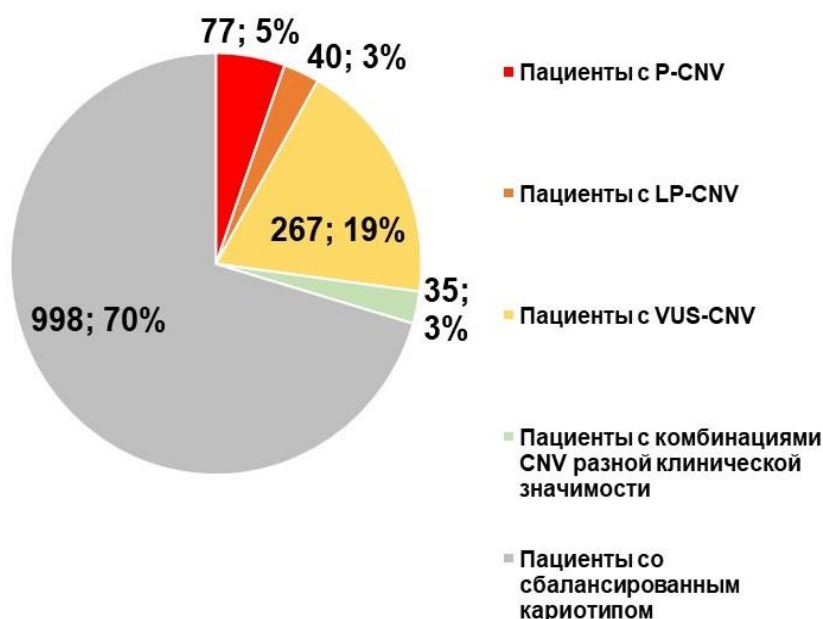


Рисунок 1 – Частота пациентов с CNV различной клинической значимости и со сбалансированным кариотипом

Микроделеции и микродупликации, ассоциированные с известными синдромами, обнаружены у 55 из 1417 (4%) пациентов. Чаще всего встречались микроделеции 22q11.21 (7/1417), ассоциированные с синдромом Ди Джорджи (OMIM 188400) и велокардиофациальным синдромом (OMIM 192430), микроделеции 15q11.2 (6/1417) (OMIM: 615656), микроделеции 16p11.2-p12.2 (4/1417) (OMIM: 613604).

Всего у 419 пробандов было идентифицировано 498 патогенетически значимых CNV (345 пациентов имели одну CNV, а общее число пациентов с комбинациями аберраций составило 74). Большую часть CNV составили микродупликации – 261 из 498 (52%); микроделеции встречались реже – 208 из 498 (42%). В результате исследования было обнаружено 29 микротрипликаций, что составляет 6% от общего количества вариантов.

Для 125 аберраций определено происхождение. Большая часть микроделений и микродупликаций были унаследованы от условно здоровых родителей – 85 из 125 (68%). Микроделеции чаще возникали *de novo* – 22 из 58 (38%), в сравнении с микродупликациями – 18 из 67 (27%), однако статистически значимых отличий обнаружено не было ($p = 0,186$). Наследование P-CNV от условно здоровых родителей можно объяснить их возможной неполной пенетрантностью, которая показана для многих патогенных вариантов [Kirov G. et al., 2015]. Известно о ряде факторов, которые могут модифицировать эффект CNV, влияя на манифестацию заболевания и выраженность симптомов у носителей. К таким факторам относятся однонуклеотидные варианты и другие CNV, эпигенетические факторы (дифференциальная аллельная экспрессия, инактивация X-хромосомы, импринтинг) [Girirajan S. et al., 2010; Girirajan S. et al., 2012; Tolmacheva E.N. et al., 2020; Vasilyev S.A. et al., 2021].

В настоящем исследовании моногенные и полигенные аберрации обнаружены у 58 из 419 (14%) и 338 из 419 (81%) пациентов с РНПР, соответственно. У 23 из 419 (5%) индивидов

были выявлены комбинации моногенных и полигенных CNV. Таким образом, была сформирована выборка для проверки основной гипотезы настоящего исследования.

Сравнение частот семей, имеющих ребенка с расстройством нейropsychического развития, обусловленным CNV, в группах с наличием и отсутствием спонтанных абортс у матери

В ходе исследования впервые показано, что CNV статистически значимо чаще встречаются в группе семей с наличием СА (40%), в сравнении с группой без случаев эмбриональной гибели (29%) ($p = 0,03$) (Рисунок 2).

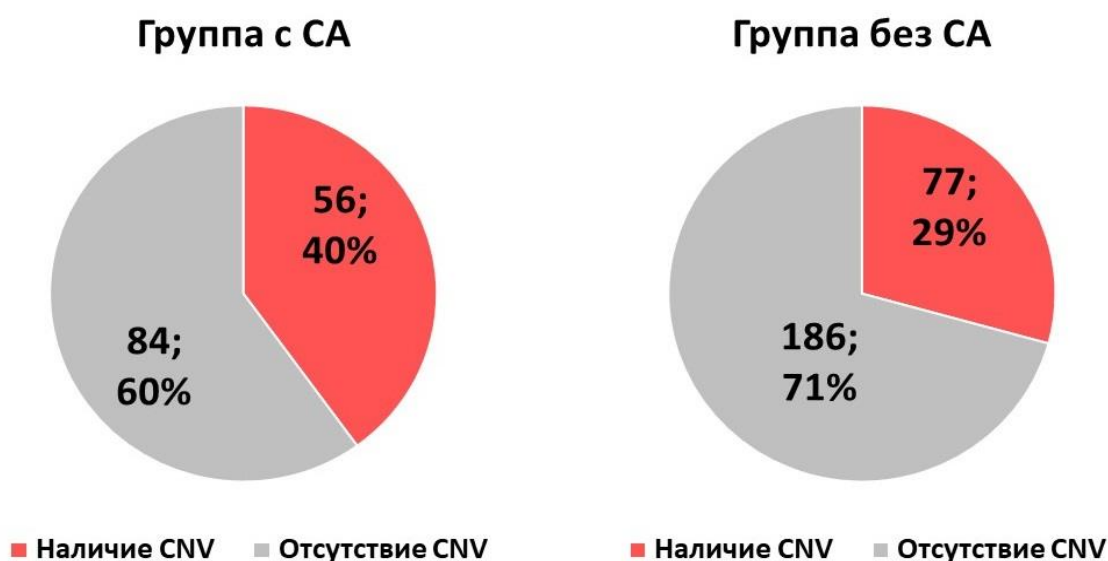


Рисунок 2 – Частоты семей с ребенком с расстройством нейropsychического развития с наличием и отсутствием CNV, а также наличием и отсутствием спонтанных абортс у его матери

Таким образом, в настоящем исследовании впервые высказана и подтверждена гипотеза о том, что одни и те же микроделеции и микродупликации могут обуславливать нарушения развития как в пренатальном, так и в постнатальном периодах онтогенеза.

Клиническая интерпретация CNV, обнаруженных у детей с расстройствами нейropsychического развития в группах с наличием и отсутствием спонтанных абортс у матери

P-CNV, ассоциированные с известными микроделеционными и микродупликационными синдромами, как правило, приводят к множественным ВПР, что, вероятно, увеличивает, в том числе, риск нарушения эмбрионального развития, если плод является носителем такой перестройки. В настоящей диссертационной работе предполагалось, что группа с СА будет обогащена преимущественно P-CNV, ассоциированными с известными синдромами.

В результате исследования в группе с СА обнаружено 63 варианта: 16 P-CNV, 7 LP-CNV и 40 VUS-CNV (Таблица 1). Группа без СА включала суммарно 95 структурных хромосомных aberrаций, среди которых 23, 10 и 62 CNV были интерпретированы как P, LP и VUS-CNV, соответственно. Проведено сравнение частот пациентов с P-CNV между

семьями с наличием и отсутствием СА – 16/140 (11%) и 21/263 (8%), соответственно, однако статистически значимых отличий обнаружено не было ($p = 0,255$).

Таблица 1 – Результат аCGH для пробандов из группы семей со случаями спонтанных абортов

Номер семьи	Результат аCGH (ISCN2020) [McGowan-Jordan J. et al., 2020] и qPCR	Клиническая значимость
1	2	3
Микроделеции		
CA1	arr[hg19] 2q23.1(149150964_149228395)×1 dn	P
CA2	arr[hg19] 5q14.3(88149592_88348206)×1 dn	P
CA3	arr[hg19] 10q23.1q23.32(85994649_93904872)×1	P
CA4	arr[hg19] 10p11.23(28305420_29065520)×1 dn	P
CA5	arr[hg19] 15q13.2-q13.3(31014508_32914140)×1	P
CA6	arr[hg19] 15q13.1q13.3(29213402_32914140)×1	P
CA7	arr[hg19] 17p12(14111772_15442066)×1	P
CA8	arr[hg19] 18q21.2(52787524_53115645)×1	P
CA9	arr[hg19] 22q11.21(18919942_21440514)×1	P
CA10	arr[hg19] 17q21.31(42979474_43123554)×1	LP
CA11	arr[hg19] 20q13.33(61599866_62065069)×1 dn	LP
CA12.1	arr[hg19] 7q11.22(69931302_70163628)×1	P
CA12.2	arr[hg19] 19p13.12(15069406_15201944)×1	VUS
CA13	arr[hg19] 1p33(50251479_50355533)×1	VUS
CA14	arr[hg19] 2q13(110895981_110980401)×1 mat	VUS
CA15	arr[hg19] 2p23.3(25456679_26085323)×1 dn	VUS
CA16	arr[hg19] 3q29(193384963_193854071)×1 pat	VUS
CA17	arr[hg19] 6p22.3(21162503_21242798)×1	VUS
CA18	arr[hg19] 7q11.21(64691936_65070919)×1	VUS
CA19	arr[hg19] 7q31.1(111044035_111149166)×1 mat	VUS
CA20	arr[hg19] 8p12(34835881_35698220)×1	VUS
CA21	arr[hg19] 10q26.3(135276496_135372492)×1 pat	VUS
CA22	arr[hg19] 14q31.1(81105184_81217657)×1	VUS
CA23	arr[hg19] 15q21.3(54157206_54557589)×1	VUS
CA24	arr[hg19] 20p12.1 (14944155_15265480)×1	VUS
CA25	arr[hg19] 22q11.21(18919942_18984519)×1	VUS
Микродупликации и микротрипликации		
CA26	arr[hg19] 2q23.1(149002435_149263104)×3 pat	P
CA27	arr[hg19] 15q11.1-q13.1(20102541_28525460)×4	P
CA28	arr[hg19] 16p11.2(29673954_30198600)×3 mat	P
CA29.1	arr[hg19] 3q29(195633970_196120090)×3 mat	LP
CA29.2	arr[hg19] 3q29(195633970_196120090)×3 mat	LP
CA30	arr[hg19] 4q32.3(167282122_167843694)×3	LP
CA31	arr[hg19] 12p11.23(27458545_27728702)×3	LP
CA32	arr[hg19] 18q12.2(34802557_34959618)×3	LP
CA33	arr[hg19] 1q21.1(145632334_145747269)×3	VUS
CA34	arr[hg19] 2p23.3(25754318_25922114)×3	VUS
CA35	arr[hg19] 3q29(197052877_197310451)×3 dn	VUS
CA36	arr[hg19] 5q35.1(172280941_172518783)×3	VUS
CA37	arr[hg19] 7q11.21(64691936_65070919)×3	VUS

Окончание таблицы 1

1	2	3
CA38	arr[hg19] 7p14.1(40041485_40132520)×3	VUS
CA39	arr[hg19] 9p24.2p24.1(4156589_4600270)×3	VUS
CA40	arr[hg19] 12q24.12q24.13(112184121_112308929)×3 mat	VUS
CA41	arr[hg19] 12p13.31(7805008_8003473)×3 mat	VUS
CA42	arr[hg19] 16q13(56970235_57030634)×4	VUS
CA43	arr[hg19] 16q23.1(77204099_78970723)×3 mat	VUS
CA44	arr[hg19] 16q23.3(81892733_82068906)×3	VUS
CA45	arr[hg19] 20q13.32(57820838_58218586)×3	VUS
CA46	arr[hg19] 21q22.11(31768902_32598074)×3	VUS
CA47	arr[hg19] 21q22.3(45347196_45557536)×3 pat	VUS
CA48	arr[hg19] Xq25q26.1(127647648_129252591)×2 mat	VUS
CA49	arr[hg19] Xp11.4(38491539_38547951)×2 mat	VUS
CA50	arr[hg19] Xp22.31(7820636_8295650)×2	VUS
Комбинации CNV		
CA51	arr[hg19]5q31.3(142782844_142991011)×1, 7q34(143036640_143088390)×3	VUS, VUS
CA52	arr[hg19]15q13.3(31972646_32510863)×3, 16p12.2(21599687_21739885)×1	P, VUS
CA53	arr[hg19] 2q14.3(125058848_126218693)×3, 16q22.1(67517596_68746527)×1	VUS, P
CA54	arr[hg19]6q27(168371416_168581212)×3, Xq21.32(92489472_92926219)×3 mat	VUS, VUS
CA55	arr[hg19]7q11.22(69492624_70163628)×1dn, Xp22.33(298292_1019080)×3	P, VUS
CA56	arr[hg19]1q21.1(145632334_145747269)×1, 16q24.2(87433214_88166239)×1	VUS, LP

Примечание: dn – происхождение *de novo*, mat – материнское, pat – отцовское.

Вероятно, влияние одних и тех же aberrаций на пренатальное и постнатальное развитие индивида не является свойством исключительно известных P-CNV. Большая часть aberrаций в обеих исследуемых группах была интерпретирована как VUS-CNV. Стоит отметить, что накопление данных и последующий реанализ как LP-CNV, так и VUS-CNV может привести к перераспределению выявленных вариантов относительно клинической значимости в группах с наличием и отсутствием СА.

Происхождение CNV у детей с расстройствами нейropsychического развития в группах семей с наличием и отсутствием спонтанных абортс у матери

Очевидно, для того чтобы CNV привела и к нарушению эмбриогенеза, и рождению ребенка с РНПР в одной и той же семье, вариант должен быть унаследован от одного из родителей. Вероятно, унаследованные aberrации чаще должны встречаться в группе с СА, в отличие от группы без эмбриональной гибели. В ходе исследования показано, что CNV, возникшие *de novo*, встречались в группах с наличием и отсутствием СА с частотой 30% и 22%, соответственно, а унаследованные варианты – 70% и 78%, соответственно. Статистически значимых отличий выявлено не было ($p = 0,608$). В группе с СА наблюдалось значительное преобладание вариантов материнского происхождения

– 10/14 (71%). В группе без случаев эмбриональной гибели, напротив, чаще встречались CNV, унаследованные от отца – 8/14 (57%). Тем не менее, статистически значимых отличий при сравнении групп выявлено не было ($p = 0,252$).

Таким образом, предполагалось, что в группе семей с СА пробанды чаще будут наследовать патогенетически значимые CNV от родителей. В результате исследования была показана тенденция к преобладанию вариантов материнского происхождения в группе с СА, при этом пробанды в группе без СА чаще имели аберрации, унаследованные от отца. Однако статистически значимые отличия по происхождению вариантов в группах с наличием и отсутствием СА выявлены не были. Это может быть связано с гетерогенностью спектра обнаруженных CNV в группах.

Характеристика CNV по копийности в семьях, имеющих ребенка с расстройством нейropsychического развития и наличием или отсутствием спонтанных аборт **у матери**

В настоящей работе ожидалось, что у пациентов с РНПР, матери которых имеют случаи СА, будут преимущественно обнаруживаться микроделеции, по сравнению с группой без СА. В ходе анализа было показано, что микроделеции, на самом деле, чаще встречаются в группе с наличием СА – 19%, в сравнении с группой без случаев эмбриональной гибели – 11% ($p = 0,027$) (Таблица 2).

Таблица 2 – Сравнение частот микроделений между группами с наличием и отсутствием спонтанных аборт

Обследованные индивиды	Группа с СА	Группа без СА	Уровень значимости, p
Пациенты только с микроделениями	26/140 (19%)	28/263 (11%)	0,027
Остальные пациенты	114/140 (81%)	235/263 (89%)	

Чтобы оценить, за счет микроделений с какой клинической значимостью получены различия, было проведено сравнение частот P-CNV, LP-CNV, VUS-CNV между группами с наличием и отсутствием СА, однако статистически значимые отличия не обнаружены ($p = 0,101$; $p = 0,471$; $p = 0,178$). Вероятно, это может быть связано с гетерогенностью спектра CNV в группах с наличием и отсутствием СА.

Характеристика CNV по количеству генов и размеру в семьях, имеющих ребенка с расстройством нейropsychического развития и наличием или отсутствием спонтанных аборт у матери

Хорошо известно, что эмбрионы с анеуплоидиями по большинству хромосом являются нежизнеспособными и погибают на ранних этапах пренатального периода развития. Исходя из этого, можно предположить, что чем протяженнее CNV, тем выше вероятность ее эмбриолетального эффекта. Кроме этого, в большинстве случаев размер CNV коррелирует с числом вовлеченных генов. Чем более протяженный вариант, тем больше генов аберрация включает. В настоящей работе предполагалось, что в группе

семей с СА будет наблюдаться накопление полигенных CNV, а также вариантов более крупного размера, по сравнению с группой семей без СА.

В ходе данного исследования показано, что частота моногенных и полигенных CNV в группе с наличием СА составила – 9% и 32%, соответственно, а в группе семей без случаев эмбриональной гибели – 3% и 26%, соответственно. Установлено, что моногенные aberrации достоверно чаще встречались в группе семей с СА ($p = 0,028$) (Таблица 3).

Моногенные CNV, обнаруженные в группе с СА, включали следующие гены – *AGBL4* (del1p33, CA13), *MBD5* (del и dup2q23.1, CA1 и CA26), *DTNB* (dup2p23.3, CA34), *SPOCK3* (dup4q32.3, CA30), *CDKAL1* (del6p22.3, CA17), *AUTS2* (del7q11.22, CA12.1 и CA55), *IMMP2L* (del7q31.1, CA19), *CDK13* (dup7p14.1, CA38), *CEP128* (del14q31.1, CA22), *UNC13C* (del15q21.3, CA23), *MACROD2* (del20p12.1, CA24), *TSPAN7* (dupXp11.4, CA49) (таблица 1).

Таблица 3 – Сравнение частот моногенных и полигенных CNV между группами с наличием и отсутствием спонтанных аборт

Обследованные индивиды	Группа с СА	Группа без СА	Уровень значимости, p
Пациенты с моногенными CNV	12/139 (9%)	8/263 (3%)	0,028
Остальные пациенты	127/139 (91%)	255/263 (97%)	
Пациенты с полигенными CNV	44/139 (32%)	69/263 (26%)	0,251
Остальные пациенты	95/139 (68%)	194/263 (74%)	

Три моногенные aberrации были интерпретированы как P-CNV (del2q23.1 и dup2q23.1; две del7q11.22), одна перестройка классифицирована как LP-CNV (dup4q32.3), остальные варианты – VUS-CNV. В литературе ген *MBD5* рассматривается как регулятор процессов эмбрионального развития [Guo J. et al., 2024]. Показано, что микроделеция *AUTS2* приводит к активации сигнального пути WNT/ β -catenin, что указывает на способность *AUTS2* в норме к его негативной регуляции [Geng Z. et al., 2024]. Известно, что сигнальный путь WNT/ β -catenin задействован в регуляции раннего эмбрионального развития [Sidrat T. et al., 2021].

Размер всех обнаруженных CNV в группе семей с СА находился в диапазоне от 52 т.п.о. (dup7q34, пациент CA51 в Таблице 1) до 8,4 м.п.о. (trip15q11.1-q13.1, пациент CA27 в Таблице 1), а в группе семей с отсутствием случаев эмбриональной гибели от 28 т.п.о. (del2p11.2) до 4,8 м.п.о. (del2q31.1). При сравнении CNV по размеру между группами с наличием и отсутствием СА статистически значимых отличий обнаружено не было (Таблица 4).

Таблица 4 – Сравнение вариантов по размеру между группами с наличием и отсутствием спонтанных аборт

Размер CNV	Группа с СА Me [Q1;Q3]	Группа без СА Me [Q1;Q3]	Уровень значимости, <i>p</i>
Размер всех CNV (п.о.)	270157 [132538; 671004]	339897 [140780; 584242]	0,77
Размер микроделетий (п.о.)	280224 [110033; 746563]	164977 [102082; 489130]	0,29
Размер микродупликаций, микротрипликаций (п.о.)	270157 [167796; 538217]	392032 [217874; 879209]	0,28

Таким образом, показано, что моногенные CNV статистически значимо чаще встречаются в группе семей с СА, по сравнению с группой без случаев эмбриональной гибели, указывая на то, что влияние аберрации на пренатальное и постнатальное развитие зачастую обусловлено изменением копийности отдельных генов. Тем не менее, полигенные варианты, очевидно, также могут обладать подобным эффектом, обусловленным не только одним определенным геном, но и несколькими генами, ассоциированными с нарушениями развития на разных этапах онтогенеза.

Характеристика генного состава CNV в семьях, имеющих ребенка с расстройством нейropsychического развития и наличием или отсутствием спонтанных абортов у матери

Основываясь на гипотезах ряда авторов, относительно механизмов связи между случаями СА и рождением детей с РНПР в одних и тех же семьях, мы предположили, что CNV из группы со случаями эмбриональной гибели могут быть обогащены генами, ассоциированными с аномалиями плаценты, аутоиммунными и сердечно-сосудистыми нарушениями [Rand J.H. et al., 1997; Tamblyn J.A. et al., 2013; Barrett M.J. et al., 2013; Parikh et al., 2016; Grimstad F. et al., 2016]. Кроме этого, вероятно, аберрации, обнаруженные у детей с РНПР в семьях с наличием СА, помимо аномалий нервной системы, также должны быть обогащены генами, ассоциированными с аномалиями эмбриогенеза.

Для исследования данного вопроса в каждой из групп в отдельности был выполнен анализ обогащения с использованием ресурса Enrichr (онтология «Фенотип млекопитающих»). Результат обогащения считался значимым при $p < 0,05$. Показано, что гены, вовлеченные в CNV в обеих группах, принадлежат к категориям, ассоциированным с нарушениями нервной системы, эмбриогенеза, аномалиями сердечно-сосудистой и иммунной систем.

Таким образом, в ходе анализа не было обнаружено отличий в категориях, обогащенных генами, вовлеченными в CNV между группами с наличием и отсутствием СА. Наличие структурных хромосомных аберраций, включающих гены, ассоциированные с эмбриональным развитием, в группе с отсутствием СА, вероятно, можно объяснить потенциальной неполной пенетрантностью вариантов. Кроме этого, исходы последующих беременностей в группе семей с отсутствием случаев эмбриональной гибели на момент исследования остаются неизвестными. Возможно, вовлечение в аберрации генов, ассоциированных с нарушениями эмбриогенеза, может указывать на риск СА для семей в будущем. Для поиска CNV, ассоциированных с

нарушениями пренатального и постнатального периодов развития, необходимо анализировать генный состав каждого варианта в отдельности.

Пробанды с патогенными и вероятно патогенными CNV, матери которых имеют случаи спонтанных аборт в анамнезе

Клинический случай №1

Пациент (СА26 в Таблице №1) с задержкой психического и речевого развития, гиперактивностью, аутоагрессией и судорожным синдромом, у которого обнаружена патогенная *dup2q23.1* (260,6 т.п.о.). Мать пациента имеет три СА. Микроудупликация, унаследованная от отца, включает экзоны 4-13 единственного гена *MBD5* (Рисунок 3). Для исследования был доступен материал только одного СА с нормальным кариотипом по результатам стандартного метафазного анализа, у которого с помощью aCGH также была зарегистрирована *dup2q23.1*.

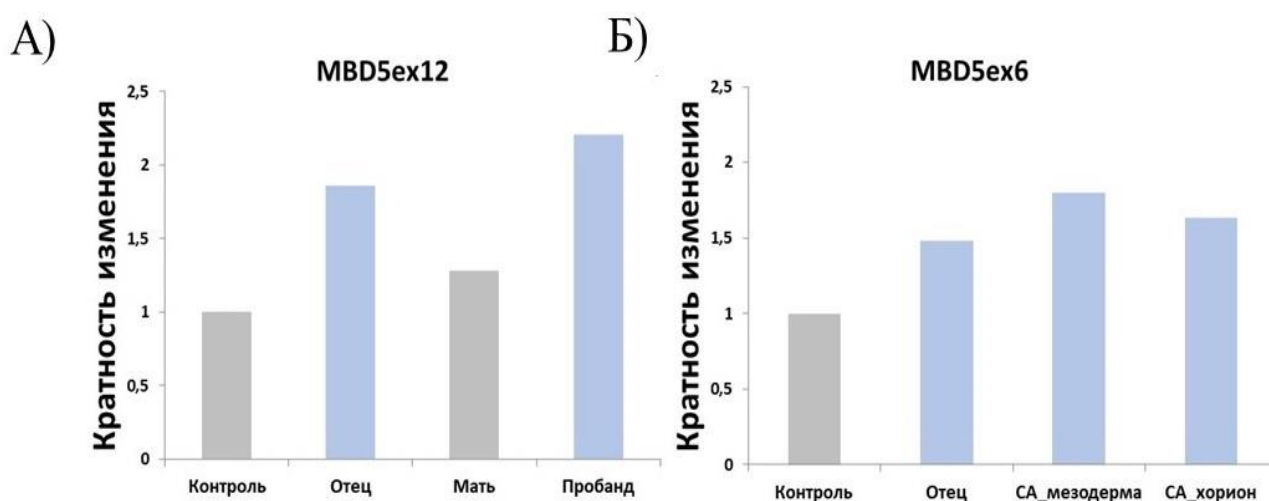


Рисунок 3 – А) анализ происхождения микроудупликации региона 2q23.1 у пробанда; Б) верификация микроудупликации 2q23.1 у спонтанного аборта
Примечание. Ось абсцисс – обследуемые, ось ординат – сравнение копийности участка ДНК по сравнению с контролем

Продукт гена *MBD5* регулирует процессы эмбрионального развития, а также взаимодействует с белками комплекса Polycomb, который участвует в эмбриогенезе [Sowa M.E. et al., 2009; Yu et al., 2010; Dey A. et al., 2012; Guo J. et al., 2024].

Клинический случай №2

Пациент (СА28 в Таблице 1) в возрасте пяти лет с задержкой психоречевого и моторного развития, микроцефалией, гипогонадизмом, стигмами дисэмбриогенеза. В анамнезе матери пациента имеется один случай СА. У пробанда была обнаружена патогенная *dup16p11.2*. Микроудупликация унаследована от матери (Рисунок 4).

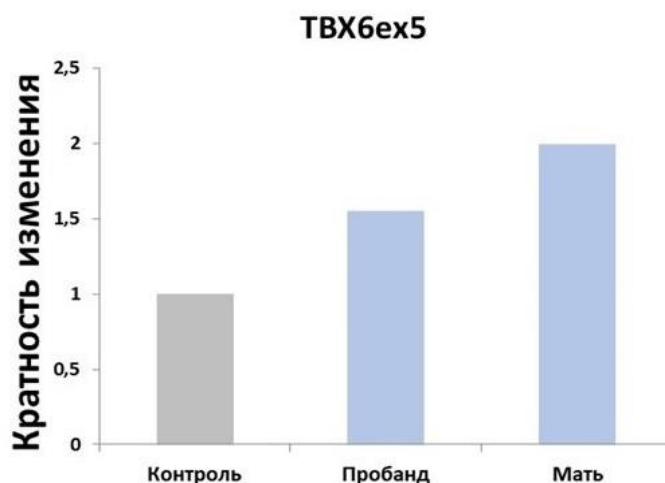


Рисунок 4 – Анализ происхождения микродупликации региона 16p11.2

Примечание. Ось абсцисс – обследуемые, ось ординат – сравнение копийности участка ДНК по сравнению с контролем

CNV пересекается с областью синдрома микродупликации 16p11.2 (OMIM: 614671). В данном регионе локализовано 29 генов. Согласно базе MGI, гены *QPRT*, *DOC2A*, *SEZ6L2*, *PRRT2*, *MAPK3*, *KCTD13* ассоциированы с нарушениями нервной системы. Гены *KIF22*, *PPP4C*, *CDIPT*, *TBX6*, *PAGR1* связаны с аномалиями морфологии и развития эмбриона, а также с эмбриональной летальностью. При анализе литературных данных были обнаружены два СА: один с микроделецией, размером превосходящей перестройку пациента СА28 в Таблице 1, а второй СА с микродупликацией, включающей аналогичный список генов, что и CNV у данного пациента [Li S. et al., 2021].

Клинический случай №3

Два сибса-близнеца (пять лет на момент обследования) с задержкой психоречевого развития, отсутствием контакта с окружающими, стереотипными движениями, периодическими истериками. У пробандов обнаружена вероятно патогенная *dup3q29*, размером 486 т.п.о. (СА29.1 и СА29.2 в Таблице 1, Рисунок 5).

В анамнезе матери пациенток имеется один случай СА. Установлено материнское происхождение CNV. Аберрация включает 13 генов. Область CNV пересекается с областью синдрома микродупликации 3q29 (OMIM: 611936). Продукт гена *TNK2* кодирует тирозинкиназу, имеющую высокий уровень экспрессии в головном мозге [Hitomi et al., 2013]. По данным MGI, варианты в генах *PCYT1A*, *TFRC*, *UBXN7* ассоциированы с нарушениями эмбрионального развития. Микродупликация 3q29, пересекающаяся по координатам с CNV у описываемых пациентов, была обнаружена у одного СА, а также плода с ВПР [Wang Y. et al., 2020; Cohan A.G., Dyer L.M., 2020].

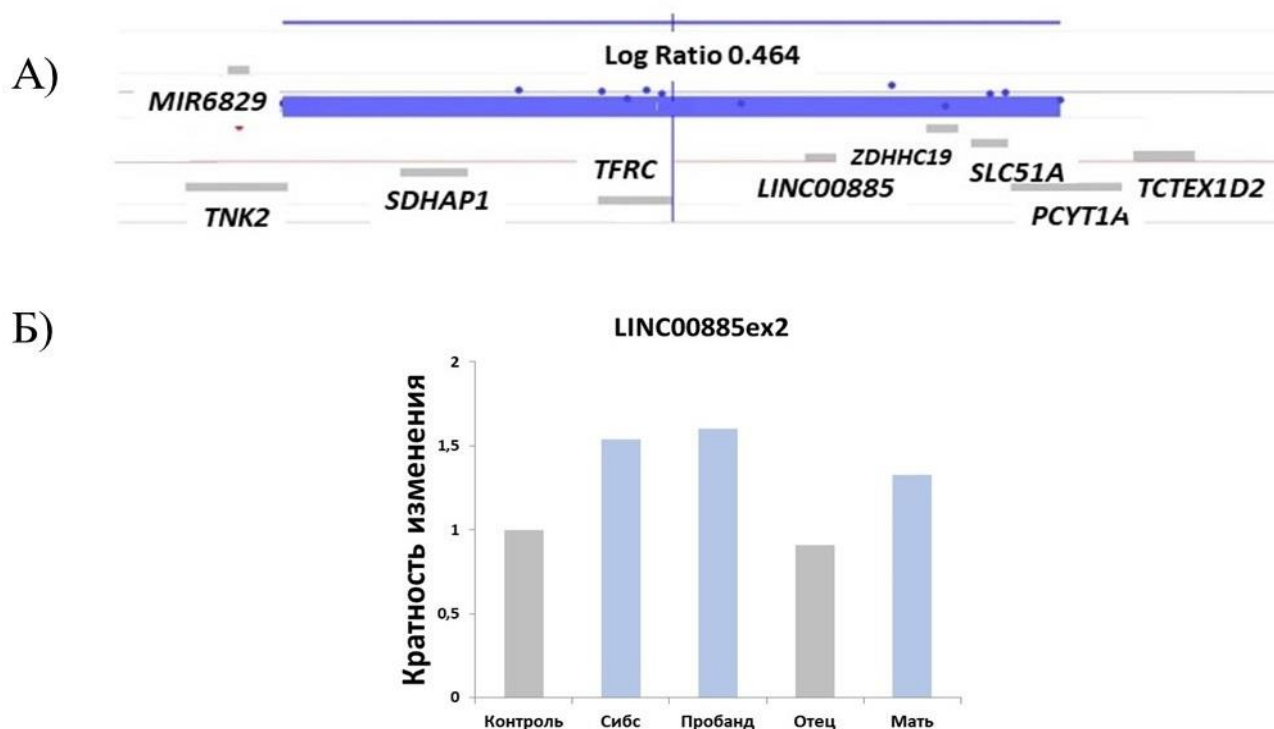


Рисунок 5 – А) Результат aCGH пробандов с микродупликацией 3q29;

Б) Анализ происхождения микродупликации региона 3q29

Примечание. Ось абсцисс – обследуемые, ось ординат – сравнение копийности участка ДНК по сравнению с контролем

Таким образом, унаследованные микродупликации 2q23.1, 3q29 и 16p11.2 описаны в семьях с ребенком с РНПР и СА. Данные aberrации включают гены, ассоциированные как с РНПР, так и с нарушением эмбриогенеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В основу диссертационного исследования легла гипотеза о том, что дети с расстройствами нейropsychического развития (РНПР), матери которых имеют спонтанные аборт (СА) в анамнезе, чаще являются носителями CNV, в сравнении с детьми с РНПР из семей без случаев эмбриональной гибели. Данная гипотеза основана на нескольких известных фактах. Во-первых, показана связь между рождением детей с РНПР и случаями СА у одной и той же женщины [Paz Levy D. et al., 2019; Wang H. et al., 2020; Ji H. et al., 2021; Jenabi E. et al., 2023]. Во-вторых, патогенетически значимые CNV являются одной из распространенных причин РНПР в детском возрасте, а также обнаруживаются у СА и плодов с врожденными пороками развития [Zarrei M. et al., 2019; Cai M. et al., 2020; Finley J. et al., 2022].

Настоящее исследование включало 1417 пациентов с РНПР, которые были обследованы с помощью aCGH. CNV обнаружены у 30% пробандов (P-CNV – 5%, LP-CNV – 3%, VUS-CNV – 19%, 3% – комбинации aberrаций с разной клинической значимостью). Сведения об акушерском анамнезе были доступны для матерей из 403 семей, которые имели две и более беременности, включая рождение ребенка с РНПР. Впервые показано, что CNV

статистически достоверно чаще встречаются в группе семей с СА (40%), в сравнении с группой без случаев эмбриональной гибели (29%) ($p = 0,03$). Установлено, что CNV в группе с наличием СА, главным образом, представлены микроделециями (19%) и моногенными абберациями (9%), в сравнении с группой без случаев эмбриональной гибели – 11% ($p = 0,027$) и 3% ($p = 0,028$), соответственно. Полученные данные согласуются с известной информацией о том, что потеря генетического материала оказывает более существенное влияние на развитие организма, в отличие от его увеличения. Преобладание моногенных CNV указывает на наличие генов, изменение копийности которых может быть критично для разных этапов онтогенеза. Показано, что такими генами могут являться *MBD5* (del и dup2q23.1) и *AUTS2* (del7q11.22). Продукты обоих генов взаимодействуют с белками комплекса Polycomb, который регулирует эмбриональное развитие, в то же время, генетические варианты и CNV, затрагивающие данные гены, ассоциированы с РНПР.

Отсутствие специфических категорий, объединяющих гены, вовлеченные в CNV, и объясняющих причину наличия ребенка с РНПР и СА в одних и тех же семьях, при проведении анализа обогащения указывает на то, что для поиска вариантов, ассоциированных с нарушениями пренатального и постнатального периодов развития, необходимо анализировать генный состав каждой CNV в отдельности. Используя такой подход, впервые были описаны унаследованные микродупликации 2q23.1, 3q29, 16p11.2, которые могли бы объяснить причину наличия РНПР и СА в одних и тех же семьях.

Таким образом, данная научная работа, посвященная изучению эффектов вариаций числа копий участков ДНК на разных этапах онтогенеза, не только расширяет знания относительно проявления распространенной формы структурной геномной вариабельности, но и помогает продвинуться в понимании причин двух совершенно разных, но, тем не менее, в рамках одной семьи, возможно, связанных социально значимых медицинских проблем – расстройства нейropsychического развития у ребенка и abortивного исхода беременности у его матери. Полученные результаты отражают практическую важность молекулярно-цитогенетической диагностики причин РНПР и СА, что позволяет обеспечить медико-генетическое консультирование семей на более высоком уровне. Разработанные при выполнении исследования медицинские технологии внедрены в лечебно-диагностический процесс Медико-генетического центра (Генетической клиники) НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

ВЫВОДЫ

1. CNV выявлены у 30% пациентов с расстройствами нейropsychического развития. Патогенные, вероятно патогенные CNV и варианты с неопределенной клинической значимостью обнаружены у 5%, 3% и 19% пациентов, соответственно. У 3% пробандов идентифицированы комбинации вариантов разной клинической значимости. Среди общего спектра CNV микродупликации и микротрипликации составили 58%, микроделеции – 42%. 68% CNV унаследованы от условно здоровых родителей, 32% возникли *de novo*. 17% вариантов были моногенными.
2. 40% пациентов с расстройствами нейropsychического развития, матери которых имеют случаи спонтанных abortов, являются носителями CNV. У пробандов, матери которых

не имеют спонтанного прерывания беременности, CNV обнаруживаются в 29% случаев ($p = 0,03$).

3. У пробандов с расстройствами нейropsychического развития, матери которых имеют случаи спонтанных аборт, микроделеции и моногенные CNV обнаруживаются в 19% и 9% случаев, соответственно. Среди пациентов с расстройствами нейropsychического развития, матери которых не имеют спонтанных аборт, микроделеции встречаются в 11% случаев ($p = 0,027$), а моногенные CNV – в 3% ($p = 0,028$).
4. Между группами с наличием и отсутствием спонтанных аборт отличия в отношении клинической значимости, происхождения и размера CNV не выявлены.
5. В группах семей с наличием и отсутствием спонтанных аборт CNV обогащены генами, ассоциированными с нарушениями эмбриогенеза, аномалиями сердечно-сосудистой и иммунной систем.
6. CNV в регионах 2q23.1, 3q29 и 16p11.2 могут быть ассоциированы как с рождением детей с расстройствами нейropsychического развития, так и со спонтанным прерыванием беременности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК:

1. Kashevarova A.A., Lopatkina M.E., Vasilyeva O.Yu., **Fedotov D.A.**, Lobanov A.D., Fonova E.A., Zhalsanova I.Z., Zarubin A.A., Salyukova O.A., Belyaeva E.O., Petrova V. V., Ravzhaeva E.G., Agafonova A.A., Cheremnykh A.D., Torkhova N.B., Vovk S.L., Lebedev I.N. Delineation of the Genetic Architecture and Clinical Polymorphism of 3q29 Duplication Syndrome: A Review of the Literature and a Report of Two Novel Patients With Single-Gene BDH1 Duplications // *Molecular genetics & genomic medicine*. – 2025. – V.13. – № 1:e70047. (РИНЦ, УБС – 3, WoS/Scopus Q3, ВАК K1)
2. Tolmacheva E.N., Kashevarova A.A., Fonova E.A., Salyukova O.A., Seitova G.N., Nazarenko L. P., Agafonova A.A., Minaycheva L.I., Ravzhaeva E.G., Petrova V.V., Lopatkina M.E., Belyaeva E.O., Vovk S.L., **Fedotov D.A.**, Vasilyeva O.Y., Skryabin N.A., Lebedev I.N. Prevalence of CNVs on the X chromosome in patients with neurodevelopmental disorders // *Molecular cytogenetics*. – 2025. – V. 18. – № 1:3. (РИНЦ, УБС – 3, WoS/Scopus Q3, ВАК K1)
3. **Федотов Д.А.**, Кашеварова А.А., Лебедев И.Н. CNV у пациентов с нарушениями психомоторного развития: мета-анализ // *Генетика*. – 2024. – Т. 60. – №5. – С. 26-41. (РИНЦ, УБС – 3, WoS/Scopus Q4, ВАК K2)
4. **Федотов Д.А.**, Кашеварова А.А., Лопаткина М.Е., Саженова Е.А., Никитина Т.В., Дроздов Г.В., Салюкова О.А., Равжаева Е.Г., Минайчева Л.И., Сеитова Г.Н., Лебедев И.Н. Семейный случай внутригенной микродупликации *MBD5* (2q23.1) // *Медицинская генетика*. – 2024. – Т. 23. – № 12. – С. 67-71. (РИНЦ, УБС – 4, ВАК K2)
5. Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Суханова Н.Н., Агафонова А.А., Минайчева Л.И., Фонова Е.А., Васильева О.Ю., **Федотов Д.А.**, Лебедев И.Н. Клинические проявления и инактивация X-хромосомы в случае дупликации Xq22.3q25 // *Медицинская генетика*. – 2024. – Т. – 23. – № 11. – С. 63-66. (РИНЦ, УБС – 4, ВАК K2)

6. Кашеварова А.А., Дроздов Г.В., **Федотов Д.А.**, Лебедев И.Н. Плейотропные эффекты CNV в геноме человека // Генетика. – 2022. – Т. 58. – № 10. – С. 1124-1137. (РИНЦ, УБС – 3, WoS/Scopus Q4, ВАК K2)
7. Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Беляева О.Е., Салюкова О.А., Фонова Е.А., Лопаткина М.Е., **Федотов Д.А.**, Лебедев И.Н. Диагностика X-сцепленных CNV в семьях с задержкой нервно-психического развития // Медицинская генетика. – 2022. – Т. 21. – № 11. – С. 48-51. (РИНЦ, УБС – 4, ВАК K2)
8. Кашеварова А.А., Лопаткина М.Е., Васильева О.Ю., **Федотов Д.А.**, Фонова Е.А., Сивцев А.А., Зарубин А.А., Лебедев И.Н. Алгоритм молекулярной диагностики наследственной патологии, ассоциированной с моногенными CNV // Медицинская генетика. – 2022. – Т. 21. – № 11. – С. 36-39. (РИНЦ, УБС – 4, ВАК K2)
9. Кашеварова А.А., Лопаткина М.Е., Беляева О.Е., **Федотов Д.А.**, Дроздов Г.В., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н. Распространенность и спектр моногенных CNV у пациентов с нарушениями интеллектуального развития // Медицинская генетика. – 2021. – Т. 20. – № 10. – С. 44-46. (РИНЦ, УБС – 4, ВАК K2)
10. Беляева Е.О., Кашеварова А.А., Васильев С.А., Скрябин Н.А., Лопаткина М.Е., Дроздов Г.В., **Федотов Д.А.**, Лебедев И.Н. Идентификация модифицирующих хромосомных вариантов у здоровых носителей патогенетически значимых CNV. Медицинская генетика. – 2021. – Т. 20. – № 10. – С. 47-49. (РИНЦ, УБС – 4, ВАК K2)
11. Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Беляева Е.О., Салюкова О.А., Фонова Е.А., Лопаткина М.Е., Дроздов Г.В., **Федотов Д.А.**, Лебедев И.Н. Клинические эффекты моногенной дупликации Xp11.4 с вовлечением гена *TSPAN7*. Медицинская генетика. – 2021. – Т. 20. – № 9. – С. 45-47. (РИНЦ, УБС – 4, ВАК K2)

Тезисы

1. **Федотов Д.А.**, Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Лопаткина М.Е., Васильева О.Ю., Толмачева Е.Н., Беляева Е.О., Минайчева Л.И., Петрова В.В., Равжаева Е.Г., Салюкова О.А., Сивоха В.М., Фадюшина С.В., Сеитова Г.Н., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н. Спектр CNV у пациентов с нарушениями психомоторного развития // Сборник тезисов 14-ой Международной мультikonференции Биоинформатика регуляции и структуры геномов/системная биология – 2024. – С. 795-799.
2. **Федотов Д.А.**, Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Лопаткина М.Е., Васильева О.Ю., Толмачева Е.Н., Дроздов Г.В., Беляева Е.О., Минайчева Л.И., Петрова В.В., Равжаева Е.Г., Салюкова О.А., Сивоха В.М., Фадюшина С.В., Сеитова Г.Н., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н. CNV, ассоциированные с нарушениями психомоторного развития, как возможная причина эмбриональной гибели // Сборник трудов VIII Съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 300-летию российской науки и высшей школы. – 2024. – Т. 1. – С. 517
3. **Федотов Д.А.**, Кашеварова А.А., Лопаткина М.Е., Васильева О.Ю., Беляева О.Е., Назаренко Л.П., Дроздов Г.В., Лебедев И.Н. Плейотропия CNV в патогенетике нарушений эмбрионального и психомоторного развития // Сборник тезисов молодежной конференции XXII Зимней молодежной школы ПИЯФ – 2023. – С. 204- 205.
4. Kashevarova A.A., Skryabin N.A., Lopatkina M.E., Vasilyeva O.Yu., Drozdov G.V., Salyukova O.A., Belyaeva E.O., Petrova V.V., Ravzhaeva E.A., Fadyushina S.V., Agafonova A.A.,

- Minaycheva L.I., Seitova G.N., Shorina A.R., Maslennikov A.B., **Fedotov D.A.**, Nikitina T.V., Sazhenova E.A., Tolmacheva E.N., Fonova E. A., Savchenko R.R., Nazarenko L.P., Lebedev I.N. Pleiotropic effects of DNA Copy Number Variations in human ontogenesis // 8th Asia-Pacific Chromosome Colloquium, September 18-21, 2023, Tekirdag, Turkey. Book of Abstracts. P. 35-36.
5. Kashevarova A.A., Belyaeva E.O., Fonova E.A., Lopatkina M.E., Vasilieva O.Yu., **Fedotov D.A.**, Zarubin A.A., Sivtsev A.A., Demeneva V.V., Salyukova O.A., Petrova V.V., Fadiushina S.V., Minaycheva L.I., Seitova G.N., Nazarenko L.P., Lebedev I.N.. Combined whole exome sequencing and chromosomal microarray analysis improve clinical interpretation of genomic variants in patients with intellectual disability // *European Psychiatry*. – 2023. – V. 66. – № S1. – P. S887-S887.
 6. **Федотов Д.А.**, Кашеварова А.А., Лопаткина М.Е., Васильева О.Ю., Беляева Е.О., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н. Плейотропный эффект CNV при нарушениях психомоторного развития и невынашивании беременности // *Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины. Сборник материалов конгресса молодых ученых*. – 2022. – С. 84-87.
 7. **Fedotov D. A.**, Kashevarova, A. A., Lopatkina, M. E., Vasilyeva O. Y., Belyaeva E.O., Nazarenko L.P., Lebedev I.N. CNV is a genetic factor underlying risk of neurodevelopmental disorder in a child of a woman with miscarriage in anamnesis // *Human Reproduction* – 2022. – V. 37. – P. deac107.502.
 8. **Федотов Д.А.**, Кашеварова А.А., Лопаткина М.Е., Васильева О.Ю., Беляева Е.О., Назаренко Л.П., Дроздов Г.В., Лебедев И.Н. CNV как фактор риска нарушения психомоторного развития у ребенка женщины с невынашиванием беременности // *Сборник тезисов Всероссийской конференции молодых ученых «Генофонд и репродуктивное здоровье человека»* – 2022. – С. 25-26.
 9. Kashevarova A. A., Lopatkina M. E., Belyaeva E. O., **Fedotov D. A.**, Drozdov G.V., Nazarenko L.P., Lebedev I.N. Identification of candidate genes of intellectual disability by single-gene deletions/amplifications mapping using chromosomal microarray analysis // *European Psychiatry*. – 2022. – V. 65. – №. 1. – P. S382-S382.
 10. Belyaeva E. O., Kashevarova A. A., Drozdov G.V., **Fedotov D.A.**, Lebedev I.N. Concomitant CNVs in healthy carriers with 7q31.1 microdeletions may suppress intellectual disability and autism spectrum disorders phenotype // *European Psychiatry*. – 2022. – V. 65 – №. S1. – P. S382-S382.

Медицинские технологии профилактики, диагностики, лечения заболеваний и реабилитации пациентов:

1. Кашеварова А.А., Лопаткина М.Е., Васильева О.Ю., **Федотов Д.А.**, Фонова Е.А., Сивцев А.А., Зарубин А.А., Бабушкина Н.П., Беляева Е.О., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н. Молекулярно-цитогенетическая диагностика моногенных вариаций в числе копий участков ДНК у детей с недифференцированными формами умственной отсталости // *Методические рекомендации по медицинским технологиям молекулярной диагностики хромосомных и наследственных болезней* / Под ред. академика РАН В.А. Степанова. – Новосибирск: Академиздат. – 2022. – С. 7-36.
2. Толмачева Е.Н., Фонова Е.А., Кашеварова А.А., Васильева О.Ю., Лопаткина М.Е.,

Федотов Д.А., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н. Молекулярно-цитогенетическая диагностика Х-сцепленных микроделений и микродупликаций у пациентов с недифференцированными формами умственной отсталости // Методические рекомендации по медицинским технологиям молекулярной диагностики хромосомных и наследственных болезней / Под ред. академика РАН В.А. Степанова. – Новосибирск: Академиздат. – 2022. – С. 37-60.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

РНПР – расстройства нейropsychического развития

СА – спонтанный аборт

ВПР – врожденные пороки развития

CNV (от англ. Copy Number Variations) – вариации числа копий участков ДНК

P-CNV (от англ. Pathogenic CNV) – патогенные CNV

LP-CNV (от англ. Likely pathogenic CNV) – вероятно патогенные CNV

VUS-CNV (от англ. Variants of uncertain clinical significance) – CNV с неопределенной клинической значимостью

LB-CNV (от англ. Likely benign CNV) – вероятно доброкачественные CNV

B-CNV (от англ. Benign CNV) – доброкачественные CNV

aCGH (от англ. Array Comparative Genomic Hybridization) – матричная сравнительная геномная гибридизация

ПЦР – полимеразная цепная реакция

DGV (от англ. Database of Genomics Variants) – база данных геномных вариантов

DECIPHER (от англ. DatabasE of genomIc variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources) – база данных геномных вариантов и фенотипов у человека

OMIM (от англ. Online Mendelian Inheritance in Man) – база данных «Менделевское наследование у человека»

Просьба высылать отзывы на автореферат по адресу:

НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ

634050, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10

Ученому секретарю диссертационного совета 24.1.215.03

д-ру мед. наук Назаренко М.С.

e-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru