

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

На правах рукописи



Федотов Дмитрий Андреевич

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

1.5.7 Генетика

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

кандидат биологических наук

Кашеварова Анна Александровна

Томск – 2025

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1 Расстройства нейropsychического развития: частота, причины и методы поиска генетических аномалий.....	15
1.2 Абортивный исход беременности: частота, причины и методы поиска генетических аномалий.....	19
1.3 Расстройства нейropsychического развития у детей и случаи спонтанных абортов у матери: ассоциация и ее предполагаемые механизмы	21
1.4 Вариации числа копий участков ДНК в пренатальном и постнатальном периодах развития	25
1.4.1 Общая характеристика CNV	25
1.4.2 Молекулярные механизмы реализации эффектов CNV	26
1.4.3 Факторы, модифицирующие клиническую манифестацию CNV	28
1.4.4 Клиническая интерпретация CNV	30
1.5 Спектр CNV у пациентов с расстройствами нейropsychического развития	35
1.6 Спектр CNV у внутриутробно погибших зародышей человека	42
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	54
2.1 Характеристика исследуемых выборок	54
2.2 Дизайн исследования	55
2.3 Молекулярно-генетические методы исследования	59
2.3.1 Фенол-хлороформная экстракция ДНК	59
2.3.2 Матричная сравнительная геномная гибридизация	60
2.3.3 Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени	64

2.4 Анализ полученных данных	69
2.4.1 Интерпретация данных матричной сравнительной геномной гибридизации.	69
2.4.2 Интерпретация данных количественной ПЦР в режиме реального времени	70
2.4.3 Статистический анализ полученных результатов	70
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	71
3.1 Спектр CNV у детей с расстройствами нейropsychического развития	71
3.2 Сравнение частот семей, имеющих ребенка с расстройствами нейropsychического развития, обусловленными CNV, в группах с наличием и отсутствием спонтанных абортoв у матери	89
3.3 Клиническая интерпретация CNV, обнаруженных у детей с расстройствами нейropsychического развития в группах с наличием и отсутствием спонтанных абортoв у матери	90
3.4 Происхождение CNV у детей с расстройствами нейropsychического развития в группах семей с наличием и отсутствием спонтанных абортoв у матери	95
3.5 Характеристика CNV по копийности в семьях, имеющих ребенка с расстройством нейropsychического развития и наличием или отсутствием спонтанных абортoв у матери	99
3.6 Характеристика CNV по количеству генов и размеру в семьях, имеющих ребенка с расстройством нейropsychического развития и наличием или отсутствием спонтанных абортoв у матери	102
3.7 Характеристика генного состава CNV в семьях, имеющих ребенка с расстройством нейropsychического развития и наличием или отсутствием спонтанных абортoв у матери	107
3.8 Клинические случаи пробандов с патогенными и вероятно патогенными CNV, матери которых имеют случаи спонтанных абортoв в анамнезе	114
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	129

ВЫВОДЫ	134
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	135
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	136
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА	167
ПРИЛОЖЕНИЕ А	171

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Вариации числа копий участков ДНК (Copy Number Variation, CNV) представляют собой фрагменты ДНК, размером более одной тысячи пар нуклеотидов, по числу копий отличающиеся от референсного генома [Kearney H.M. et al., 2011]. К CNV относятся микроделеции, микродупликации, микротрипликации и другие. С момента разработки метода матричной сравнительной геномной гибридизации (aCGH), поиск и описание CNV при различных патологических состояниях является целью многочисленных исследований в области медицины. На сегодняшний момент времени aCGH является ведущим методом для поиска структурных хромосомных aberrаций у пациентов с расстройствами нейropsychического развития.

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 7,1%–40% пациентов [Firouzabadi S.G. et al., 2017; Zarrei M. et al., 2019; Vaccarin 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, анализ и обобщение полученных данных может 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 аномалиями развития и функционирования нервной системы. Кроме детей с РНПР, поиск патогенных CNV проводится у пациентов с сердечно-сосудистыми, аутоиммунными, нейродегенеративными, онкологическими заболеваниями, врожденными пороками развития [Lee J.A. et al., 2006; Beroukhim R. et al., 2010; Olsson L.M. et al., 2012; Sekar A. et al., 2016; Ehrlich L., Prakash S.K., 2022].

В соответствии с МКБ-11, абортивный исход беременности – группа состояний, которая не закончилась рождением живого ребенка. В данную группу входят различные диагнозы, в том числе, самопроизвольный аборт (JA00.0), неразвивающаяся беременность (JA03) и анэмбриония (JA04), далее упоминаемые как «спонтанные аборты» (СА). Репродуктивные потери встречаются в 10–15% случаях от всех клинически распознаваемых беременностей [Quenby S. et al., 2021]. При этом частота спорадического и привычного невынашивания беременности составляет 10,8% и 1–2%, соответственно, что является значимой проблемой для современной медицины [Bender Atik R. et al., 2018; 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. Так, известно, что воспалительные заболевания плаценты (например, villitis неизвестной этиологии) могут привести как к СА, так и к нарушениям развития нервной системы у потомства. Высказана гипотеза о том, что villitis неизвестной этиологии может вызвать местную воспалительную реакцию и/или окислительный стресс в перинатальном периоде, что может привести к аномалиям нервной системы [Tamblyn J.A. et al., 2013; Barrett M.J. et al., 2013]. Аутоиммунные заболевания матери, а именно синдром антифосфолипидных антител, системная красная волчанка, воспалительные заболевания кишечника, аутоиммунный тиреоидит, целиакия связаны с повышенным риском репродуктивных потерь [Rand J.H. et al., 1997; Grimstad F. et al., 2016]. При этом известно, что у матерей, имеющих

детей с задержкой развития, на 46% чаще обнаруживаются аутоиммунные заболевания [Lyall K. et al., 2014]. Таким образом, здоровье матери является значимым фактором, который может объяснить данную ассоциацию.

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. Известно, что синдром Мартина-Белл (OMIM: 300624), связанный с экспансией тринуклеотидных повторов CGG в гене *FMR1*, может приводить к РНПР. Также в мировой литературе опубликованы исследования, демонстрирующие связь между увеличением числа повторов CGG в данном гене и случаями СА у женщин [Ma Y. et al., 2019; Dean D.D. et al., 2019]. Помимо экспансии тринуклеотидных повторов общим генетическим фактором потенциально 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; Gu C. et al., 2022; Finley J. et al., 2022; Shao Y. et al., 2024; Dai Y.F. et al., 2024]. Однако, несмотря на значительное количество исследований, посвященных поиску CNV в материале СА, к настоящему моменту времени не описано ни одной истинно эмбриолетальной микроделеции или микродупликации. По данным мета-анализа, CNV встречаются у 14% СА [Drozdov G.V. et al., 2025]. У 8% плодов (29,0±3,4 недели беременности) с аномалиями развития также выявляются данный тип структурных хромосомных aberrаций [Cai M. et al., 2020].

Таким образом, вероятно, 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 той же CNV, которая выявлена у больного ребенка. Очевидно, проявление структурной хромосомной aberrации будет зависеть от дополнительных генетических,

эпигенетических и 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 [Iourov 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 вариантов 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 микроделений 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 аборты 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 микроделетий 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 работы

В ходе работы была впервые высказана и 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 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 aCGH в ходе пренатального генетического тестирования, 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 вариантов на хромосоме X у пациентов с недифференцированными формами умственной отсталости.

Методология и методы исследования

В данной работе применялись современные методы исследования. Для поиска CNV у пациентов с РНПР использовалась матричная сравнительная геномная гибридизация (aCGH) на микрочипах Human Genome CGH Microarray Kit 4×44K и SurePrint G3 Human CGH Microarray, 8×60K (Agilent Technologies, США), в соответствии с протоколом производителя. Все обнаруженные CNV были классифицированы по клинической значимости, согласно рекомендациям Американской коллегии по медицинской генетике и геномике совместно с проектом «Клинический геномный ресурс», а также Российского общества медицинских генетиков [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, NCBI PubMed, CNV-ClinViewer, MGI, Enrichr. 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 использовался пороговый метод сравнения графиков накопления ДНК. Статистический анализ данных проводился с использованием критерия хи-квадрат (χ^2) и Манна-Уитни. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

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 абберациями, 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 полученных результатов

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 научно-квалификационной работы

Результаты диссертационного 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 и 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 и онтогенетики Научно-исследовательского института медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук. Анализ и обобщение результатов исследования, написание и оформление текста диссертации выполнено лично автором. Автор участвовал в планировании исследования, а также в 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 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Расстройства нейropsychического развития: частота, причины и методы поиска генетических аномалий

Согласно МКБ-11, расстройства нейropsychического развития (РНПР) представляют собой группу поведенческих и когнитивных расстройств, возникающих в период развития нервной системы и включающие диагнозы, представленные в Таблице 1.

Таблица 1 – Классификация расстройств нейropsychического развития

Код МКБ-11	Диагноз
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

Интеллектуальные расстройства (ИР) (6A00) описываются как дефект умственного функционирования и адаптивного поведения. По тяжести ИР подразделяется на четыре степени: легкая (IQ 55-70), умеренная (IQ 40-55), тяжелая (IQ 25-40) и глубокая (IQ <25) [American Psychiatric Association, 2000]. Считается, что IQ в диапазоне от 70 до 85 является пограничным состоянием и не относится к ИР [Wieland J. et al., 2016]. В общей популяции частота ИР колеблется в диапазоне от 2 до 3% [Jansen S. et al., 2023]. Расстройства развития языка или речи (6A01) включают трудности в понимании или использовании речи в целях общения, выходящие за пределы нормальных индивидуальных различий, их частота находится в диапазоне 3-16% [Rosenbaum S., Simon P., 2016]. Расстройство аутистического спектра (РАС) (6A02) подразумевает нарушение социального

взаимодействия, общения, наличие ограниченных повторяющихся моделей поведения, интересов и деятельности. РАС диагностируются с частотой 1% среди детей по всему миру [Zeidan J. et al., 2022]. Распространенность РАС среди детей в Российской Федерации составляет 0,07% [Хаустов А.В. с соавт., 2019]. Расстройство развития учебных навыков (6A03) – значительные трудности в освоении учебных навыков (чтение, письмо, арифметика). В исследовании Zablotzky с соавторами распространенность данного расстройства составила 7,74% среди детей в возрасте от 3 до 17 лет [Zablotzky B. et al., 2019]. Расстройство развития координации движений (6A04) – значительная задержка приобретения навыков крупной и мелкой моторики, нарушения при выполнении координированных движений, сопровождающееся неуклюжестью, медлительностью или неаккуратностью. Среди детей школьного возраста частота расстройства развития координации движений составляет около 2-7% [American Psychiatric Association, 2013]. Синдром дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ) (6A05) характеризуется набором таких признаков, как повышенная двигательная активность, трудности с концентрацией внимания, недостаток самоконтроля и импульсивное поведение. По данным мета-анализа Salari с соавторами, распространенность СДВГ составляет 7,6% среди детей от 3 до 12 лет и 5,6% среди подростков от 12 до 18 лет [Salari N. et al., 2023]. СДВГ обнаруживается у 7-28% российских детей младшего школьного возраста [Заваденко Н.Н. с соавт., 2005]. Синдром стереотипных движений (6A06) включает наличие устойчивых произвольных, повторяющихся, стереотипных, бесцельных движений, которые не вызваны действием психоактивных веществ или лекарственных препаратов и мешают повседневной жизни.

Известно о коморбидности между различными нейropsychическими расстройствами. Например, среди пациентов с РАС у 70% имеется одно дополнительное психическое расстройство, а два и более нарушений психики регистрируются в 40% случаев [DeFilippis M., 2018]. Показано, что 22-83% пациентов, для которых РАС является основным диагнозом, имеют симптомы СДВГ и, наоборот, среди детей с СДВГ клинические признаки РАС встречаются в

30-65% случаев [Sokolova E. et al., 2017]. У пациентов с РАС встречаются тревожные, депрессивные, биполярные расстройства, а также нарушения сна, обсессивно-компульсивные расстройства, шизофрения и другие психические нарушения [Hossain M.M. et al., 2020]. Среди пациентов с ИР часто обнаруживаются эпилепсия, РАС, СДВГ [Tuchman R., 2017].

У мальчиков РНПР встречаются чаще, чем у девочек. Соотношение мальчиков и девочек с РАС, СДВГ, легкой и тяжелой формами ИР составляет 4:1, 2:1, 1,6:1 и 1,2:1, соответственно [Morris-Rosendahl D.J. et al., 2020]. Существуют несколько предположений, объясняющих данные половые различия. Например, наличие у женщин второй X-хромосомы. Инактивация aberrантной X-хромосомы выступает в роли защитного фактора [May T. et al., 2019]. Другим объяснением является различие в скорости развития мозга. Более медленное развитие мозга у мужчин продлевает период риска для разрушительных воздействий окружающей среды и стресса [Schoore A., 2017].

Причины развития РНПР крайне гетерогенны и могут быть разделены на средовые и генетические. Среди средовых факторов выделяют химическое воздействие, ультрафиолетовое излучение, недостаточное питание, культурная депривация, тяжелые травмы головы, а также инфекции (корь, менингит) [Winperenninckx B. et al., 2003]. Показано, что с более высоким риском родить ребенка с РНПР связано наличие у матери сахарного диабета 1-го типа и 2-го типа, а также гестационного сахарного диабета [Chen K.R. et al., 2023]. Аутоиммунные заболевания матери повышают риск рождения ребенка с РАС (OR, 1.34; 95% CI, 1.23-1.46) [Chen S.W. et al., 2016].

Генетические причины включают анеуплоидии (синдром Дауна (OMIM: 190685), Эдвардса, Патау), экспансию тринуклеотидных повторов (синдром Мартина-Белл (OMIM: 300624)), вариации числа копий участков ДНК – CNV (синдром Вильямса-Бойрена (OMIM: 194050), Ангельмана (OMIM: 105830), Прадера-Вилли (OMIM: 176270) и др.), однонуклеотидные варианты, ассоциированные с аутосомно-доминантными (синдром Корнелии Де Ланге (OMIM: 122470), туберозный склероз (OMIM: 191100) и др.), аутосомно-

рецессивными (фенилкетонурия (OMIM: 261600), болезнь Тея-Сакса (OMIM: 272800) и др.) и X-сцепленными (синдром Опица (OMIM: 300000), Виккера-Вольфа (OMIM: 314580), Ретта (OMIM: 312750) и другими заболеваниями.

Первыми методами, при помощи которых устанавливалась генетическая этиология РНПР, являлись стандартная цитогенетика и флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH). Позже появились технологии сравнительной геномной гибридизации (CGH), а затем и матричной сравнительной геномной гибридизации (aCGH), ставшей основным методом диагностики причин РНПР у детей. Благодаря aCGH были накоплены обширные знания о различных субмикроскопических вариациях в геномах пациентов с РНПР [Girirajan S. et al., 2013; Matsunami N. et al., 2013; Engchuan W. et al., 2015; Di Gregorio E. et al., 2017; Zarrei M. et al., 2019; Yuan H. et al., 2021; Kushima I. et al., 2022]. При помощи aCGH молекулярный диагноз может быть установлен для 15-20% индивидов с глобальной задержкой развития, ИР, РАС и множественными врожденными аномалиями [Miller D.T. et al., 2010]. Появление методов исследования с более высокой разрешающей способностью – полноэкзомное и полногеномное секвенирование (WES и WGS, соответственно) способствовало описанию множества однонуклеотидных вариантов, что привело к росту числа пациентов с установленной молекулярной природой РНПР, для которых не было выявлено других причин наблюдаемого фенотипа ранее. В своем мета-анализе Srivastava с соавторами, используя данные 21 исследования, показали, что диагностическая результативность WES составляет 31% [Srivastava S. et al., 2019]. Lee с коллегами провели анализ 214 пациентов с неврологическими расстройствами при помощи WGS. В результате, молекулярная причина расстройств была определена у 44% пациентов [Lee H.F. et al., 2021]. В другой работе авторы проанализировали 103 исследования (32 331 пациентов) и оценили эффективность использования методов секвенирования нового поколения (NGS), включая полногеномное и полноэкзомное секвенирование, а также использование мультигенных панелей. Диагностическая ценность NGS в отношении РАС составила 17,1% и 28,2% для ИР [Stefanski A. et al., 2021].

1.2 Абортивный исход беременности: частота, причины и методы поиска генетических аномалий

Согласно МКБ-11, абортивный исход беременности – группа состояний, которые не сопровождаются рождением живого ребенка. Каждый год в мире происходит около 23 миллионов случаев репродуктивных потерь, что составляет 10-15% от всех клинически распознаваемых беременностей. 10,8% женщин имеют как минимум один случай СА [Quenby S. et al., 2021]. При наличии у женщины двух и более потерь беременности говорят о привычном невынашивании беременности (ПНБ), частота которого составляет 1-2% [Bender Atik R. et al., 2018]. Свыше 90% репродуктивных потерь происходят в первом триместре [Kolte A.M. et al., 2021; Bortoletto P. et al., 2022].

Причины репродуктивных потерь многообразны:

- Анатомические дефекты матки (10-15% случаев ПНБ) – врожденные аномалии матки, внутриматочные спайки, фиброиды матки и другие. Риск самопроизвольного аборта при наличии у женщины такой врожденной аномалии как маточная перегородка достигает 76% [Lin P.C., 2004];
- Эндокринные нарушения (17-20% случаев ПНБ) – синдром поликистозных яичников, сахарный диабет, заболевания щитовидной железы и другие [Stephenson M.D. et al., 1996; Fox-Lee L., Schust D.J., 2007]. Синдром поликистозных яичников выявляется у 40% женщин с ПНБ [Rai R. et al., 2000];
- Инфекционные заболевания, вызванные *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* [Solomon M. et al., 2017; Rose S.B. et al., 2017];
- Иммунные расстройства, в частности, синдром антифосфолипидных антител, который обнаруживается у 15-20% женщин с ПНБ [Regan L. et al., 2011; Kutteh W.H., 2014; Kutteh W.H., 2015].

Кроме этого, важным фактором для нормального течения беременности является вес матери. Известно, что ожирение увеличивает риск ПНБ [Lashen H. et al., 2004; Boots C., Stephenson M.D., 2011; Bender Atik R. et al., 2018].

Некоторые исследования также рассматривают влияние мужского фактора на течение беременности. Фрагментированная ДНК сперматозоидов может влиять на пренатальное и постнатальное развитие [Cho C. et al., 2003; Lewis S.E. et al., 2005; Nanassy L. et al., 2008]. Некоторые авторы рассматривают возможность ассоциации фрагментации ДНК сперматозоидов и ПНБ [Carrell D.T. et al., 2003; Kumar K. et al., 2012; Ribas-Maynou J. et al., 2012; Bareh J.M. et al., 2016; Zidi-Jrah I. et al., 2016]. Однако в работе Kirkman-Brown с соавторами, напротив, не выявлена связь между уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов и исходом беременности [Kirkman-Brown J. et al., 2019].

Среди генетических факторов выделяют хромосомные аномалии, которые встречаются у более 50% СА в первом триместре беременности. В большинстве случаев выявляются числовые хромосомные аномалии – аутосомные трисомии (30-60%), моносомии X (10-15%), триплоидии (11-13%), тетраплоидии (9%) [Eiben B. et al., 1990; Lomax B. et al., 2000; Muñoz M. et al., 2010; Soler A. et al., 2017]. Частота сегментных анеуплоидий, патогенных микроделеций и микродупликаций, а также однородительских изодисомий составляет 3,6%, 2,2% и 1,9%, соответственно [Wang et al., 2017].

На вероятность анеуплоидии у эмбриона влияет возраст матери. Частота анеуплоидных эмбрионов увеличивается у женщин в возрасте 40-45 лет и достигает 55-85% [Capalbo A. et al., 2017; Gruhn J.R. et al., 2019]. При увеличении случаев СА у женщины возрастает вероятность эуплоидной репродуктивной потери. Так, у женщин с двумя или тремя случаями СА доля анеуплоидных СА составляет 60,9%, а у женщин с шестью и более случаями СА доля анеуплоидных СА снижается до 24,4% [Ogasawara M. et al., 2000]. В семьях с ПНБ частота родительских aberrаций (транслокаций, инсерций и вариаций числа копий участков ДНК (CNV)) превышает частоту данных вариантов в общей популяции – 2-5% и 0,7%, соответственно [De Braekeleer M., Dao T.N., 1990; Stephenson M.D. et al., 2006; Sugiura-Ogasawara M. et al., 2008; Fan H.T. et al., 2016; Popescu F. et al., 2018; Priya P.K. et al., 2018].

Для определения генетических факторов, приводящих к СА, используют различные методы исследования. Учитывая, что наиболее частой причиной репродуктивных потерь являются числовые хромосомные аномалии, «золотым стандартом» для диагностики генетической составляющей нарушений эмбрионального развития является классическое кариотипирование. Однако, данный метод исследования имеет ряд ограничений. Например, низкая пролиферативная активность клеток СА затрудняет получение метафазных пластинок для дальнейшего анализа [Fritz B. et al., 2001; Лебедев И.Н. и др., 2003]. Другой проблемой является возможная контаминация материала СА клетками материнского происхождения, частота которой может составлять до 30% [Bell K.A. et al., 1999; Nikitina T.V. et al., 2005; Jobanputra V. et al., 2011]. Кроме этого, использование микроскопии не позволяет обнаружить субмикроскопические структурные хромосомные перестройки ввиду ее низкого разрешения, что может привести к ложноотрицательным результатам. Для поиска причин СА также активно используется аCGH, которая способна детектировать не только анеуплоидии, но также и микроделеции и микродупликации [Кашеварова и др., 2019; Li et al., 2021]. Кроме этого, существуют работы, где основным методом исследования для поиска генетических причин СА является NGS [Zeng W. et al., 2023; Bai W. et al., 2023].

1.3 Расстройства нейropsychического развития у детей и случаи спонтанных абортов у матери: ассоциация и ее предполагаемые механизмы

В четырех крупных работах показана связь между наличием СА у женщины и рождением у нее детей с РНПР. Raz levy D. с соавторами исследовали выборку 242 187 детей, рожденных с 1991 до 2014 год в медицинском центре Израиля. В исследуемую группу вошло 12 182 пациента, матери которых имели случаи ПНБ, а 230 005 индивидов были включены в контрольную группу (без ПНБ). У пациентов наблюдались такие расстройства, как РАС, СДВГ, эпилепсия, нарушения развития, расстройства сна, и другие. Дети с эпилепсией и задержкой развития чаще встречались у матерей, имеющих ПНБ (HR 1.28, 95% CI 1.06–1.54),

по сравнению с контрольной группой без ПНБ (HR 2.38; 95% CI 1.59–3.55) [Paz Levy D. et al., 2019].

Wang с коллегами исследовали выборку 1 062 667 детей из медицинского реестра Дании, рожденных в период с 1995 по 2012 год. 25 747 детей имели СДВГ, из которых 554, 3087 и 22 106 индивидов были рождены от матерей с ПНБ, спорадическим невынашиванием беременности (НБ) и отсутствием случаев эмбриональной гибели, соответственно. Частота СДВГ у детей, матери которых имели СА, была выше (HR, 1.11; 95% CI, 1.07-1.15), по сравнению с контрольной группой. Показано, что отношение рисков возрастает с ростом числа СА у женщины – 1.09 (95% CI, 1.05- 1.13) для 1 СА и 1.22 (95% CI, 1.12-1.33) при наличии как минимум двух СА [Wang H. et al., 2020].

В работе Ji с соавторами исследовали ассоциацию между СА у матерей и рождением у них детей с ИР. Используя данные национальных регистров Дании, была сформирована выборка из 1 778 786 индивидов, рожденных с 1977 по 2016 год. Среди них у 314 394 матерей был один СА, и у 97 850 зарегистрировано несколько случаев эмбриональной гибели. Отношение рисков для детей с ИР, матери которых имели СА, составило 1.17 (95% CI, 1.12–1.22). Риск ПНБ был выше, чем риск спорадического НБ – 1.30 (95% CI 1.20–1.40) и 1.13 (95% CI 1.07–1.18), соответственно [Ji H. et al., 2021].

Jenabi с коллегами провели мета-анализ, который включал 13 исследований, опубликованных до декабря 2021 года. Критерии включения предполагали отбор работ, имеющих дизайн обсервационного исследования (кросс-секционного, исследования случай-контроль или когортного), в которых оценивалась связь между предыдущими случаями СА в анамнезе и рождением детей с РАС у одной и той же женщины. Общая выборка составила 331 779 детей. Отношение шансов рождения ребенка с РАС при наличии в анамнезе у матери СА составило 1.64 (95% CI, 1.28–2.0) [Jenabi E. et al., 2023].

Авторы приводят свои объяснения выявленной ассоциации между случаями СА и рождением ребенка с РНПР у одной и той же женщины, ссылаясь на аномалии плаценты, аутоиммунные и сердечно-сосудистые заболевания матери. Известно,

что воспалительные заболевания плаценты, в частности виллит, связан с СА, нарушением развития мозга плода и церебральным параличом [Tamblyn J.A. et al., 2013]. В исследовании Barrett с соавторами определено, что новорожденные с диагнозом неонатальная энцефалопатия имели патологии плаценты, вызванные виллитом неизвестной этиологии. Предполагается, что виллит неизвестной этиологии может привести к дефектам белого вещества головного мозга, вызывая местную воспалительную реакцию и/или окислительный стресс в перинатальном периоде [Barrett M.J. et al., 2013]. Кроме того, структурные и функциональные аномалии плаценты обнаруживаются при врожденных пороках сердца (ВПС) плода [Andescavage N. et al., 2015; Albalawi A. et al., 2017; Zun Z. et al., 2017].

Гиперфузия плаценты, возникающая из-за дисфункции эндотелия, может привести к гипоксии плода и плацентарному окислительному стрессу. В свою очередь, это способно стать причиной травмы мозга плода и развития церебрального паралича [Hu Y. et al., 2013; Pang L. et al., 2013; Hagberg H. et al., 2015]. Плацента способна высвобождать сигнальные молекулы, которые поддерживают развитие мозга плода, например, аллопрегнанолаон, обладающий нейтрофическим, нейпропротекторным и противовоспалительным действием [Guennoun R. et al., 2015]. Новые данные о связи физиологии плаценты и развитии мозга привели к выделению такой области исследований, как нейроплацентология [Leon R.L. et al., 2022; Vacher C.M. et al., 2023].

Известно, что с повышенной вероятностью СА связаны аутоиммунные заболевания матери, например, синдром антифосфолипидных антител, системная красная волчанка, воспалительные заболевания кишечника, аутоиммунный тиреоидит, целиакия [Rand J.H. et al., 1997; Grimstad F. et al., 2016]. Lyall с коллегами показали, что у матерей детей с задержкой развития на 46% чаще, чем в контрольной группе, встречались аутоиммунные заболевания. Возможно, в результате такой патологии мозг плода подвергается окислительному стрессу, а также прямому воздействию цитокинов [Lyall K. et al., 2014]. В результате иммунных процессов могут вырабатываться аутоантитела, поражающие

центральную нервную систему, что может быть ассоциировано с эпилепсией у детей [Korff C.M. et al., 2017].

Важным фактором может выступать и питание матери. Прием фолатов находится в обратной зависимости с риском СА, РАС и ИР у детей [Gaskins A.J. et al., 2014; DeVilbiss E.A. et al., 2017]. Известно, что женщины с СА чаще могут испытывать повышенный уровень стресса при следующей беременности, что может активировать гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему, в результате чего нарушается барьерная функция плаценты и повышается уровень фетального кортизола, который может играть отрицательную роль в развитии мозга плода [Tsigos C. et al., 2002; Seckl J.R. et al., 2007; Fergusson D.M. et al., 2008; Bale T.L. et al., 2010, Lewis A.J. et al., 2014]. Другим фактором может выступать гипоксия, которая также имеет пагубное воздействие на мозг плода и ассоциирована с риском СДВГ [Renaud S.J. et al., 2011; Getahun D. et al., 2013].

На сегодняшний момент времени остаются неясными генетические основы исследуемой ассоциации. Вероятно, существуют общие генетические факторы, ассоциированные одновременно как с СА, так и с РНПР. Одним из таких факторов может выступать экспансия тринуклеотидных повторов. Известно, что наличие более 200 повторов CGG в гене *FMR1* приводит к интеллектуальным нарушениям, а наличие от 55 до 200 повторов CGG ассоциировано с первичной яичниковой недостаточностью. Ранее было опубликовано несколько сообщений о связи между увеличением количества повторов CGG в гене *FMR1* и случаями СА [Ma Y. et al., 2019; Dean D.D. et al., 2019].

Другим фактором риска, вероятно, могут быть CNV. Известно, что ряд CNV, ассоциированных с известными микроделеционными и микродупликационными синдромами, обнаруживаются у пациентов с РНПР, плодов с врожденными пороками развития и СА – del1q21, dup1q21, del3q29, del7q11.23, dup7q11.31, dup8p23.1, del15q11-q13, dup15q13.2-15q13.3, del16p13.11, del22q11.2 [Кашеварова А.А. и др., 2022].

1.4 Вариации числа копий участков ДНК в пренатальном и постнатальном периодах развития

1.4.1 Общая характеристика CNV

Вариации числа копий участков ДНК (Copy number variation, CNV) представляют собой фрагменты ДНК размером более одной тысячи пар нуклеотидов, по числу копий отличающиеся от референсного генома [Kearney H.M. et al., 2011]. С повышением разрешающей способности методов молекулярной диагностики минимальный размер CNV уменьшился до 50 пар оснований [Alkan C. et al., 2011]. Носительство некоторых структурных хромосомных вариантов не приводит к каким-либо фенотипическим изменениям у индивида. Известно, что 4,8-9,5% генома здорового человека приходится на CNV [Zarrei M. et al., 2015]. В других случаях абберрации способны вызывать ряд морфологических, физиологических и метаболических изменений [Zhang F. et al., 2009; Wright D. et al., 2009; Elder P.J.D. et al., 2018; Henkel J. et al., 2019]. Описаны патогенетически значимые CNV, встречающиеся среди пациентов с сердечно-сосудистыми, аутоиммунными, онкологическими заболеваниями, нарушениями развития нервной системы, нейродегенеративными заболеваниями, врожденными пороками развития и т.д. [Lee J.A. et al., 2006; Beroukhim R. et al., 2010; Olsson L.M. et al., 2012; Sekar A. et al., 2016; Ehrlich L., Prakash S.K., 2022]. Данный тип структурных хромосомных аббераций также обнаруживается у недоношенных детей и у плодов с аномалиями развития [Ворсанова С.Г. и др., 2019; Киевская Ю.К. и др., 2019, 2020; Cai M. et al., 2020; Киевская Ю.К. и др., 2021]. Таким образом, в то время как одни CNV могут обеспечивать генетическое разнообразие между индивидами, другие способны приводить к развитию заболеваний.

Основным механизмом образования CNV является неаллельная гомологичная рекомбинация (Nonallelic Homologous Recombination, NAHR), которая происходит между блоками сегментных дупликаций (СД) [Hastings P.J. et al., 2009]. СД представляют собой идентичные (на 90-95%) последовательности генома размером 1-100 т.п.н [Eichler E.E., 2001]. По последним данным, количество СД в геноме человека составляет 41 528 [Nurk S. et al., 2022].

Существуют различные классификации CNV: по числу копий, количеству генов, происхождению, клинической значимости и времени возникновения (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Классификация CNV

CNV можно также разделить на рекуррентные и нерекуррентные. Первые характеризуются общим размером и совпадающими точками разрывов. Вторые, напротив, имеют разную протяженность, их точки разрывов имеют различную локализацию, однако данные варианты способны частично пересекаться между несколькими пациентами [Gu W. et al., 2008].

1.4.2 Молекулярные механизмы реализации эффектов CNV

CNV могут реализовывать свой патогенный потенциал через ряд молекулярных механизмов:

1. При CNV происходит нарушение структуры/изменение числа копий дозозависимых (гаплонедостаточных/триплочувствительных) генов, что приводит к развитию заболевания. Например, синдромы Смит-Магенис (OMIM: 182290) –

RAI1, Ди Джорджи (OMIM: 188400) – *TBX1*, Фелан-МакДермид (OMIM: 606232) – *SHANK3* и др.

2. CNV могут приводить к изменению 3D-архитектуры генома, нарушая структуру топологически-ассоциированных доменов (ТАДов), а также образуя новые, тем самым изменяя экспрессию некоторых генов [Spielmann M. et al., 2018]. Так, дупликация региона 17q24.3, включающего гены *KCNJ2* и *SOX9*, приводит к образованию нового ТАДа, в результате чего ген *KCNJ2* переходит под контроль регуляторной области гена *SOX9*, что приводит к синдрому Кука (OMIM: 106995) [Franke M. et al., 2016]. Другим примером влияния CNV на экспрессию генов, посредством изменения 3D-организации генома, является делеция нуклеотидной последовательности перед геном *LMNB1*, которая приводит к разрыву границы ТАДа и в результате к активации гена *LMNB1* энхансерами из соседних ТАДов. Данная делеция ассоциирована с развитием демиелинизирующей лейкодистрофии (OMIM: 169500) [Giorgio E. et al., 2015].

3. CNV в некодирующих областях генома, включающие гены малых некодирующих РНК, также могут оказывать функциональное воздействие, влияя на экспрессию генов. Ранее было показано, что такие CNV вносят вклад в патогенез рака молочной железы [Kumaran M. et al., 2018].

4. CNV могут приводить к образованию химерного гена, когда соседние гены сливаются в единый транскрипт. Результаты, полученные в исследовании Rippey с соавторами, позволяют предположить, что образование химерных генов может играть роль в патогенезе шизофрении [Rippey C. et al., 2013].

5. CNV способны маскировать (в случае микродупликаций) или демаскировать (в случае микроделений) рецессивные однонуклеотидные варианты [Beckmann J.S. et al., 2007; Stankiewicz P. et al., 2010]. У человека белок SMN кодируется двумя изоформами генов - *SMN1* (OMIM: 600354) и *SMN2* (OMIM: 601627). Известно, что варианты гена *SMN1* приводят к спинальной мышечной атрофии (СМА) – аутосомно-рецессивному заболеванию, которое характеризуется дегенерацией двигательных нейронов в спинном мозге. Транскрипция гена *SMN1* приводит к получению полноразмерной мРНК, которая дает начало

функционально активному белку. Ген *SMN2* идентичен *SMN1* за исключением наличия однонуклеотидной замены с.840C>T в гене *SMN2* (экзон 7). Транскрипция данного гена и последующий сплайсинг приводит к образованию усеченной мРНК, а, следовательно, и к получению неактивного белка. Однако, ген *SMN2* способен производить 10-15% транскриптов, которые кодируют функционально активный продукт. Вероятно, благодаря этому, увеличение числа копий гена *SMN2* может наблюдаться у пациентов с более легким фенотипом СМА [Kolb S.J. et al., 2015]. В работе Egloff с соавторами описаны 19 пациентов с РНПР, которые являются носителями различных микроделеций, унаследованных от здоровых родителей. Для данных пациентов было проведено WES с целью обнаружения варианта в интактном аллеле, который не был затронут микроделецией. В результате у пациента с микроделецией 9q34.12q34.13 материнского происхождения была обнаружена гемизиготная однонуклеотидная делеция в гене *NUP214* (OMIM: 114350). У другого пациента с микроделецией 17p11.2p12 по итогам WES выявлен гемизиготный однонуклеотидный вариант в гене *NCOR1* (OMIM: 600849) Авторы делают заключение о том, что обнаруженные варианты в генах *NUP214* и *NCOR1* могут быть связаны с фенотипическими особенностями пациентов [Egloff M. et al., 2018].

6. CNV могут привести к манифестации эффектов импринтинга. При микроделеции региона 15q11-q13 происходит утрата активного аллеля, при этом остается только неактивный аллель, что в результате приводит к синдромам Прадера-Вилли (OMIM: 176270) или Ангельмана (OMIM: 105830) при локализации CNV на отцовской или материнской хромосомах, соответственно.

1.4.3 Факторы, модифицирующие клиническую манифестацию CNV

Ряд факторов могут модифицировать эффект CNV на фенотип пациента. К ним относятся дополнительные однонуклеотидные варианты и CNV, эпигенетические факторы (дифференциальное метилирование, инактивация X-хромосомы), а также влияние факторов окружающей среды.

Girirajan с соавторами была предложена «двухударная гипотеза», согласно которой первая CNV (первый удар) создает сенсibilизированный генетический фон, предрасполагающий к формированию некоторых психоневрологических дисфункций, а вторая CNV или SNP (второй удар) способствует более тяжелому фенотипу [Girirajan S. et al., 2010]. Известно, что микроделеция региона 16p12.1 ассоциирована с вариабельным фенотипом и унаследована в 95% случаев. При этом родители с микроделецией 16p12.1 имеют субклинические проявления легких форм нейропсихических заболеваний. При объяснении отличий клинических проявлений между пробандами и родителями авторы отмечают, что 25% пробандов имели дополнительную CNV. Вероятно, одной CNV достаточно для появления некоторых нейропсихических нарушений, а наличие второй аберрации приводит к более тяжелому фенотипу, ассоциированному с РНПР [Girirajan S. et al., 2010].

Описан ряд эпигенетических модификаторов. Одним из примеров может быть дифференциальное метилирование. В исследовании Vasilyev с соавторами представлены три семьи, имеющие детей с РНПР, у которых была обнаружена микроделеция региона 7q31.1 (локус предрасположенности к РАС). Данный вариант включал единственный ген - *IMMP2L* (OMIM: 605977). Ранее было показано, что микроделеции данного гена встречаются среди пациентов с эпилепсией, речевыми и двигательными расстройствами [Gimelli S. et al., 2014]. Во всех случаях в работе Vasilyev с соавторами вариант был унаследован пробандами от здоровых матерей. При дальнейшем анализе выявлен более низкий уровень метилирования и повышенный уровень экспрессии *IMMP2L* у матерей в сравнении с пробандами. Дополнительно был повышен уровень экспрессии генов, обогащенных компонентами рибосом, электрон-транспортной цепи и окислительного фосфорилирования. Авторы делают вывод о том, что различия в уровне экспрессии между пробандами и здоровыми матерями могут быть обусловлены компенсаторными эпигенетическими механизмами, возникающими у матерей с микроделецией *IMMP2L* [Vasilyev S.A. et al., 2021].

Другим примером эпигенетического модификатора является инактивация X-хромосомы. Известно, что инактивация X-хромосомы в норме происходит

случайным образом. В результате доля клеток с инактивированной отцовской и материнской X-хромосомой одинакова и составляет 50%. Однако у некоторых женщин может наблюдаться смещение инактивации X-хромосомы [Van den Veyver I.B., 2001]. Tolmacheva с соавторами описали случай микроделеции региона Xq24 (OMIM: 300860). Микроделеция включала пять генов - *CXorf56*, *UBE2A*, *NKRF*, *SEPT6* и *MIR766*. Пробанд имел интеллектуальные нарушения, макроцефалию, гипертелоризм глаз, низкопосаженные уши, макротию, мышечную гипотонию, гиперсаливацию и др. Данный вариант унаследован ребенком от здоровых матери и бабушки, у которых было выявлено смещение инактивации X-хромосомы [Tolmacheva E.N. et al., 2020]. Известно, что асимметричная инактивация X-хромосомы встречается у носительниц многих X-сцепленных форм ИР, что объясняется влиянием вариантов в генах, локализованных на хромосоме X, на жизнеспособность клеток. Продукты генов, варианты в которых связаны с синдромальными формами X-сцепленных интеллектуальных нарушений, выполняют такие функции как регуляция транскрипции, клеточная пролиферация и развитие [Plenge R.M. et al., 2002]. Tolmacheva с коллегами также описали вторую семью, в которой женщина-носительница микроделеции Xq24 имела ПНБ. В микроделецию вовлечено 8 генов - *SLC25A43*, *SLC25A5-AS1*, *SLC25A5*, *CXorf56*, *UBE2A*, *NKRF*, *SEPT6* и *MIR766*. CNV была унаследована от здоровой матери. При этом у обеих женщин наблюдалась смещенная инактивация X-хромосомы. Кроме этого, микроделеция региона Xq24 была обнаружена в трех образцах СА обследованной женщины-носительницы. Исследователи предполагают, что к эмбриолетальности может привести нарушение клеточной пролиферации, что является причиной эмбриональных потерь у женщины с микроделецией Xq24 [Tolmacheva E.N. et al., 2020].

1.4.4 Клиническая интерпретация CNV

Важным этапом в изучении и диагностике CNV является интерпретация клинической значимости варианта – патогенный, вероятно патогенный, с неопределенной клинической значимостью, вероятно доброкачественный и

доброкачественный (полиморфный). Зачастую у пациентов обнаруживаются уникальные варианты, которые не были описаны ранее в литературе, что ставит перед исследователями нетривиальную задачу по установлению его клинической значимости. Интерпретация CNV усложняется в пренатальной диагностике, поскольку информация о фенотипических особенностях исследуемого плода крайне ограничена, а нарушение психических функций и эпилепсию можно оценить только в постнатальном периоде развития.

Американской коллегией по медицинской генетике и геномике совместно с проектом «Клинический геномный ресурс» были опубликованы рекомендации по интерпретации CNV в постнатальном периоде [Riggs E.R. et al., 2020]. Предложенная авторами балльная система оценивает значимость варианта, основываясь на общем количестве генов, вовлеченных в CNV, наличии среди них дозозависимых генов, происхождении абберрации (*de novo*/унаследованное), наличии информации об обнаруженном варианте в литературных источниках и базах данных. Авторами выделен ряд особенностей для каждой из групп CNV [Riggs E.R. et al., 2020]:

1. Патогенные варианты:
 - Балл не менее 0,99;
 - Связаны с известными клиническими фенотипами, примеры которых опубликованы в многочисленных рецензируемых журналах и представлены в базах данных;
 - Влияние CNV на фенотип пациента может быть неизвестно, однако патогенная природа вариантов не должна подвергаться сомнению. Например, микроделеция гена, ассоциированного с заболеванием с аутосомно-доминантным типом наследования, будет классифицирована как патогенный вариант;
 - Известна информация относительно пенетрантности и экспрессивности аббераций, даже при их вариабельности;
 - Содержат гены, чувствительные к изменению дозы;

- В случае полигенных CNV необходимо, чтобы варианты включали не менее одного гена с известной дозочувствительностью (гаплонедостаточностью/триплочувствительностью).

2. Вероятно патогенные варианты:

- Балл в диапазоне от 0,90 до 0,98;
- Обладают значимыми доказательствами в пользу их патогенности, однако, для окончательного решения о патогенности варианта, их недостаточно;
- Делеции, включающие 5'-конец гена (плюс часть кодирующей последовательности), учитывая отсутствие альтернативных рамок считывания, либо несколько экзонов (на 3'-конце гена). Для первого и второго случая необходимо наличие в этих областях генов с известной гаплонедостаточностью;
- Как делеции, так и дупликации включают гены, для которых известна ассоциация со специфическими фенотипами по литературным данным.

3. Варианты с неопределенной клинической значимостью:

- Балл в диапазоне от -0,89 до 0,89;
- Варианты, для которых на момент исследования не хватает доказательств для определения клинического значения;
- Не содержат белок-кодирующих генов или функционально значимых элементов;
- Обнаруживаются в общей популяции, но имеют частоту менее 1%, что недостаточно для того, чтобы считаться полиморфизмом;
- Включают небольшое число генов, а информация об их дозочувствительности отсутствует;
- Варианты описаны в литературе/базах данных, однако, без конкретных решений по поводу их клинической значимости;
- Внутригенные CNV с неясным влиянием на рамку считывания.

4. Вероятно доброкачественные варианты:

- Балл в диапазоне от -0,90 до -0,98;
- Статистически значимые отличия в анализе случай-контроль отсутствуют;

- Часто обнаруживаются в общей популяции, однако распространенность составляет менее 1%.

5. Доброкачественные варианты:

- Балл -0,99 и ниже;
- В литературных источниках и базах данных отнесены к доброкачественным вариантам;
- Охарактеризована природа вариаций числа копий участков ДНК (например, CNV, затрагивающая ген амилазы слюны) [Perry G.H. et al., 2007];
- Частота вариантов в общей популяции превышает 1%.

Стоит также помнить о том, что реципрокные варианты (полярные изменения числа копий в одном и том же регионе) могут относиться к разным группам по клинической значимости. Например, некоторые дупликации являются доброкачественными, однако делеции могут быть клинически значимыми.

При анализе данных необходимо также учитывать локализацию хромосомной аберрации (например, в случае наличия двухсегментного дисбаланса у пациента) и направление изменения копийности CNV. Обнаружение у пациента терминальной делеции и терминальной дупликации указывает на наличие несбалансированной транслокации [Шилова Н.В., Миньженкова М.Е., 2018].

Интерпретация клинической значимости CNV имеет ряд ограничений [Лебедев И.Н. и др., 2023]. Среди них можно выделить отсутствие обновления базы данных DGV (с 2019 года), которая включает информацию о более 7 миллионах CNV, встречающихся среди здоровых индивидов. База данных DECIPHER содержит информацию о более 48 тысячах CNV, однако зачастую данные варианты не классифицированы и фенотип у пациентов не описан. Использование микрочипов с различной разрешающей способностью в опубликованных исследованиях приводят к трудностям при сравнении вариантов вследствие различий в точках разрывов. При интерпретации клинической значимости также очевидна необходимость ведения внутрилабораторной базы данных, что способствует выявлению CNV, являющихся полиморфизмом в исследуемой популяции или артефактом метода исследования.

Известно, что нарушение структуры ТАДов посредством хромосомного дисбаланса также может влиять на реализацию генетической информации [Spielmann M. et al., 2018]. В настоящее время разрабатываются подходы для применения этих данных в интерпретации вариантов. В исследовании Spector с соавторами, выполненном с использованием ресурса ClinTAD, приводится ряд примеров реанализа CNV с неопределенной клинической значимостью, в результате которого авторы достигают увеличения либо уменьшения вероятности патогенного эффекта CNV [Spector J.D. et al., 2019]. Например, случай пациента с коарктацией аорты, двустворчатым аортальным клапаном и открытым овальным окном. У данного пациента был обнаружен вариант с неопределенной клинической значимостью – $\text{arr}[\text{hg19}] \ 15\text{q}26.2(95407056_96696462)\times 1$. Вариант не включает белок-кодирующих генов, аналогичные CNV не были обнаружены в базах данных ClinGen, DECIPHER и DGV. Определено, что микроделеция нарушает границу ТАДа. При этом, прилегающие к CNV ТАДы включали гены *MCTP2* (OMIM: 616297) и *NR2F2* (OMIM: 107773). Первый ген ассоциирован с рядом нарушений сердечно-сосудистой системы по данным базы Human Phenotype Ontology (HP) – аномальная морфология дуги аорты (HP:0012303), двустворчатый аортальный клапан (HP:0001647), открытый артериальный проток (HP:0001643), коарктация аорты (HP:0001680). Второй ген является важным транскрипционным фактором для развития сердца и также был связан с коарктацией аорты. В конечном итоге, авторы выдвигают предположение о том, что нарушение границы ТАДов в этом регионе может привести к аномальной экспрессии генов *MCTP2* и/или *NR2F2*. Имеющиеся данные повышают вероятность возможного патогенного эффекта выявленной у пациента CNV [Spector J.D. et al., 2019].

Примером снижения вероятности патогенного эффекта является вариант с неопределенной клинической значимостью – $\text{arr}[\text{hg19}] \ 6\text{q}15(92340802_93013237)\times 1$. Данная CNV обнаружена у пациента с легочной артериальной гипертензией. Микроделеция региона 6q15 не содержит белок-кодирующих генов и описание подобных CNV отсутствует в публично доступных базах данных. Вероятность патогенного эффекта была снижена, поскольку данная

CNV не нарушала границ ТАДов, и ТАДы не содержали гены, ассоциированные с аномалиями развития органов и систем [Spector J.D. et al., 2019].

Известно, что CNV, захватывающие белок-некодирующие гены, также могут оказывать функциональное влияние на геном человека, что стоит учитывать при интерпретации клинической значимости варианта [Kumaran M. et al., 2018]. Примером анализа варианта с учетом белок-некодирующих генов является работа Servetti с соавторами, где исследователи описали случай интерпретации микроделеции региона 5q14.3 у пациента с тяжелой задержкой психомоторного развития, гипотонией и эпилепсией. Вариант включает шесть генов. Два гена (*MEF2C-AS1* и *ADGRV1*) экспрессируются в нервной системе. *MEF2C-AS1* кодирует антисмысловую РНК. Продукт гена *ADGRV1* (OMIM: 602851) относится к суперсемейству рецепторов, ассоциированных с G-белком. Варианты данного гена связаны с семейными фебрильными судорогами и синдромом Ашера, тип 2С (OMIM: 602851). Авторы предполагают, что продукт *MEF2C-AS1* повышает стабильность мРНК гена *MEF2C* (OMIM: 600662), способствуя экспрессии данного гена и нейрогенезу. Вследствие микроделеции 5q14.3 будет наблюдаться сниженный уровень экспрессии *MEF2C* и, следовательно, нарушение дифференцировки нейронов. В результате, носительство данной CNV может приводить к наблюдаемому фенотипу пациента [Servetti M. et al., 2021].

Таким образом, рекомендации Riggs с соавторами выступают в качестве основы для клинической интерпретации CNV. Те варианты, которые будут классифицированы как варианты с неопределенной клинической значимостью, рекомендуется проанализировать более детально, используя общедоступные базы данных, для определения генов-кандидатов и возможных молекулярных эффектов CNV.

1.5 Спектр CNV у пациентов с расстройствами нейropsychического развития

Развитие молекулярно-генетических методов исследования привело к стремительному росту публикаций, посвященных CNV у пациентов с РНПР. На

момент 2023 года в базе данных NCBI PubMed по запросу «neurodevelopmental disorders, copy number variation» обнаруживалось свыше 1600 публикаций. Однако систематизация имеющихся данных затруднена вследствие некоторых причин. Например, отсутствие в работах полных исходных данных о спектре CNV и включение в анализ вариантов, размером более 10 Мб. Это приводит к необходимости поиска информации о спектре CNV у пациентов с РНПР, используя строгие критерии включения. Далее нами был осуществлен поиск соответствующих работ с помощью базы NCBI PubMed. В рамках этого были использованы следующие критерии включения:

- Исследование проводилось на выборках пациентов с РНПР (ИР, РАС, СДВГ, задержка речи, нарушение обучаемости и моторного развития);
- Работа содержит полный список CNV, размером менее 10 Мб, с интерпретацией клинической значимости вариантов и указанной сборкой генома;
- Публикация на русском или английском языках;
- Статья находится в свободном доступе.

В результате в мировой литературе было обнаружено только семь статей, которые включают все необходимые данные для систематизации и анализа имеющейся информации (Рисунок 2).

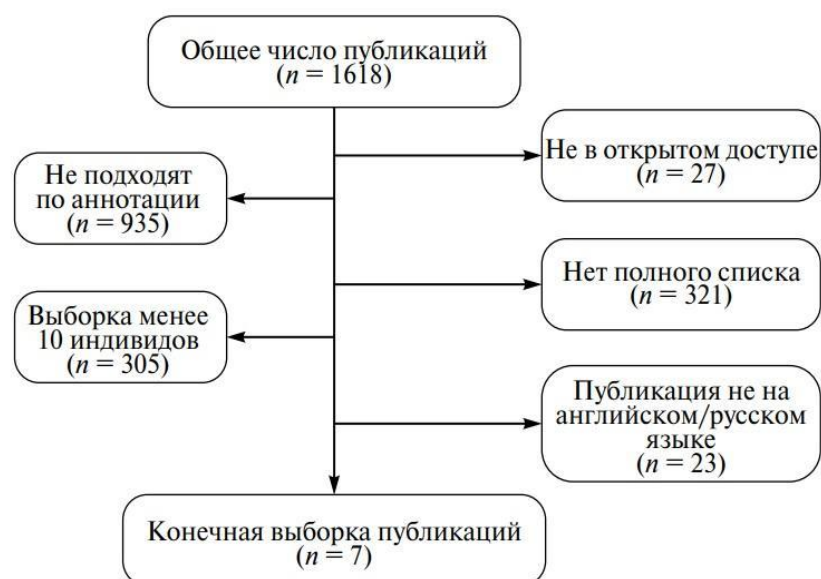


Рисунок 2 – Алгоритм поиска публикаций (NCBI PubMed)

По данным опубликованных исследований CNV выявляются у 7,1%-40% пациентов с РНПР (Таблица 2). Средняя частота CNV в выборке пациентов с РНПР, включающей всех обследованных индивидов из представленных семи статей, составляет 12% (395/3375) [Fedotov D.A. et al., 2024].

Таблица 2 – Публикации, включенные в анализ спектра CNV у пациентов с расстройствами нейropsychического развития [Fedotov D.A. et al., 2024]

Авторы	Общее количество пациентов	Количество пациентов с CNV	Метод исследования
Fry A.E. et al., 2016	80	18 (22,5%)	SNP-array, aCGH (8×60 K)
Firouzabadi S.G. et al., 2017	15	6 (40%)	aCGH (8×60 K)
Lopes F. et al., 2019	325	95 (29,2%)	aCGH
Lindstrand A. et al., 2019	68	13 (19,1%)	aCGH (4×180 K)
Zarrei M. et al., 2019	2691	192 (7,1%)	aCGH
Baccarin M. et al., 2020	98	38 (38,8%)	aCGH (4×180 K)
Chehbani F. et al., 2022	98	33 (33,7%)	aCGH (4×180 K)

В семи вышеуказанных исследованиях суммарно было выявлено 454 CNV. Количество микроудупликаций незначительно превышает число микроделеций (250 и 204, соответственно). Патогенные и вероятно патогенные CNV, а также варианты с неопределенной клинической значимостью были выявлены у 3%, 2% и 7% пациентов, соответственно. Варианты, ассоциированные с известными синдромами микроделеций или микроудупликаций, были обнаружены у 82

индивидов, что составляет 12% от общего числа пациентов с CNV. Частые микроделеционные и микродупликационные синдромы отражены в Таблице 3.

Таблица 3 – Частые CNV, ассоциированные с микроделеционными и микродупликационными синдромами, у пациентов с расстройствами нейropsychического развития

Синдром	OMIM	Число случаев
Синдром микродупликации 1q21.1	612475	7/395
Синдром микроделеции 2p16.3	614332	9/395
Синдром микроделеции 15q13.3	612001	7/395
Синдром микроделеции 16p11.2	611913	9/395
Синдром микродупликации 22q11.2	608363	7/395

Патогенные и вероятно патогенные CNV встречались в 99/454 (22%) и 63/454 (14%) случаях, соответственно. Варианты с неопределенной клинической значимостью обнаруживались значительно чаще - 292/454 (64%), что, вероятно, связано с недостатком знаний относительно распространенности данных aberrаций среди пациентов с РНПР и о влиянии генов, вовлеченных в структурный хромосомный вариант, на развитие или функционирование нервной системы, что, в результате, не позволяет отнести CNV в другую категорию по клинической значимости (патогенные, вероятно патогенные, вероятно доброкачественные или доброкачественные варианты). Среди патогенных CNV чаще встречаются микроделеции – 62/99 (63%), а среди вероятно патогенных CNV и вариантов с неопределенной клинической значимостью микродупликации – 33/63 (52%) и 180/292 (62%), соответственно. Считается, что микроделеции являются более патогенными, чем микродупликации. Однако преобладание среди патогенных CNV микроделений, может быть связано с недооценкой негативного эффекта микродупликаций, а также с трудностями их клинической интерпретации.

CNV встречаются на всех хромосомах. Наиболее обогащенными по количеству вариантов являются хромосомы 2, 15, 16 и X – 40/454 (8,8%), 40/454

(8,8%), 49/454 (10,7%), 44/454 (9,7%), соответственно (Рисунок 3). Хромосомы 2 и 15 содержат наибольшее количество микроделеций (27 и 26, соответственно). Микроудупликации преимущественно обнаружены на хромосомах 16 и X (32 и 31, соответственно).

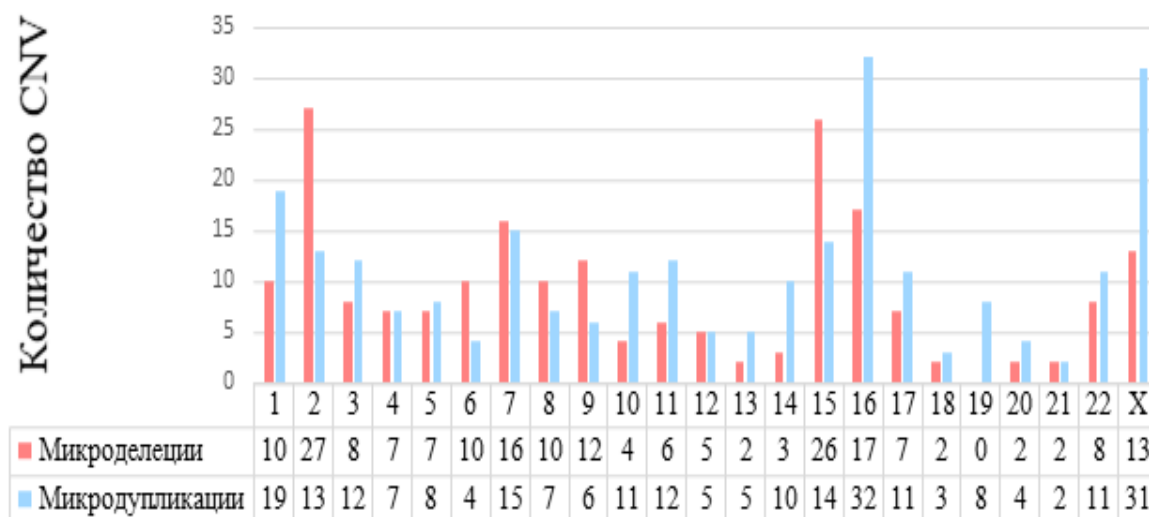


Рисунок 3 – Распределение CNV на хромосомах у пациентов с расстройствами нейropsychического развития

Происхождение CNV было определено у 202 из 395 (51%) обследованных индивидов. Патогенные микроделеции преимущественно произошли *de novo* – 26/33 (79%), а микроудупликации были унаследованными – 9/17 (53%). Вероятно патогенные CNV и варианты с неопределенной клинической значимостью чаще имели унаследованный характер. Доля унаследованных вариантов среди вероятно патогенных микроделеций и микроудупликаций составляет 17/25 (68%) и 16/22 (73%), соответственно. В группе вариантов с неопределенной клинической значимостью унаследованные микроделеции и микроудупликации обнаружены в 38/48 (79%) и 78/92 (85%) случаях, соответственно.

Распределение CNV по размеру неравномерное. Основная доля вариантов была размером до 400 кб и 1-3 Мб. Варианты размером 900 кб-1Мб и 8-10 Мб встречались крайне редко (Рисунок 4). Наблюдается неравномерное распределение CNV и в отношении направления изменения копийности. Так, микроудупликации

преимущественно представлены вариантами размером до 100 кб и 1-2 Мб. Размер большинства микроделеций не превышает 100 кб.

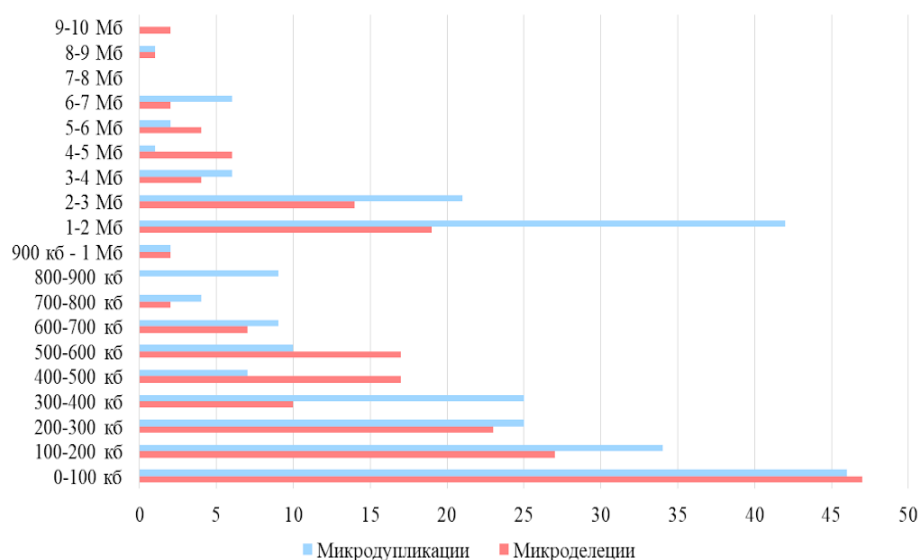


Рисунок 4 – Распределение CNV по размеру у пациентов с расстройствами нейropsychического развития

Генный состав патогенных, вероятно патогенных CNV и вариантов с неопределенной клинической значимостью был проанализирован с помощью ресурса Enrichr для каждой группы в отдельности. В результате было обнаружено 128 значимых категорий ($p < 0,05$) онтологии «Фенотип млекопитающих» (Таблица 4). Как и ожидалось, группа патогенных CNV преимущественно была обогащена генами, связанными с нарушениями поведения, неврологическим фенотипом и аномалиями нервной системы. Вероятно патогенные CNV преимущественно включали гены, связанные с нарушениями гомеостаза и метаболизма, а также с патологиями нервной системы. Варианты с неопределенной клинической значимостью, как правило, включали гены, ассоциированные с нарушениями поведения и неврологическими проблемами. Каждая из групп CNV также содержала гены, связанные с нарушениями других систем органов – иммунной, опорно-двигательной, мочевыделительной и др. Примечательно, что каждая из групп CNV (патогенные, вероятно патогенные и с неопределенной

клинической значимостью) включала гены, которые попали в значимые категории, ассоциированные с эмбриональным развитием – расширенный аллантоис (MP: 0004557), аномалия морфологии экзоцелома (MP: 0011200), нарушения развития эндодермы (MP: 0001685).

Таблица 4 – Результаты анализа обогащения для генов, вовлеченных в патогенетически значимые CNV

Категория онтологии «Фенотип млекопитающих»	CNV		
	патогенные	вероятно патогенные	неопределенной клинической значимости
Аномалии гомеостаза/метаболизма	1	6	5
Аномалии кроветворения	1	1	–
Аномалии иммунной системы	1	2	3
Аномалии нервной системы	9	5	6
Аномалии опорно-двигательной системы	4	3	5
Аномалии пищеварительной системы	1	–	2
Аномалии поведения и неврологические нарушения	18	2	19
Аномалии мочевыделительной системы	1	2	1
Аномалии эмбриона	2	2	1
Аномалии глаз	–	2	1
Аномалии жировой ткани	–	2	–
Аномалии кожи	–	1	1
Аномалии клеток крови	–	1	–
Аномалии репродуктивной системы	–	2	1
Аномалии сердечно-сосудистой системы	–	3	3
Опухоли	–	1	–
Аномалии эндокринных/экзокринных желез	–	–	1
Аномалии черепа/лица	–	–	2
Аномалии роста	–	–	1
Аномалии ушей	–	–	2
Аномалии зубов	–	–	1
Всего	38	35	55

Примечание. В ячейках таблицы приведено суммарное количество категорий. «–» – отсутствие категорий с данными аномалиями.

1.6 Спектр CNV у внутриутробно погибших зародышей человека

Роль CNV в этиологии эмбриональной гибели находится под пристальным вниманием исследователей уже многие годы. К настоящему времени опубликовано множество работ, посвященных данной тематике [Rajcan-Separovic E. et al., 2010; Liu S. et al., 2015; 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].

Ранее был проведен мета-анализ данных литературы о спектре CNV среди СА с эуплоидным кариотипом [Drozdov G.V. et al., 2025]. В работу были включены только те публикации, которые имели полный список обнаруженных aberrаций с координатами, размером до 10 Мб. В случае, если в статье отсутствовал полный список CNV или все представленные варианты превышали указанный размер, то работа исключалась из анализа. Всего в исследование было включено 19 ранее опубликованных работ. CNV были обнаружены у 550 (14%) СА из 3953. Общее количество CNV составило 1425 [Drozdov G.V. et al., 2025]. Патогенные и вероятно патогенные варианты встречались с частотой 3,1% и 2,5%, соответственно. Среди общего спектра вариантов, большую часть составили aberrации с неопределенной клинической значимостью – 860 из 1425 (64%). Стоит отметить, что в исследованиях о спектре CNV у СА для интерпретации клинической значимости вариантов авторы используют рекомендации ACMG, которые были разработаны для анализа структурных хромосомных aberrаций, обнаруженных в постнатальном периоде развития [Riggs E.R. et al., 2020; Brandt T. et al., 2020].

Aberrации обнаруживались на всех хромосомах. CNV чаще располагались на хромосомах 6, 8 и X. При этом микроделеции чаще были локализованы на хромосомах 1, 2, 6, 7, 8, 16 и X, а большая часть микродупликаций встречалась на хромосомах 1, 4, 11, 15, 16 и X.

Среди всех aberrаций в исследовании было обнаружено значительное преобладание микродупликаций – 914 (64%) в сравнении с микроделециями – 341 (24%). Drozdov с коллегами отмечают, что остальные 170 (12%) вариантов не были охарактеризованы по направлению изменению копияности, что вносит свой вклад

в расчет соотношения микроделеций и микродупликаций. Относительно количества генов, чаще встречались варианты, включающие два гена и более – 1080/1425 (76%) CNV.

Происхождение было известно только для 102 вариантов. Примечательно, что среди них большая часть была унаследована эмбрионами от матерей – 55 CNV, 27 - от отцов, 5 CNV были обнаружены у обоих родителей, 2 варианта были отмечены как унаследованные, но без уточнения конкретного родителя. Также известно, что 13 структурных хромосомных вариантов возникли *de novo*.

Анализ генного состава аберраций с использованием ресурса Enrichr показал, что CNV были обогащены генами, ассоциированными с аномалиями плаценты (MP:0005032), эмбриогенеза (MP:0004557, MP:0003891), а также и с нарушениями нервной системы (MP:0004807, MP:0020508) [Drozdov G.V. et al., 2025].

В некоторых исследованиях принимались попытки выделить наиболее значимые CNV, которые могут приводить к нарушениям эмбриогенеза. Работа Rajcan-Separovic с соавторами включала 20 супружеских пар с идиопатическим ПНБ. В результате 13 СА от 8 пар имели 11 CNV, которые были унаследованы от одного из родителей [Rajcan-Separovic E. et al., 2010]. Авторы считают, что, несмотря на унаследованный характер происхождения вариантов, нельзя исключить их негативное влияние на развитие плаценты и/или эмбриона. Наиболее интересные гены-кандидаты, вовлеченные в CNV и потенциально ассоциированные с СА – *TIMP2* (dup17q25.3) и *CTNNA3* (del10q21.3). Оба гена являются ингибиторами инвазии трофобласта и экспрессируются с материнского аллеля в плаценте [Okamoto T. et al., 2002; Li et al., 2003; Oudejans C.B. et al., 2004; Seval Y. et al., 2004; van Dijk M. et al., 2004]. Оба варианта унаследованы от матери. Кроме этого, у мышей с ПНБ обнаружена сверхэкспрессия гена *TIMP2* [Dixon M.E. et al., 2006]. Выявлены также CNV материнского происхождения в регионе Xp22.2 (содержит ген *EGFL6*) и Xp22.31 (содержит ген *STS*). Оба гена обладают высоким уровнем экспрессии в плаценте при нормальной беременности [Rajcan-Separovic E. et al., 2010]. В другом исследовании группы Rajcan-Separovic обследовано 17 эуплоидных СА с аномалиями развития по данным эмбриоскопии. У 5 СА описаны

6 вариантов – del1q25.3 (материнское происхождение), del7p14.3 (материнское происхождение), dup10p15.3 (предположительно *de novo*), dup13q32.1 (*de novo*), dup17p13.1 (происхождение неизвестно), dupXq28 (отцовское происхождение). В качестве кандидатов, ассоциированных с эмбриональной гибелью, авторы рассматривают гены *GPR180*, *WDR37*, *WDR16*, *STX8*, *NSDH2*, *PTHB1* [Rajcan-Separovic E. et al., 2010].

Отдельные варианты повторялись у нескольких СА. Так, у 4 СА в работе Warren с соавторами была обнаружена делеция региона 1p36.11, которая включает ген *RHD* (ассоциирован с клеточным транспортом натрия). Еще 4 СА имели делецию 6p21.32, ассоциированную с рассеянным склерозом. Два СА имели микроделецию области 17q25.3 [Warren J.E. et al., 2009]. Onodera с соавторами в экспериментах на мышах показали, что CNV в локусе 17q25.3 ассоциированы с тяжелыми гемопоэтическими дефектами и перинатальной гибелью [Onodera K. et al., 2000]. Исследование Dai с соавторами включало 650 СА, у которых были обнаружены патогенные CNV – микроделеции регионов 4p16.3, 8p23.3, 16p13.3 и дубликации локусов 16p13.3 и 16q24.3, часть из которых была найдена в выборках СА и другими авторами [Liu S. et al., 2015; Zhu X. et al., 2018; Dai Y. F. et al., 2024]. Gu с соавторами выявили 10 делеций области 8p23.3 размером от 2,95 Мб до 40,5 Мб, что составило 11% от патогенных вариантов, обнаруженных среди 610 эуплоидных СА. Известно, что хромосомные варианты размером более 10 Мб не относятся к CNV, поскольку могут быть выявлены с помощью метафазного анализа [Levy B. et al., 2014]. Таким образом, в исследовании Gu с соавторами были обнаружены всего 4 CNV в регионе 8p23.3 размером от 2,9 до 6,9 м.п.о. (Таблица 5) [Gu C. et al., 2022]. Среди 10 генов, входящих в минимальный пересекающийся регион, восемь (*TDRP*, *CLN8*, *KBTBD11*, *FBXO25*, *DLGAP2*, *ARHGEF10*, *MYOM2*, *CSMD1*) связаны с аномалиями различных органов и систем (нервной, сердечно-сосудистой системы др.), что было показано на мышах с нокаутом данных генов. По данным DECIPHER и ISCA пациенты с делециями региона 8p23.3 имеют такие клинические признаки как задержка психомоторного развития, задержка роста, а также ВПР.

Таблица 5 – Патогенные делеции региона 8p23.3

Результат aCGH	Размер (м.п.о.)	Общие гены
arr[hg19] 8p23.3p23.2(158048_3107354) × 1	2.9	<i>ZNF596, TDRP, CLN8, KBTBD11, FBXO25, ERICH1, DLGAP2, ARHGEF10, MYOM2, CSMD1</i>
arr[hg19] 8p23.3p23.2(158048_4998185) × 1	4.8	
arr[hg19] 8p23.3p23.1(158048_7044046) × 1	6.9	
arr[hg19] 8p23.3p23.1(158048_7044046) × 1	6.9	

Примечание: м.п.о. – миллион пар оснований

Авторы предполагают, что данный вариант может приводить к СА и отмечают необходимость дополнительных исследований влияния делеции региона 8p23.3 на течение беременности [Gu C. et al., 2022].

Sheng с коллегами исследовали материал от 1556 СА I триместра беременности. Найдены две дупликации на хромосоме 16, которые, вероятно, могут быть ассоциированы с ПНБ – 16q24.3 (1,65 Мб) и 16p13.3 (7,9 Мб) [Sheng Y.R. et al., 2021]. Первый вариант обнаружен в 19 из 173 случаев ПНБ (11%), а второй в 18 из 173 (10%). Оба варианта не были идентифицированы в группе со спорадическим НБ. При анализе обогащения, в который были включены гены из регионов 16q24.3 и 16p13.3, получены категории, связанные со сборкой гемоглобина, транспортом кислорода и окислительно-восстановительными реакциями, мейозом, сигнальным путем mTOR, инфламмасомой NLRP3 и с сигнальным путем TGF-β [Sheng Y.R. et al., 2021]. Ранее было показано, что окисидативный стресс ассоциирован с фрагментацией ДНК и приводит к нарушению эмбрионального развития [Homa S.T. et al., 2019]. В качестве нового маркера ПНБ рассматривается повышенный оксидативный стресс в сперме [Jayasena C.N. et al., 2019]. Показано, что сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR

задействован в дифференцировке Т-регуляторных клеток и Т-хелперов 17, баланс которых играет важную роль в системе мать-плод [Muayalo K.P. et al., 2018; Qian J. et al., 2018; Rostamzadeh D. et al., 2019]. В эндометрии женщин с ПНБ наблюдается аномальная активация инфламмасомы NLRP3 [D'Ippolito S. et al., 2016]. Инфламмасомы представляют собой внутриклеточные белковые комплексы, которые запускают воспалительные процессы, связанные с бактериальными, вирусными, грибковыми инфекциями, а также в ответ на клеточный стресс и повреждение тканей [Cassel S.L. et al., 2009; Strowig T. et al., 2012; Fusco R. et al., 2020; Iwaniuk A., Jablonska E., 2023]. В настоящее время рассматривается участие инфламмасомы NLRP3 в качестве причины эмбриональной гибели. Omeljaniuk с коллегами показали повышение уровня NLRP3 и IL-18 в сыворотке крови женщин с невынашиванием беременности, в сравнении с контрольной группой [Omeljaniuk W.J. et al., 2024]. Сигнальный путь TGF- β , участвующий в дифференцировке Т-регуляторных клеток и ангиогенезе, обеспечивает нормальное течение беременности [Saifi B. et al., 2014; Saifi B. et al., 2016; Roomandeh N. et al., 2018].

Wang с соавторами исследовали материал от 5003 СА I триместра беременности. Были обнаружены 16 вариантов (9 патогенных aberrаций и 7 с неопределенной клинической значимостью), которые встречались у двух и более СА. Наиболее частая CNV - микроделеция 22q11.21 (синдром Ди Джорджи, OMIM: 188400), обнаруженная у 6 СА. Авторы предположили, что данная микроделеция может приводить к эмбриональной гибели, ассоциированной с ВПС [Wang Y. et al., 2020]. Микроделеция 2q37.3 (OMIM: 600430), проявляющаяся различными аномалиями – задержка развития, интеллектуальные расстройства, нарушения сна и др., встречалась у 3 СА. Также, в трех случаях была обнаружена микроделеция 9p24.3p24.2. Один из генов, располагающийся в данном регионе - *SMARCA2* (OMIM: 600014), гетерозиготные однонуклеотидные варианты в котором, по данным базы OMIM, ассоциированы с синдромом Николаидеса-Барайцера (OMIM: 601358) и синдромом нарушения интеллектуального развития с блефарофимозом (OMIM: 619293). Оба заболевания имеют аутосомно-доминантный тип наследования. Также в исследовании Wang с коллегами, показано, что

микроделеции 2q37.3, 9p24.3p24.2, 22q11.21 значительно чаще встречались среди СА, чем у здоровых индивидов азиатской популяции ($p = 0,015$, $p = 0,015$, $p < 0.0001$, соответственно). В 4 случаях были обнаружены aberrации в регионе 7q11.23 – две микроделеции (OMIM: 194050) и две микродупликации (OMIM: 609757). По данным OMIM микроделеции и микродупликации данного региона проявляются аномалиями различных систем органов, в том числе и РНПР - ИР, СДВГ, РАС и другие.

В исследовании Shao с коллегами обследовали 577 СА. Хромосомные аномалии были обнаружены у 357 из 577 (62%) [Shao Y. et al., 2024]. Всего в данной работе было найдено 470 aberrаций, среди которых числовые и структурные хромосомные нарушения встречались в 251 (53%) и 219 (47%) случаях. Идентифицированы 56 патогенных и 6 вероятно патогенных CNV, а также 146 вариантов с неопределенной клинической значимостью. Остальная часть aberrаций ($n = 11$) была интерпретирована как вероятно доброкачественные или доброкачественные варианты. Стоит отметить, что в данном исследовании под «CNV» авторы понимали, в том числе, аномалии, размером свыше 10 Мб. Большая часть патогенных вариантов 36 из 56 (64%) превышали данный размер. Авторы провели анализ обогащения для всех обнаруженных патогенных aberrаций при помощи ресурса Enrichr. В результате были обнаружены категории, ассоциированные с эмбриональным развитием, ангиогенезом, образованием синапсов и модификацией гистонов. Авторы предполагают, что гены *TP53*, *CTNNB1*, *UBE3A*, *EP300*, *SOX2*, *ATM* могут быть значимыми для эмбрионального развития. Помимо вышеуказанных генов при анализе данных в фокус внимание авторов попал ген *MECP2*. Варианты в данном гене ассоциированы с синдромом Ретта (OMIM: 312750), который проявляется ИР, судорогами, атаксией и апраксией походки, атрофией коры головного мозга, нарушениями поведения и сна, микроцефалией и другими аномалиями развития. Распространенность заболевания составляет 1:10 000 - 1:15 000 девочек [Hagberg B. et al., 1987]. Первоначально не было описано ни одного случая синдрома Ретта среди индивидов мужского пола, что в результате привело к предположению о том, что данное расстройство имеет

X-сцепленный доминантный тип наследования и проявляется летальностью у мужчин. На сегодняшний день накоплены данные и о встречаемости синдрома Ретта среди пациентов мужского пола, большая часть которых умирает в возрасте до двух лет. Выживание мужчин в некоторых случаях объясняется соматическим мозаицизмом или наличием дополнительной копии хромосомы X [Psoni S. et al., 2010].

В работе Shao с соавторами, наибольшую частоту среди патогенных хромосомных вариантов у СА имели делеции и дупликации региона 7q36.3 (5 из 56). Данные варианты авторы обозначают как CNV, что не является верным, поскольку размер 4 из 5 вариантов находится в диапазоне от 12 до 64 Мб. Таким образом, в исследовании обнаружена только одна CNV в данном локусе - микроделеция региона 7q36.3, размером 4,0 Мб [Shao Y. et al., 2024]. Ранее сообщалось, что как микроделеции, так и микродупликации локуса 7q36.3, ассоциированы с синдромом полисиндактилии (OMIM: 174500), а также связаны с задержкой развития и ВПР [Zlotina A. et al., 2020]. В данном регионе находится ген *SHH*, дисфункция которого, вероятно, может быть ассоциирована с СА [Pan Y. et al., 2021].

Наиболее частые CNV (встречались более чем в 13 случаях) выявлены в регионах 8q24.3 (14 случаев), 16p13.3 (18 случаев), Xp22.31 (22 случая), Xp22.33 (24 случая) и Xq28 (26 случаев) [Drozdov G.V. et al., 2025]. Обнаруженные aberrации пересекаются с координатами известных заболеваний, в том числе ассоциированных с поражениями нервной системы (Таблица 6).

Мета-анализ Peng с соавторами был сосредоточен на анализе работ, каждая из которых содержала более 1000 эмбрионов ($n = 7$). Верхний предел размера проанализированных CNV составлял 10 Мб. Общая выборка включала 35 310 эмбрионов. Учитывая разницу частот различных CNV среди новорожденных и эмбрионов, авторы оценили риск СА, обусловленного CNV. Все варианты были разделены по уровню риска на четыре группы: высокий риск ($>75\%$), промежуточный риск (51-75%), низкий риск (26-50%) и базовый риск ($<25\%$).

Таблица 6 – Наиболее частые CNV у спонтанных аборт

[по Drozdov G.V. et al., 2025]

Регион	8q24.3	16p13.3	Xp22.33	Xp22.31	Xq28
Заболевание	синдром делеции 8q24.3, (OMIM: 615583)	синдром ATR-16, (OMIM: 141750); синдром Рубенштейна-Тейби, (OMIM: 180849)	дисхондростеоз Лери-Вейля, (OMIM: 127300)	дефицит стероидной сульфатазы, (OMIM: 308100)	синдром дупликации Xq28, (OMIM: 300815)
Количество dup	1	17	5	18	3
Количество del	1	1	5	4	9
Количество Dup/Del	12	0	14	0	14
Общее число CNV	14	18	24	22	26
Число CNV, пересекающихся с регионом, связанным с заболеванием	13	18	18	17	15

Риск СА при наличии у эмбриона соответствующей CNV находился в диапазоне от 21% (синдром Вильямса-Бойрена, OMIM: 194050) до 50% (дистальная микродупликация региона 22q11.2) [Peng G. et al., 2023] (Рисунок 5).

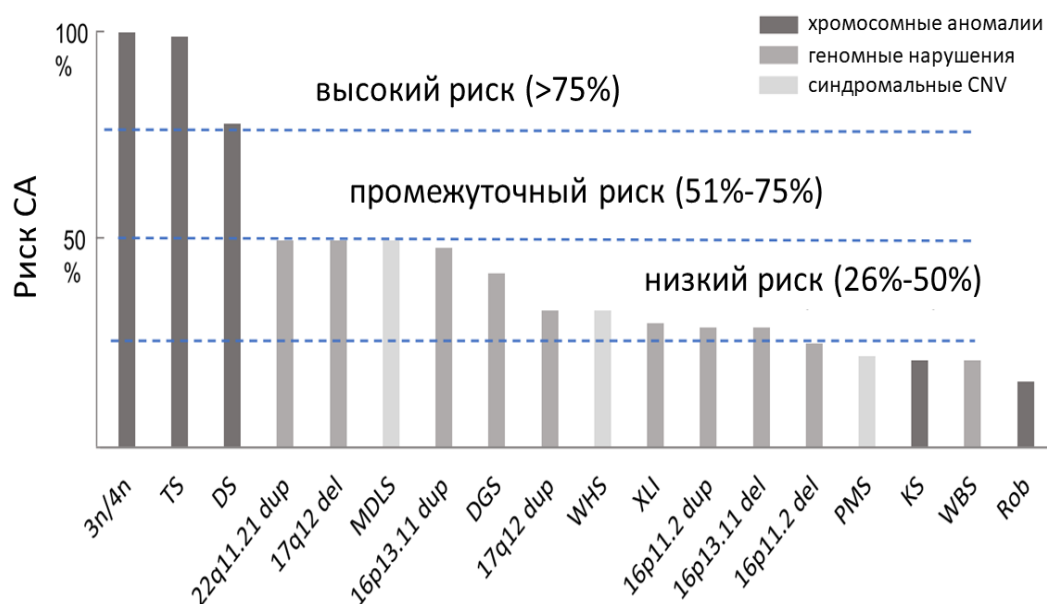


Рисунок 5 – Риск спонтанных аборт при хромосомных аномалиях, геномных нарушениях и синдромальных CNV [по Peng G. et al., 2023]

Примечание: 3n/4n - триплоид/тетраплоид; DS - синдром Дауна; del - делеция; dup - дупликация; KS - синдром Клайнфельтера; MDLS, синдром лиссэнцефалии Миллера-Дикера; PMS, синдром Фелан-МакДермид; Rob - робертсоновская транслокация; TS - синдром Тернера; WBS - синдром Вильямса-Бойрена; WHS - синдром Вольфа-Хиршгорна; XLI - X-сцепленный ихтиоз.

Maisenbacher с соавторами провели анализ 22 451 СА, среди которых, у 15 (0,07%) обнаружена микроделеция 22q11.2 (синдром Ди Джорджи, OMIM: 188400), ассоциированная с синдромом, проявляющимся врожденными пороками сердца, гипокальциемическим гипопаратиреозом, Т-клеточным иммунодефицитом, аномалиями неба и интеллектуальными нарушениями [Maisenbacher M.K. et al., 2017]. При этом 11 из 15 вариантов, выявленных в данном исследовании, были обнаружены у СА, не имеющих дополнительных хромосомных аномалий (Таблица 7). У 8 СА обнаружены CNV на материнской хромосоме. Размер aberrаций находился в диапазоне от 0,71 до 3,5 м.п.о.

Таблица 7 – Микроделеции региона 22q11.2 [по Maisenbacher M.K. et al., 2017]

№ случая	Результат aCGH	Размер (м.п.о.)
1	arr[hg38] 22q11.2(18117233_21815711)×1	3,5
2	arr[hg38] 22q11.2(18077234_21565711)×1	3,3
3	arr[hg38] 22q11.2(18772487_21255711)×1	2,8
4	arr[hg38] 22q11.2(18912487_21105711)×1	2,5
5	arr[hg38] 22q11.2(18912487_21015711)×1	2,4
6	arr[hg38] 22q11.2(20385710_21105711)×1	0,72
7	arr[hg38] 22q11.2(20385710_21105711)×1	0,72
8	arr[hg38] 22q11.2(20385710_21095711)×1	0,71
9	arr[hg38] 22q11.2(18077234_21445711)×1	3,2
10	arr[hg38] 22q11.2(18147233_21565711)×1	3,2
11	arr[hg38] 22q11.2(18027234_20605713)×1	2,4

Примечание: м.п.о. – миллион пар оснований

Минимальный пересекающийся регион между 15 микроделециями региона 22q11.2 включает только один ген – *SCARF2* (OMIM: 613619) [Maisenbacher M.K. et al., 2017]. Данный ген ассоциирован с синдромом Ван ден Энде-Гупта (OMIM: 600920) – аутосомно-рецессивным заболеванием, клинические признаки которого включают арахнодактилию, треугольное лицо, гипоплазию скуловой кости и другие лицевые дисморфии, а также скелетные аномалии и увеличение мозжечка; при этом интеллект у индивидов сохранен [Patel N. et al., 2014]. Микроделеция 22q11.2 чаще встречалась среди СА (1/1497), чем в популяции живорожденных (1/4000-1/6000) [Botto L.D. et al., 2003; Oskarsdottir S. et al., 2004]. Возможно, данная микроделеция является причиной СА [Maisenbacher M.K. et al., 2017].

В другом исследовании были обнаружены CNV в регионе 22q11.2 (1 микроделеция и 2 микродупликации) у трех (кариотип 46,XX) из 80 женщин (4%), имеющих аномалии яичников (сниженный овариальный резерв или

преждевременная недостаточность яичников). Среди них у одной женщины в акушерско-гинекологическом анамнезе были случаи СА [Jaillard S. et al., 2018].

Huang с соавторами провели анализ спектра CNV у женщин с бесплодием. Общая выборка включала 324 женщины, среди которых у двух была выявлена микродупликация региона 22q11.2, дополнительные CNV в геноме исследуемых индивидов отсутствовали [Huang W. et al., 2019].

Kikas с коллегами исследовали спектр CNV у мужчин с бесплодием. Общая выборка включала 215 индивидов с идиопатической сперматогенной недостаточностью (общее количество сперматозоидов в эякуляте менее 39×10^6), которая определялась в соответствии со стандартами Всемирной Организации Здравоохранения, и 62 фертильных мужчин с нормозооспермией [Kikas T. et al., 2023]. Исследователи выявили шесть индивидов с микроделецией 1q21.1 (OMIM: 612474) и микродупликациями (3p26.3, 7p22.3-p22.2, 10q11.22), которые встречаются у пациентов с РНПР [Te Weehi L. et al., 2014; Cox D.M., Butler M.G., 2015; Borlot F. et al., 2017; Fortin O. et al., 2020].

Наличие CNV, ассоциированных с РНПР, у мужчин с бесплодием, вероятно, указывает на возможное влияние данных вариантов на здоровье репродуктивной системы. Известно, что протеом головного мозга и семенников включает большое количество общих белков – 13 442 [Matos V. et al., 2021]. Вероятно, существуют общие пути для развития головного мозга и семенников.

Таким образом, CNV обеспечивают генетическое разнообразие в популяции человека, однако в ряде случаев могут выступать в роли причины заболевания. Развитие технологий молекулярно-генетического анализа привело к стремительному росту количества исследований, посвященных поиску структурных хромосомных aberrаций. Известно, что CNV могут выступать причиной РНПР [Zarrei M. et al., 2019]. Многочисленные работы демонстрируют широкое распространение микроделетий и микродупликаций среди СА, а также плодов с ВПР [Hilger A.C. et al., 2020; Finley J. et al., 2022]. Однако на сегодняшний момент времени не описано ни одной эмбриолетальной CNV. При этом в выборках пациентов с РНПР, СА, плодов с ВПР обнаруживаются aberrации в одних и тех же

регионах - del1q21, dup1q21, del3q29, del7q11.23, dup7q11.31, dup8p23.1, del15q11-q13, dup15q13.2-15q13.3, del16p13.11, del22q11.2 [Кашеварова А.А. и др., 2022]. Накопленные данные свидетельствуют о возможности проявления одних и тех же перестроек в пренатальном и постнатальном периодах развития, что, вероятно, определяется генетическим фоном, эпигенетическими и средовыми факторами, приводя либо к рождению ребенка с РНПР, либо к СА в семье. Однако, несмотря на огромное количество опубликованных данных, ряд вопросов остаются открытыми. Так, например, неизвестно, является ли это свойством конкретных CNV или же многие aberrации могут оказывать влияние на разные периоды онтогенеза? За счет каких механизмов реализуется вклад одних и тех же CNV на пренатальный и постнатальный периоды развития? Связан ли данный эффект с включением в микроделеции и микродупликации только генов, ассоциированных с нарушениями эмбриогенеза и патологиями нервной системы? Или же наличие CNV в геноме матери оказывает влияние на способность выносить беременность? Отличаются ли aberrации, способные приводить к рождению ребенка с РНПР и случаям СА в одних и тех же семьях по направлению изменения копийности, происхождению, размеру и генному составу от CNV, которые связаны только с РНПР и не приводят к эмбриональной гибели? Поиск ответа на данные вопросы является важной задачей, решение которой может расширить наши знания о влиянии CNV на развитие организма, а также улучшить возможности пренатальной молекулярно-генетической диагностики, медико-генетической консультации пар, имеющих ребенка с РНПР, случаи СА или их комбинацию.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Характеристика исследуемых выборок

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 продолжился 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). Таким образом, за 2009-2024 гг. была сформирована выборка 1417 пациентов детского возраста (от 0 до 18 лет) с РНПР для выполнения данного исследования.

Критерии включения: дети в возрасте до 18 лет со сбалансированным кариотипом по результатам стандартного цитогенетического анализа и с такими нарушениями, 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 РНПР, у которых обнаружены анеуплоидии, кольцевые хромосомы, несбалансированные транслокации, моногенные однонуклеотидные варианты, проявляющиеся РНПР.

Исследование было одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ (протокол № 13 от 15.11.2021 г.).

2.2 Дизайн исследования

На рисунке 6 представлен дизайн исследования.

На первом этапе каждый пробанд ($n = 1417$) был обследован с помощью матричной сравнительной геномной гибридизации (aCGH). Первые 56 пациентов, набранных в рамках программы CHERISH, были обследованы на микрочипах Human Genome CGH Microarray Kit 4×44K, остальная часть выборки ($n = 1361$) проанализирована с помощью микроматриц SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8×60K (Рисунок 6).

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) – пересекаются с известными микроделеционными/микродупликационными синдромами; содержат гены с известной дозочувствительностью, а также ассоциированные с аутосомно-доминантными заболеваниями.
- Вероятно патогенные (LP-CNV) – содержат гаплонедостаточные/триплоизбыточные гены; гены, значимые для развития и/или функционирования нервной системы; описаны в рецензируемых журналах; недостаточно доказательств в пользу их патогенности.
- CNV с неопределенной клинической значимостью (VUS-CNV) – включают гены с неизвестной дозочувствительностью; отсутствует четкая связь с клиническими проявлениями, наблюдаемыми у пациента; встречаются в общей популяции с частотой менее 1%.
- Вероятно доброкачественные (LB-CNV) – варианты не содержат белок-кодирующие гены, либо гены с известной дозочувствительностью, функцией; часто встречаются в общей популяции, однако частота не превышает 1%.

- Доброкачественные (B-CNV) – варианты, относящиеся к доброкачественным по литературным данным; частота в общей популяции превышает 1%.

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. Определение у пробанда терминальной микроделеции и микродупликации интерпретировалось как возможное наличие у обследуемого несбалансированной транслокации, что приводило к исключению данного случая из дальнейшего анализа [Шилова Н.В., Миньженкова М.Е., 2018; Лебедев И.Н. и др., 2023]. В дальнейший анализ были включены только пробанды, имеющие CNV, размер которых не превышает 10 Мб. Варианты, превышающие обозначенный размер, не отнесены к CNV вследствие возможности детекции таких aberrаций при помощи стандартного кариотипирования.

Все CNV были также охарактеризованы по направлению изменения копийности, происхождению, генному составу. Верификацию CNV и анализ их происхождения (унаследованное или *de novo*) проводили с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction, qRT-PCR) и специально подобранных праймеров для каждой aberrации.

Наличие первого этапа исследования объясняется необходимостью получения репрезентативной выборки для дальнейшего анализа и проверки гипотезы данной работы. Известно, что для более достоверной интерпретации данных микрочипов существует необходимость в создании внутрилабораторной базы (первый этап настоящей работы), что способствует выявлению CNV, являющихся полиморфизмом в исследуемой популяции или артефактом метода исследования.

Далее для проверки гипотезы диссертационной работы (второй этап исследования) 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 ($n=186$).

Третий 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.

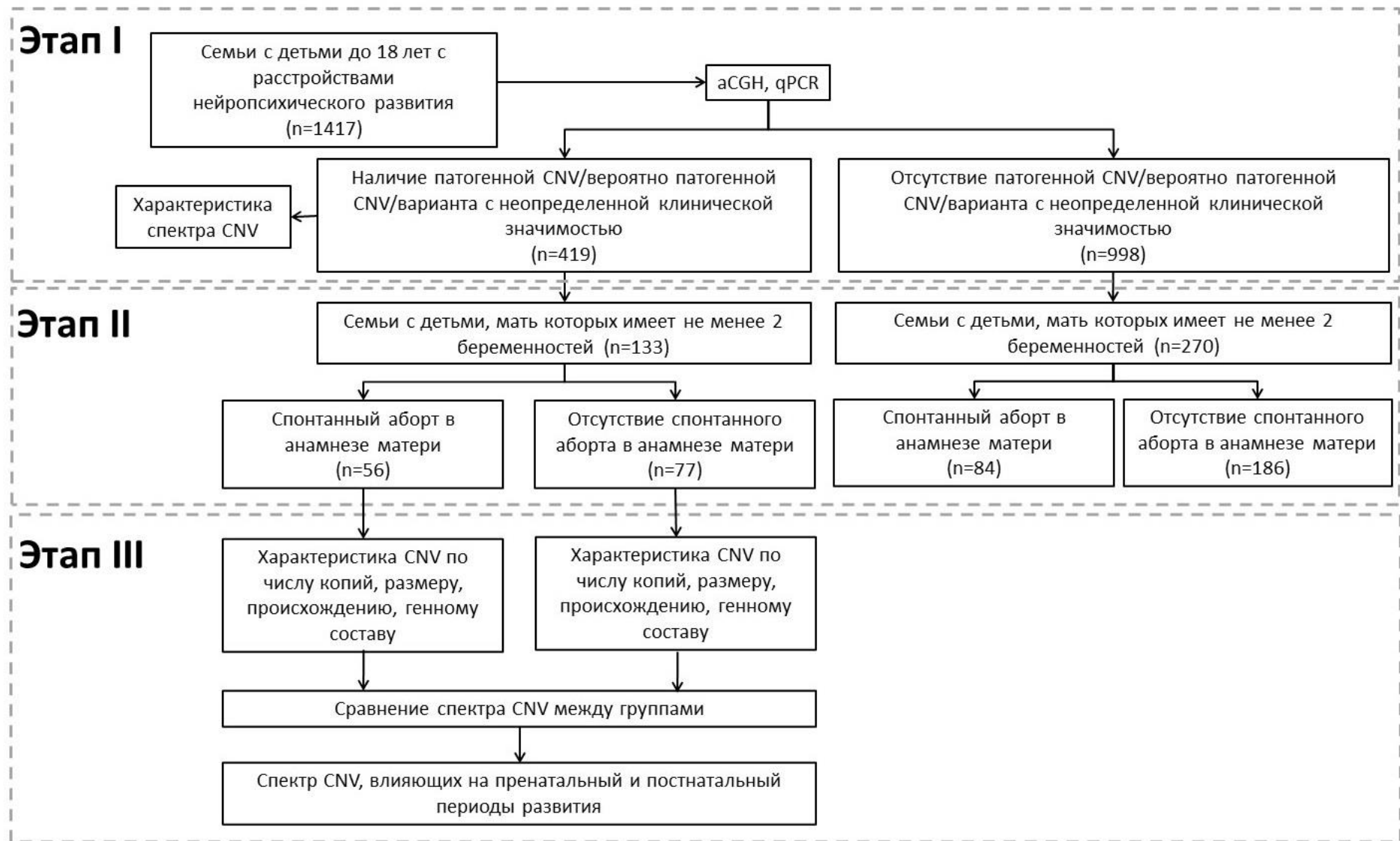


Рисунок 6 – Дизайн исследования

2.3 Молекулярно-генетические методы исследования

2.3.1 Фенол-хлороформная экстракция ДНК

Для выделения ДНК исследуемых пациентов и их родителей применялся метод фенол-хлороформной экстракции. В качестве источника ДНК использовались лимфоциты периферической крови. Забор крови осуществляли из локтевой вены в пробирку с ЭДТА. Полученные образцы венозной крови хранились в морозильной камере при температуре -20°C . Перед выделением ДНК кровь размораживали при комнатной температуре. На первом этапе выделения ДНК 0,7-0,8 мл размороженных образцов переносили в пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл. К образцам добавляли 700 мкл $1\times\text{SSC}$, затем перемешивали на центрифуге-вортексе «Microspin» (Biosan, Латвия), центрифугировали 3 минуты при 13 300 об/мин на центрифуге «Microspin-12» (Biosan, Латвия). После центрифугирования осторожно удаляли супернатант и добавляли 1,4 мл $1\times\text{SSC}$, перемешивали на центрифуге-вортекс, чтобы разбить образовавшийся осадок, после чего образцы центрифугировали 3 минуты при 13 300 об/мин и удаляли супернатант (данную процедуру повторяли два раза). Далее к образцам добавляли 270 мкл 0,2 М ацетата натрия ($\text{pH} = 7,0$) и перемешивали на центрифуге-вортекс до разбиения плотного осадка. Затем добавляли 30 мкл 10% SDS, 5 мкл протеиназы К и перемешивали. Образцы оставляли в термостате на 1 час при температуре 55°C . Второй этап выделения ДНК проводили в вытяжном шкафу. После инкубации к образцам добавляли 300 мкл смеси фенол-хлороформ в соотношении 1:1, затем образцы перемешивали в течение 10 минут на мульти-роторе Multi Bio RS-24 (Biosan, Латвия), после чего центрифугировали 8 минут при 13 300 об/мин. Верхнюю фазу аккуратно переносили в новые пробирки типа «Эппендорф», не захватывая интерфазу. Добавляли смесь хлороформ-изоамиловый спирт, приготовленную в соотношении 24:1. Затем образцы снова перемешивали (10 минут) и центрифугировали (8 минут при 13 300 об/мин.). После центрифугирования верхнюю фазу переносили в новые пробирки (не затрагивая интерфазу) и добавляли 1 мл 96% этилового спирта

(предварительно охлажденного до -20°C). Образцы перемешивали до осаждения ДНК и затем центрифугировали 1 минуту при 12 500 об/мин. После центрифугирования 96% этиловый спирт удаляли. Добавляли 1 мл 70% этанола комнатной температуры и повторяли центрифугирование в течение 1 минуты при 12 500 об/мин. Затем спирт сливали и удаляли оставшиеся капли, после чего образцы сушили в центрифужном испарителе «Concentrator plus» (Eppendorf, Германия) в течение 7-10 минут при 45°C , используя программу V-AL. К высушенным осадкам ДНК добавляли 50 мкл $1\times\text{TE}$ -буфера ($\text{pH} = 8$), после чего образцы ДНК оставляли в термостате при 37°C до полного растворения.

2.3.2 Матричная сравнительная геномная гибридизация

Для обнаружения патогенетически значимых CNV применялась матричная сравнительная геномная гибридизация на микрочипах Human Genome CGH Microarray Kit $4\times 44\text{K}$ и SurePrint G3 Human CGH Microarray, $8\times 60\text{K}$. Использовался набор реактивов «SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, $8\times 60\text{K}$ » (Agilent Technologies, США). Постановка aCGH осуществлялась в соответствии с протоколом, рекомендованным производителем (v. 7.5, Agilent Technologies, США).

Оценка качества выделенной ДНК

На первом этапе оценивали качество выделенной ДНК. Для этого использовали спектрофотометр «NanoDrop 8000» (Thermo Fisher Scientific, США). Используя соотношения 260/280 и 260/230 оценивали содержание белков и солей в образце, соответственно. Для постановки aCGH использовали ДНК, которая соответствовала следующим показателям: концентрация 100-300 нг/мкл, $A_{260}/A_{280} = 1,8-2,0$ и $A_{260}/A_{230} > 1$. Кроме этого, оценивали степень деградации образцов ДНК, используя электрофорез в 1% агарозном геле (50 мл ТАЕ, 0,5 г агарозы и 5 мкл бромистого этидия). Образцы ДНК в количестве 1 мкл наносили на гель предварительно смешивая их с 1 мкл красителя и 5 мкл деионизированной воды. Электрофорез проводили в течение 2 часов при 50 мА, после чего

использовали гель-документирующую систему «GelDoc» (Bio-Rad, США) для визуализации образцов ДНК.

Энзиматическое мечение образцов

После оценки качества ДНК готовили водный раствор каждого образца объемом 13 мкл с общим содержанием ДНК 500 нг. Аналогично готовили растворы с контрольной ДНК (Human Reference DNA, Agilent Technologies, США). Затем к каждому образцу добавляли 2,5 мкл «Random Primer», после чего все пробирки перемешивали. В течение 10 минут при 98 °С проводили денатурацию ДНК в амплификаторе «T100 Thermal Cycler» (Bio-Rad, США). Далее готовили растворы для мечения исследуемой и контрольной геномной ДНК по отдельности, используя набор реактивов, указанных в Таблице 8.

Таблица 8 – Состав смеси для мечения

Компонент	×1	×8,5 (исследуемая ДНК)	×8,5 (контрольная ДНК)
5× Буфер	5 мкл	42,5 мкл	42,5 мкл
10× dNTP	2,5 мкл	21,25 мкл	21,25 мкл
Краситель	1,5 мкл	12,75 мкл (Cy-5)	12,75 мкл (Cy-3)
Ехо (-) Klenow	0,5 мкл	4,25 мкл	4,25 мкл
Всего	9,5 мкл	80,75 мкл	80,75 мкл

Далее добавляли по 9,5 мкл смеси ко всем образцам геномной ДНК и перемешивали. Образцы инкубировали в амплификаторе «T100 Thermal Cycler» (Bio-Rad, США) – 2 ч при 37°С, 10 минут при 65°С и охлаждали при 4°С.

Очистка меченых образцов

Образцы ДНК переносили в пробирки с 1×TE-буфера (pH = 8,0), аккуратно перемешивали пипетированием (конечный объем раствора 455 мкл). Для очистки образцов ДНК использовался набор колонок Purification Collums (Agilent

Technologies, США). Колонки для очистки помещали в пробирки объемом 2 мл и добавляли 455 мкл ранее приготовленного раствора. В течение 10 минут при 14 000g образцы центрифугировали при комнатной температуре, используя Centrifuge 5430 R (Eppendorf, Германия). После центрифугирования раствор из пробирок объемом 2 мл сливали, колонки возвращали в исходное положение и добавляли по 480 мкл 1×TE-буфера (pH = 8,0) к каждому образцу. Центрифугирование проводили при аналогичных параметрах (10 мин при 14 000g и комнатной температуре). Колонки переносили в чистые пробирки объемом 2 мл и затем центрифугировали при комнатной температуре в течение 1 минуты при 1000g. Образцы сушили, используя Concentrator plus (Eppendorf, Германия), до объема 12 мкл. При меньшем количестве раствора меченой ДНК добавляли соответствующее количество 1×TE-буфера (pH = 8,0). Оценку мечения проводили на спектрофотометре «NanoDrop 8000» (Thermo Fisher Scientific, США), используя 1 мкл меченных образцов (программа Microarray Measurement, DNA-50). Оценивали концентрацию ДНК (при 260 нм), уровень мечения исследуемых образцов (Cy-5) при 650 нм и контрольных образцов (Cy-3) при 550 нм (Рисунок 7).

Расчет специфической активности проводили по формуле:

$$\text{Специфическая активность} = \frac{\text{пмоль/мкл красителя}}{\text{мкг/мкл геномной ДНК}}$$

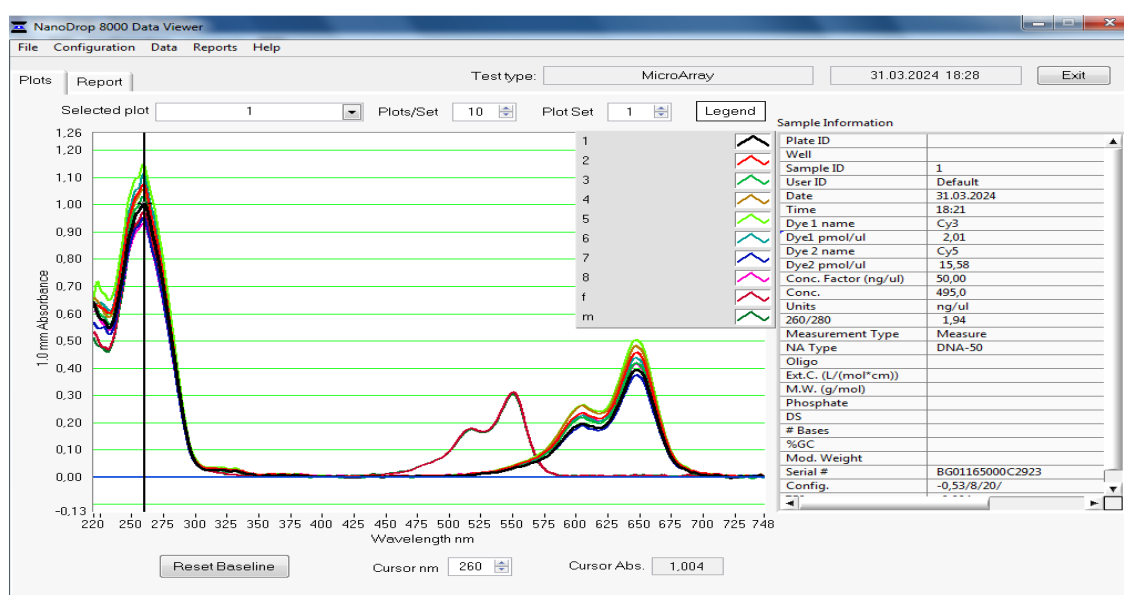


Рисунок 7 – Оценка мечения образцов ДНК

Подготовка образцов к гибридизации

Для подготовки образцов к гибридизации использовался блокирующий агент 10× aCGH Blocking Agent Lyophilized, буфер для гибридизации 2× Hi-RPM Hybridization Buffer и C₀t-1 DNA (Agilent Technologies, США). Предварительно растворяли блокирующий агент, добавляя 1350 мкл деионизованной воды, и инкубировали 1 час при комнатной температуре. Приготовленный раствор блокирующего агента перемешивали, аликвотировали и хранили при -20°C. Готовили смесь для гибридизации согласно Таблице 9.

Таблица 9 – Приготовление раствора для гибридизации

Компонент	×1	×9
C ₀ t-1 DNA	2	18
10× aCGH Blocking Agent Lyophilized	4,5	40,5
2× Hi-RPM Hybridization Buffer	22,5	202,5
Всего	29	261

Смешивали исследуемые и контрольные меченые образцы ДНК в соответствии с полом пациентов, перемешивали на мини-центрифуге и добавляли 29 мкл ранее приготовленной гибридизационной смеси. Образцы переносили в амплификатор «T100 Thermal Cycler» (Bio-Rad, США) и инкубировали – 3 мин при 98°C и 30 мин при 37°C.

Гибридизация и отмывка

Слайд с отсеками для образцов помещали в камеру «Agilent SureHyb». В каждый отсек медленно вносили 40 мкл приготовленных образцов. Далее слайд с отсеками накрывали рабочей стороной (с надписью «Agilent») ДНК-микрочипа SurePrint G3 Human CGH Microarray, 8×60K. Обеспечив плотное соприкосновение слайда с отсеками и ДНК-микрочипа, вращали камеру «Agilent SuperHyb» для распределения смеси в каждом из отсеков и оценки подвижности пузырька воздуха. Затем помещали камеру в гибридизационную печь Microarray

Hybridization Oven (Agilent Technologies, США) и инкубировали в течение 24 ч при 67°C и 20 оборотах в минуту. По истечении времени гибридизации готовили посуду для отмывки ДНК-микрочипа. Для этого посуду промывали 70% этиловым спиртом в течение 5 минут и ополаскивали деионизованной водой. В емкости добавляли отмывочные буферы - Agilent Oligo aCGH/ChIP-on Chip Wash Buffer 1 и Agilent Oligo aCGH/ChIP-on-Chip Wash Buffer 2 (Agilent Technologies, США). Для отмывки микроматрицы использовали магнитные мешалки с нагревом и без. Аккуратно разъединяли слайд с отсеками и ДНК-микрочип, последний переносили в штатив для слайдов и погружали его в первый промывочный буфер комнатной температуры, отмывая ДНК-микрочип в течение 5 минут. Затем переносили штатив с ДНК-микрочипом во второй промывочный буфер, нагретый до 37°C, и промывали микроматрицу в течение 1 минуты. Микрочип располагали стороной с надписью Agilent, обращенной в сторону магнита. Во время нахождения ДНК-микрочипа на магнитной мешалке минимизировали образование пузырьков воздуха на активной стороне чипа (со стороны надписи «Agilent»). После отмывки ДНК-микрочипа во втором промывочном буфере микроматрицу аккуратно извлекали, так, чтобы на ней не осталось ни одной капли буфера. Отмытый ДНК-микрочип перемещали в держатель для слайдов, после чего помещали его в сканер для чтения флуоресцентных сигналов с микрочипов SureScan Microarray (Agilent Technologies, США). Далее последовательно использовали программы Scan Control, Feature Extraction (v. 12.0) и Cytogenomics (v. 3.0.6.6, Agilent Technologies, США).

2.3.3 Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

ПЦР в режиме реального времени использовали для верификации и анализа происхождения (*de novo*, материнское, отцовское) обнаруженных при помощи aCGH на микрочипах «SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8×60K» патогенных, вероятно патогенных CNV и aberrаций с неопределенной клинической значимостью.

Подбор праймеров

Подбор праймеров для проведения реакции осуществлялся с использованием интернет-ресурсов. С помощью базы данных Ensembl получали нуклеотидные последовательности экзонов/интронов целевых генов и межгенных пространств в формате FASTA. Для подбора праймеров преимущественно использовались гены/межгенные пространства, близко расположенные относительно координат начала и конца CNV.

Подбор праймеров проводили, основываясь на следующих критериях:

- длина праймера – 20-24 п.н.;
- размер продукта – 100-150 п.н.;
- температура отжига (T_m) – 58-60 °C;
- содержание C/G – 30-80 %;
- четыре и более 3'-концевых нуклеотида не должны быть комплементарны самому праймеру, праймеру в паре, иным синтетическим олигонуклеотидам, добавляемым в реакцию;
- в составе праймера не должно быть четырех и более последовательно расположенных одинаковых нуклеотидов.

Используя программу Primer3 проектировали праймеры для реакции, после чего проводили проверку качества и специфичности выбранных праймеров при помощи программы Primer-BLAST. Подобранные праймеры синтезировались ООО «Биоссет» (г. Новосибирск). Очистка праймеров проводилась с использованием электрофореза в полиакриламидном геле компанией-производителем.

Отработка условий ПЦР для пар праймеров

После того, как праймеры были синтезированы, необходимо удостовериться в их эффективности при помощи количественной ПЦР в режиме реального времени, используя в качестве матрицы контрольную ДНК (Human Reference DNA, Agilent Technologies, США). За сутки до постановки реакции контрольная ДНК разводилась до концентрации 10 нг/мкл. Перед поставкой реакции подготавливали УФ-бокс для ПЦР для работы с ДНК-пробами. С целью обеспечения стерильных

условий и защиты от контаминации все используемые инструменты во время реакции предварительно обрабатывались в ультрафиолетовом свете. Сухие праймеры разводили водой до концентрации 100 мкмоль/л, затем перемешивали до полного растворения. Далее готовили рабочие растворы прямого и обратного праймера, смешивая в пробирке типа «Эппендорф» 5 мкл праймера и 495 мкл деионизированной воды (рабочая концентрация праймеров - 1 мкмоль/л). При постановке реакции готовили четыре концентрации контрольной ДНК (0,625 нг/мкл, 1,25 нг/мкл, 2,5 нг/мкл, 5 нг/мкл). Контрольные образцы ДНК раскапывали в 96-луночный планшет по 5 мкл на лунку в соответствии с заранее составленным протоколом. Далее готовили «Master mix», добавляя в пробирки типа «Эппендорф» следующие компоненты из расчета на одну лунку: 2,5 мкл прямого и обратного праймера, 2,5 мкл деионизированной воды, 12,5 мкл смеси для проведения количественной ПЦР в режиме реального времени 2× БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (Биолабмикс, Россия). Полученную смесь аккуратно перемешивали. 96-луночный планшет переносили на холодную подставку, где проводили следующий этап постановки ПЦР. В каждую лунку добавляли по 20 мкл ранее приготовленной смеси «Master Mix» в соответствии с заранее приготовленным протоколом, после чего планшет заклеивали оптически прозрачной пленкой. Для удаления образцов со стенок лунок планшет центрифугировали. ПЦР проводили в амплификаторе для ПЦР в режиме реального времени AriaMX Real-Time PCR System (Agilent Technologies, США), предварительно составив протокол в программе Agilent Aria 2.0. (Agilent Technologies, США). Программа амплификации включала параметры указанные на рисунке 8.

Праймеры с эффективностью 95-105% использовались в дальнейшем для подтверждения CNV и анализа их происхождения на образцах пациентов. Праймеры, эффективность которых отличалась от указанного диапазона, исключались из дальнейшего использования.

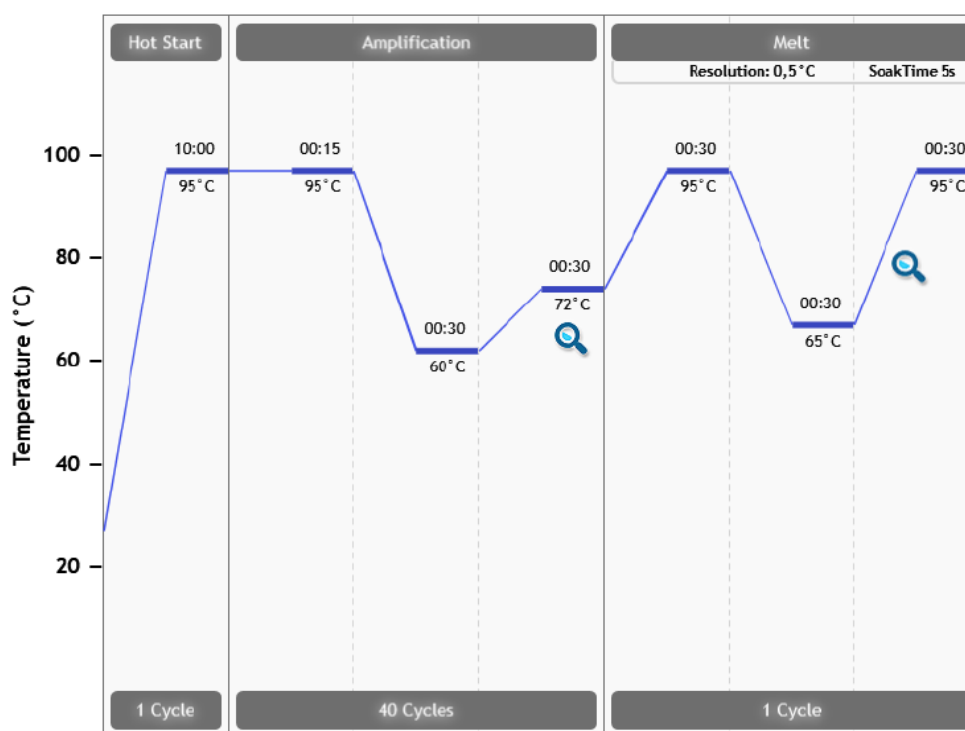


Рисунок 8 – Программа амплификации обработки условий ПЦР для пар праймеров

Постановка ПЦР для верификации и анализа происхождения CNV

За сутки до постановки реакции, используя спектрофотометр «NanoDrop 8000» (Thermo Fisher Scientific, США) проводили оценку качества и измерение концентрации исследуемых и контрольных образцов ДНК. Для постановки ПЦР использовали ДНК, которая соответствовала следующим показателям: $A_{260}/A_{280} = 1,8\text{--}2,0$ и $A_{260}/A_{230} > 1$. Все образцы разводили до концентрации 10 нг/мкл. После полного растворения ДНК с помощью спектрофотометра «NanoDrop 8000» (Thermo Fisher Scientific, США) измеряли концентрацию исследуемых и контрольных образцов. Необходимая концентрация образцов для реакции находится в диапазоне от 9,8 нг/мкл до 10,2 нг/мкл. В случае отклонения разбавленных образцов добавляли либо деионизированную воду, либо добавляли исходный концентрированный образец ДНК, так образом доводя концентрацию всех образцов до необходимых значений. Постановку реакции проводили в ПЦР-боксе, который был предварительно обработан ультрафиолетовым светом. После

обработки ПЦР-бокса образцы раскапывали в 96-луночный планшет в соответствии с ранее подготовленным протоколом. В каждую лунку первоначально добавляли 2,5 мкл прямого и 2,5 мкл обратного праймера, после чего планшет переносили на холодную подставку. Далее готовили «Master Mix», добавляя следующие компоненты (в расчете на одну лунку): 5 мкл деионизованной воды, 2,5 мкл ДНК (≈ 10 нг/мкл), 12,5 мкл 2× БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (Биолабмикс, Россия). После добавления всех образцов в лунке планшет заклеивали оптически прозрачной пленкой и центрифугировали, используя «Concentrator plus» (Eppendorf, Германия) в течение 1 минуты при комнатной температуре и 1000 об/мин (программа CEFU). ПЦР проводили в амплификаторе для ПЦР в режиме реального времени AriaMX Real-Time PCR System (Agilent Technologies, США), предварительно составив протокол в программе Agilent Aria 2.0. (Agilent Technologies, США). Программа амплификации включала параметры, указанные на рисунке 9.

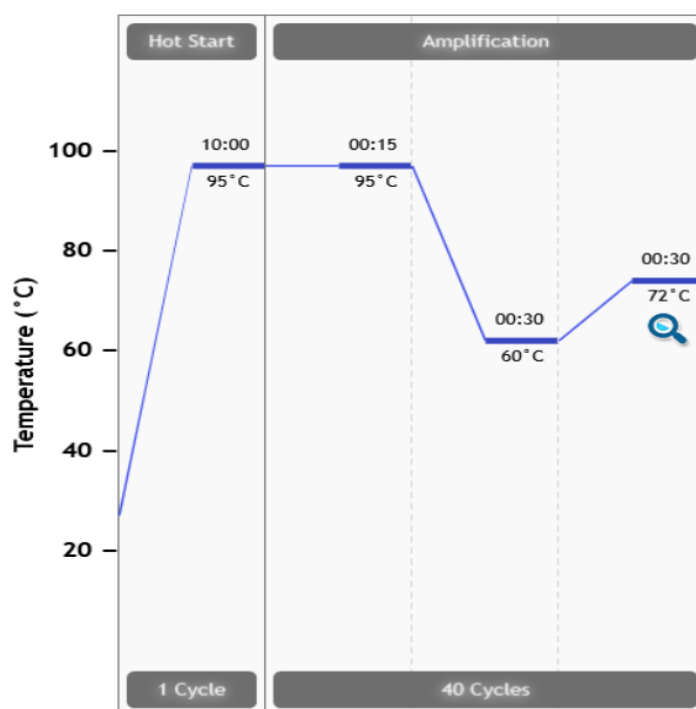


Рисунок 9 – Программа амплификации ПЦР для подтверждения и анализа происхождения CNV

2.4 Анализ полученных данных

2.4.1 Интерпретация данных матричной сравнительной геномной гибридизации

Для интерпретации результатов aCGH использовались следующие ресурсы:

1. База данных геномных вариантов (Database of Genomic Variants, DGV) – содержит информацию о CNV, выявленных у условно здоровых индивидов;
2. База данных геномных вариантов и фенотипов у человека (Database of genomic variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources, DECIPHER) – содержит данные об аберрациях, выявленных у пациентов с различными заболеваниями, в том числе у индивидов с РНПР;
3. База данных «Менделевское наследование у человека» (Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM) – представляет собой каталог генов, многие из которых связаны с известными фенотипами наследственных заболеваний;
4. CNV-ClinViewer – онлайн-калькулятор для интерпретации клинической значимости CNV. В рамках данного исследования использовался в качестве вспомогательного инструмента;
5. База данных Mouse Genome Informatics (MGI) – содержит информацию об особенностях генома мыши, сведения о функциях генов, их экспрессии и связи с различными фенотипами.

Все CNV, обнаруженные в исследовании, интерпретировались в соответствии с рекомендациями Американской коллегии по медицинской генетике и геномике совместно с проектом «Клинический геномный ресурс», а также Российского общества медицинских генетиков [Riggs E.R. et al., 2020; Brandt T. et al., 2020; Лебедев И.Н. и др., 2023].

2.4.2 Интерпретация данных количественной ПЦР в режиме реального времени

Анализ результатов ПЦР проводился с помощью порогового метода сравнения графиков накопления ДНК [Giulietti A. et al., 2001; Ребриков Д.В., 2023]. Для интерпретации данных использовали программу Excel (Microsoft, США), рассчитывая следующие параметры:

- в колонке 1 – среднее значение для СТ;
- в колонке 2 – $\log_{10} \text{QT test primer} = (\text{CT test DNA} - \text{CT reference DNA})/\text{slope}$;
- в колонке 3 – $\log_{10} \text{QT test primer} - \log_{10} \text{QT control primer}$;
- в колонке 4 – $\text{fold change} = 10^{\log_{10} \text{QT test primer} - \log_{10} \text{QT control primer}}$.

Далее для построения гистограммы использовали значение «fold change» (кратность изменения). Значение «fold change» для контрольной ДНК принималось за 1,0. Значение «fold change» в интервале от 0,8 до 1,2 для исследуемой ДНК соответствует наличию двух копий целевого фрагмента ДНК и интерпретируется как норма; «fold change» 0,3–0,7 указывает на микроделецию, 1,3–1,7 – на микродупликацию.

2.4.3 Статистический анализ полученных результатов

Для статистической обработки данных использовалась программа Statistica 12. Для сравнения групп с наличием/отсутствием случаев спонтанных абортс применялся критерий χ^2 (хи-квадрат) и Манна-Уитни. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Спектр CNV у детей с расстройствами нейropsychического развития

В результате исследования патогенные и вероятно патогенные CNV, а также варианты с неопределенной клинической значимостью обнаружены у 419 из 1417 (30%) пациентов с РНПР, что согласуется с литературными данными. Согласно разным авторам, частота CNV (патогенных, вероятно патогенных и с неопределенной клинической значимостью) у пациентов с РНПР варьирует в широком диапазоне – от 7,1% до 40% случаев [Fry A.E. et al., 2016; Firouzabadi S.G. et al., 2017; Lopes F. et al., 2019; Lindstrand A. et al., 2019; Zarrei M. et al., 2019; Baccarin M. et al., 2020; Chehbani F. et al., 2022]. Остальные индивиды в обследованной группе имели сбалансированный кариотип – 998/1417 (70%). Патогенные CNV были обнаружены у 77 из 1417 (5%) индивидов. Вероятно патогенные CNV и варианты с неопределенной клинической значимостью встречались у 40 из 1417 (3%) и 267 из 1417 (19%) пациентов, соответственно. У 35 из 1417 (3%) пробандов идентифицированы комбинации микроделечий и микродупликаций (две и более) с разной клинической значимостью. В результате работы Akter с коллегами у 17/212 (8%) пациентов с РНПР были обнаружены патогенные CNV (при исключении aberrаций, размером более 10 Мб), что согласуется с результатами, полученными в ходе настоящего исследования [Akter H. et al., 2023]. В недавнем мета-анализе о спектре CNV у пациентов с РНПР, было установлено, что P-CNV встречались у 89 из 3375 (3%) пациентов. При этом, LP-CNV и VUS-CNV встречались у 56 из 3375 (2%) и 241 из 3375 (7%), соответственно [Fedotov D.A. et al., 2024]. Различия в частотах P-CNV, LP-CNV и VUS-CNV могут быть обусловлены гетерогенностью исследуемых выборок, а также использованием микроматриц с разной разрешающей способностью.

Всего у 419 пробандов было идентифицировано 498 патогенетически значимых CNV (345 пациентов имели одну CNV, а общее число пациентов с комбинациями aberrаций составило 74). При этом 21% вариантов были классифицированы как патогенные, а 11% и 68% как вероятно патогенные и с

неопределенной клинической значимостью, соответственно. Данное распределение вариантов по клинической значимости соответствует опубликованным сведениям. Так, по данным литературы, P-CNV, LP-CNV и VUS-CNV встречаются с частотой 99/454 (22%), 63/454 (14%), и 292/454 (64%), соответственно [Fedotov D.A. et al., 2024]. Преобладание структурного хромосомного дисбаланса с неопределенной клинической значимостью объясняется недостатком знаний о связи ряда генов и вариантов с развитием и функционированием нервной системы (Рисунок 10).



Рисунок 10 – Характеристика CNV у пациентов с расстройствами нейropsychического развития по клинической значимости

Клиническая интерпретация CNV

Патогенные CNV

Среди обследованных пациентов с РНПР у 74 индивидов обнаружены только патогенные CNV. Кроме этого, у 25 пробандов идентифицированы комбинации аббераций, каждая из которых включает не менее одного патогенного варианта. Микроделеции и микродупликации, ассоциированные с известными синдромами обнаружены у 55 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).

Было обнаружено 8 моногенных Р-CNV, затрагивающих гены, ассоциированные с аутосомно-доминантными заболеваниями, проявляющиеся РНПР – микроделеции регионов 2q23.1 (*MBD5*, OMIM: 611472), 5q14.3 (*MEF2C*, OMIM: 600662), 7q11.2 (*AUTS2*, OMIM: 607270), 12p12.1 (*SOX5*, OMIM: 604975), микродупликация региона 2q23.1 (*MBD5*, OMIM: 611472), а также микротрипликация региона 2p25.3 (*MYT1L*, OMIM: 613084). Весь перечень пациентов, у которых обнаружены патогенные CNV представлен в Таблице 10.

Таблица 10 – Пациенты с расстройствами нейropsychического развития, имеющие патогенные микроделеции и микродупликации

Номер пациента	Результат aCGH(ISCN2020) [McGowan-Jordan J. et al., 2020] и qPCR	Синдром
1	2	3
Патогенные микроделеции		
1	arr[hg19] 1p21.1-p13.2(104606702_112468708)×1 dn	-
2	arr[hg19] 1p36.33 - p36.32(1110548_4316967)×1 dn	Синдром микроделеции 1p36 (OMIM: 607872)
3	arr[hg19] 2q23.1(149150964_149228395)×1 dn	Нарушение интеллекта с аутосомно-доминантным типом наследования (OMIM: 156200)
4	arr[hg19] 2q31.1(171785000_176597527)×1 dn	-
5	arr[hg19] 3q29(195740357_197310451)×1	Синдром микроделеции 3q29 (OMIM: 609425)
6	arr[hg19] 3p24.1-p22.3(28468275_35388245)×1	-
7	arr[hg19] 3p26.3-p25.3(93949_9475984)×1	-
8	arr[hg19] 4p16.3(71552_3210433)×1	Синдром Вольфа–Хиршхорна (OMIM 194190)
9	arr[hg19] 4p16.3p16.2(71552_5948849)×1	Синдром Вольфа–Хиршхорна (OMIM 194190)
10	arr[hg19] 5q14.3(88149592_88348206)×1 dn	Синдром микроделеции 5q14.3 (OMIM: 613443)
11	arr[hg19] 7q11.22(69931302_70163628)×1	Интеллектуальные нарушения с аутосомно-доминантным типом наследования (OMIM: 615834)
12	arr[hg19]7q11.23(72726578_74139390)×1 dn	Синдром микроделеции 7q11.23 (OMIM: 194050)
13	arr[hg19] 7q11.23(72726578_74139390)×1	Синдром микроделеции 7q11.23 (OMIM: 194050)
14	arr[hg19]7q11.23(72726578_74139390)×1	Синдром микроделеции 7q11.23 (OMIM: 194050)
15	arr[hg19] 7q36.1(151602419_152032715)×1 dn	-

Продолжение таблицы 10

1	2	3
16	arr[hg19] 9q22.31-q22.33(96135293_99851589)×1	-
17	arr[hg19] 9q34.3(139503031_140954147)×1	Синдром субтеломерной делеции 9q (OMIM: 610253)
18	arr[hg19] 9q34.3(140482479_140954147)×1 dn	Синдром субтеломерной делеции 9q (OMIM: 610253)
19	arr[hg19] 10q23.1q23.32(85994649_93904872)×1	-
20	arr[hg19] 10q24.32(104157010_104678010)×1	-
21	arr[hg19] 10p11.23(28305420_29065520)×1 dn	-
22	arr[hg19]11p13(35180424_36335424)×1	-
23	arr[hg19]12p13.33-p13.32(230421_3939173)×1	-
24	arr[hg19] 15q11.2(22885637_23179948)×1 mat	Синдром микроделеции 15q11.2 (OMIM: 615656)
25	arr[hg19] 15q11.2(22885637_23076420)×1	Синдром микроделеции 15q11.2 (OMIM: 615656)
26	arr[hg19] 15q11.2(22784523_23179948)×1	Синдром микроделеции 15q11.2 (OMIM: 615656)
27	arr[hg19] 15q11.2(22885637_23179948)×1 pat	Синдром микроделеции 15q11.2 (OMIM: 615656)
28	arr[hg19] 15q11.2(22885637_23179948)×1 mat	Синдром микроделеции 15q11.2 (OMIM: 615656)
29	arr[hg19] 15q13.2-q13.3(31014508_32914140)×1	Синдром микроделеции 15q13.3 (OMIM: 612001)
30	arr[hg19] 15q13.1q13.3(29213402_32914140)×1	Синдром микроделеции 15q13.3 (OMIM: 612001)
31	arr[hg19] 15q13.3(32021733_32510863)×1	Синдром микроделеции 15q13.3 (OMIM: 612001)
32	arr[hg19]15q24.1q25.2(74003947_82069945)×1	Синдром микроделеции 15q24(OMIM 613406)
33	arr[hg19] 16p11.2(29673954_30198600)×1 dn	Синдром микроделеции 16p11.2-p12.2 (OMIM: 613604)
34	arr[hg19] 16p11.2(28543104_30198600)×1	Синдром микроделеции 16p11.2-p12.2 (OMIM: 613604)
35	arr[hg19] 16p11.2(28837450_29042118)×1	Синдром микроделеции 16p11.2-p12.2 (OMIM: 613604)
36	arr[hg19]16p11.2(29673499_30197499)×1	Синдром микроделеции 16p11.2-p12.2 (OMIM 613604)
37	arr[hg19]16p11.2(29325499_30198499)×1	Синдром микроделеции 16p11.2-p12.2 (OMIM 613604)
38	arr[hg19] 16p12.2-p12.1(22922029_25236341)×1	Синдром микроделеции 16p11.2-p12.2 (OMIM: 613604)

Продолжение таблицы 10

1	2	3
39	arr[hg19] 16p13.11(15492317_16249607)x1	Синдром микроделеции 16p13.11 (OMIM 610543)
40	arr[hg19] 17q12(34817422_36168104)×1	Синдром микроделеции 17q12 (OMIM 614527)
41	arr[hg19] 17q21.31(43717703_44210822)×1 dn	Синдром Кулен–де Фриз (OMIM 610443)
42	arr[hg19] 17q22(53208736_57076260)×1	-
43	arr[hg19] 17p12(14111772_15442066)×1	Наследственная склонность к параличам от сдавления нерва (OMIM: 162500)
44	arr[hg19] 17p12(14111772_15442066)×1	Наследственная склонность к параличам от сдавления нерва (OMIM: 162500)
45	arr[hg19] 18q21.2(52787524_53115645)×1	-
46	arr[hg19] 22q11.21(18919942_21440514)×1	синдром Ди Джорджи (OMIM 188400) и велокардиофациальный синдром (OMIM 192430)
47	arr[hg19] 22q11.21(18919942_20311763)×1	синдром Ди Джорджи (OMIM 188400) и велокардиофациальный синдром (OMIM 192430)
48	arr[hg19] 22q11.21(18919942_21440514)×1	синдром Ди Джорджи (OMIM 188400) и велокардиофациальный синдром (OMIM 192430)
49	arr[hg19] 22q11.21(18919942_21440514)×1	синдром Ди Джорджи (OMIM 188400) и велокардиофациальный синдром (OMIM 192430)
50	arr[hg19]22q11.21(18897000_21383000)×1	синдром Ди Джорджи (OMIM 188400) и велокардиофациальный синдром (OMIM 192430)
51	arr[hg19] 22q13.32q13.33(49371757_51178264)×1	Синдром микроделеции 22q13 (OMIM: 606232)
52	arr[hg19] Xq21.1(76921719_77283645)×0	-
53	arr[hg19] Xq24(118673728_118841277)×0 mat	-
54	arr[hg19] Xp22.33-p22.2(61091_10187866)×1 dn	Дисхондростеоз Лери-Вейля (OMIM 127300)
55	arr[hg19] Xq26.1-q26.2(129796796_130960617)×0	-
56	arr[hg19] Xq26.1-q26.2(129796796_130960617)×0	-
Патогенные микродупликации		

Продолжение таблицы 10

1	2	3
57	arr[hg19] 1q21.1(146564743_147786706)×3 dn	Синдром микродупликации 1q21.1 (OMIM: 612475)
58	arr[hg19] 2q23.1(149002435_149263104)×3 pat	Нарушение интеллекта с аутосомно-доминантным типом наследования (OMIM: 156200)
59	arr[hg19] 2p25.3(1842071_2246200)×4	Нарушения интеллекта с аутосомно-доминантным типом наследования (OMIM: 616521)
60	arr[hg19] 2p25.3-p25.2(827606_6322646)×3	-
61	arr[hg19] 7q11.23(72726578_74139390)×3 mat	Синдром микродупликации 7q11.23 (OMIM 609757)
62	arr[hg19] 15q11.2(22784523_23813348)×3	Синдром дупликации 15q11-q13 (OMIM 608636)
63	arr[hg19] 15q11.1-q13.1(20102541_28525460)×4	Синдром дупликации 15q11-q13 (OMIM 608636)
64	arr[hg19] 15q13.3(32021733_32510863)×3 pat	-
65	arr[hg19] 15q13.3(32139817_32404023)×3 pat	-
66	arr[hg19] 15q13.3(32021733_32510863)×3 pat	-
67	arr[hg19] 15q13.3(32076948_32510863)×3	-
68	arr[hg19] 16p11.2(29673954_30198600)×3	Синдром микродупликации 16p11.2 (614671)
69	arr[hg19] 16p13.11(15131723_16276115)×3	Синдром микродупликации 16p13.11 (OMIM: 613458)
70	arr[hg19] 17q11.2(29124299_29578197)×3	Синдром микродупликации 17q11.2
71	arr[hg19] 17p13.3(932623_1756426)×3	-
72	arr[hg19] 17p13.3(932623_1756426)×3	-
73	arr[hg19] 22q11.21(18641409_21801661)×3 dn	Синдром микродупликации 22q11 (OMIM: 608363)
74	arr[hg19] Xq24-q25(118177009_123019837)×2 mat	-
Комбинации патогенных CNV с вероятно патогенными и вариантами с неопределенной клинической значимостью		
75	arr[hg19] 15q11.2(22784523_23179948)×1 pat, 16p11.2(29673954_30198600)×3 dn	Синдром микроделеции 15q11.2 (OMIM: 615656); Синдром микродупликации 16p11.2 (OMIM: 614671)
76	arr[hg19] 17q12(34817422_36168104)×3, 22q11.21(19023824_21379958)×3	Синдром микродупликации 17q12 (OMIM: 614526); Синдром микродупликации 22q11 (OMIM: 608363)

Продолжение таблицы 10

1	2	3
77	arr[hg19] 7q36.2(153569109_153813352)×3, 16p13.11p12.3(15492317_18112776)×3	Нарушение интеллекта (аутосомно-доминантный тип наследования) (ОМІМ: 616311); Синдром микроудупликации 16p13.11 (DECIPHER)
78	arr[hg19] 4q24(106967123_107200376)×1, 15q11.1- q13.1(20481702_28525460)×4	Синдром Ангельмана (ОМІМ 105830) Синдром Прадера–Вилли (ОМІМ 176270)
79	arr[hg19] 5q34(163585144_167946316)×1 dn, 9p24.2p23(2267812_12275177)×1 dn	-
80	arr[hg19] 2q14.3(124948751_125952612)×3, 4p16.3(71552_3845097)×1	Синдром Вольфа– Хиршхорна (ОМІМ 194190)
81	arr[hg19] 1q41(214776938_214837830)×1, Xq28(153576890_153822717)×3	Синдром микроудупликации Xq28 (ОМІМ 300815)
82	arr[hg19] 3p22.1(41177103_41754496)×1, Xp22.33(1217017_1427590)×3	-
83	arr[hg19] 1p34.1(45945302_46508455)×3, 5q14.3(88119525_88232646)×1	Синдром микроделеции 5q14.3 (ОМІМ 613443)
84	arr[hg19] 12p12.1(23386854_24209515)×1, 12p12.1(26277041_26491122)×1	Синдром Ламб–Шаффера (ОМІМ: 616803)
85	arr[hg19] 15q13.3(31972646_32510863)×3, 16p12.2(21599687_21739885)×1	-
86	arr[hg19] 2q14.3(125058848_126218693)×3, 16q22.1(67517596_68746527)×1	-
87	arr[hg19] 1p32.3(55292722_55451361)×1, 17p12(14111772_15442066)×3	Болезнь Шарко-Мари-Тус (ОМІМ: 118220)
88	arr[hg19] 1p36.32(2723344_3197980)×3, 1q21.1(145632334_145747269)×1	-
89	arr[hg19] 2q13(110970221_113098686)×3, 3p26.1- p25.3(5179888_10236010)×1	-
90	arr[hg19] 6p25.3p25.2(1518150_3224603)×3, 11p12p11.2(42106724_47042349)×1	Синдром Потоки-Шаффера (ОМІМ: 601224)
91	arr[hg19] 5q11.1q11.2(49690172_58885517)×3, 11p15.2(13784787_14289447)×3	-
92	arr[hg19] 10q26.3(135276496_135372492)×4, Xq26.3(133634030_133699987)×0	-
93	arr[hg19] 7q11.22(69492624_70163628)×1, Xp22.33(298292_1019080)×3	Нарушения интеллектуального развития с аутосомно- доминантным типом наследования (ОМІМ: 615834)

Окончание таблицы 10

1	2	3
94	arr[hg19] 8p11.21p11.1(42938288_43333638)×3, Xp11.23(48791150_49024153)×2	Синдром микродупликации Xp11.23-p11.22 (OMIM: 300801)
95	arr[hg19] 15q11.2(22885637_23699760)×3, 17q21.31q21.32(44127888_45490270)×1	Синдром Кулен–де Фриз (OMIM 610443)
96	arr[hg19] 10q26.3(135276496_135372492)×4, 17p13.3(783542_1778996)×3	-
97	arr[hg19] 6q22.31(123539625_123622517)×1 mat, 13q31.1(84832096_86295850)×1 mat, 22q11.21(18919942_21379958)×1 dn	Синдром Ди Джорджи (OMIM 188400) и велокардиофациальный синдром (OMIM 192430)
98	arr[hg19] 15q24.1-q24.2(72979124_75967357)×1 dn, 15q24.1-q24.2(75248079_75632632)×1 dn	Синдром микроделеции 15q24 (OMIM: 613406)
99	arr[hg19] 1q21.1(145632334_145747269)×1 mat, 11p13(31521664_31625448)×1 mat, 22q11.21(18919942_21440514)×1 dn	Синдром Ди Джорджи (OMIM 188400) и велокардиофациальный синдром (OMIM 192430)

Примечание: dn – происхождение *de novo*, mat – от матери, pat - от отца

Впервые нами была описана патогенная микроделеция Xq26.1-q26.2, обнаруженная у двух sibсов мужского пола (двух и восьми лет) с РНПР (пациенты №55 и №56 в Таблице 10). Размер аберрации составляет 1,16 м.п.о. У пациентов выявлены задержка психического и расстройство речевого развития, агрессивное поведение, эмоциональная нестабильность, ожирение, гипотериоз, гепатомегалия и макроорхизм. Учитывая, что микроделеция идентифицирована у обоих мальчиков, было сделано заключение о том, что данный вариант, вероятно, унаследован от матери. Регион микроделеции включает семь генов – *ENOX2*, *ARHGAP36*, *IGSF1*, *OR13H1*, *FIRRE*, *LOC105373338* и *LINC01201*. При этом три гена представлены в базе данных OMIM – *ENOX2* (OMIM 300282), *ARHGAP36* (OMIM 300937) и *IGSF1* (OMIM 300137). Известно, что ген *ARHGAP36* имеет высокий уровень экспрессии в головном и спинном мозге при эмбриональном развитии мышечной ткани [Leroy C. et al., 2016]. По данным другого исследования микроделеции гена *IGSF1* обнаруживаются у мужчин с гипотериозом и макроорхизмом [Joustra S.D. et al., 2013]. При использовании базы DECIPHER обнаружено четыре пациента с задержкой речевого развития и один индивид с

РАС, имеющие микроделецию, которая пересекается по координатам с абберацией у описанных, в настоящем исследовании, сибсов (№ 385774, 265814, 376920, 412324).

Вероятно патогенные CNV

В исследуемой выборке детей с РНПР вероятно патогенные CNV встречались значительно реже. Однако выявлены пересекающиеся варианты у нескольких пациентов – микроделеции 3p26.3 (два случая) и 11p13 (два случая), а также микродупликации 3p26.1 (три случая), 8q24.3 (два случая), 9q34.3 (два случая) и 16p13.11 (три случая) (Таблица 11).

Таблица 11 – Наиболее частые вероятно патогенные CNV, обнаруженные в ходе исследования

Номер пациента	Результат aCGH(ISCN2020) [McGowan-Jordan J. et al., 2020] и qPCR	Клиническая значимость
1	2	3
Пересекающиеся CNV в регионе 3p26.1		
1	arr[hg19] 3p26.1(4231359_4562686)×3	LP
2	arr[hg19] 3p26.1(4231359_4562686)×3 mat, 22q13.33(50821612_51065908)×3 pat	LP, VUS
3	arr[hg19] 3p26.1(4231359_4562686)×3, 21q22.13(38042570_38608514)×3	LP, VUS
Пересекающиеся CNV в регионе 3p26.3		
4	arr[hg19] 3p26.3(93949_1023965)×1	LP
5	arr[hg19] 3p26.3 (1189000_1558000)×1	LP
Пересекающиеся CNV в регионе 8q24.3		
6	arr[hg19] 8q24.3(142390136_146280020)×3	LP
7	arr[hg19] 8q24.3(144101454_146280020)×3, 14q31.1(80672550_80736720)×3, 16q13(56970235_57030634)×3	LP, VUS, VUS
Пересекающиеся CNV в регионе 9q34.3		
8	arr[hg19] 9q34.3(140287628_140954147)×3 dn, Xp22.13-p22.12(19100827_19552110)×3 pat	LP, VUS
9	arr[hg19] 9q34.3(138845554_140287676)×3, Xp22.33(209659_2362192)×3	LP, VUS
Пересекающиеся CNV в регионе 11p13		
10	arr[hg19] 11p13(31521664_31625448)×1 pat	LP
11	arr[hg19] 1q21.1(145632334_145747269)×1 mat, 11p13(31521664_31625448)×1 mat, 22q11.21 (18919942_21440514)×1 dn	VUS, LP, P
Пересекающиеся CNV в регионе 16p13.11		
12	arr[hg19] 16p13.11(15131723_16276115)×3	LP

Окончание таблицы 11

1	2	3
13	arr[hg19] 16p13.11(15048751_16276115)×3	LP
14	arr[hg19] 16p13.11(15131723_16276115)×3 pat	LP

Примечание: dn – происхождение *de novo*, mat – материнское, pat - отцовское.
Полужирным шрифтом обозначены пересекающиеся по координатам аберрации.

Микродупликация 3p26.1 включает четыре гена – *SETMAR*, *SUMF1*, *ITPR1*, *ITPR1-AS1*. Протяженность аберрации составляет 331 т.п.о. во всех трех случаях. Гены *SUMF1* и *ITPR1* являются патогенетически значимыми по данным OMIM. Продукт гена *SUMF1* является ферментом, который необходим для посттрансляционной модификации и каталитической активации семейства ферментов сульфатазы. Ген *ITPR1* кодирует внутриклеточный рецептор для инозитол-1,4,5-трисфосфата. По данным DECIPHER *ITPR1* является триплоизбыточным (pTriplo = 0,94). Варианты в данном гене (гетерозиготные однонуклеотидные замены, микроделеции) приводят к синдрому Гиллеспи (аутосомно-доминантный и аутосомно-рецессивный тип наследования) (OMIM:206700), к двум формам спиноцеребеллярной атаксии с аутосомно-доминантным типом наследования (OMIM:606658, OMIM:117360).

Варианты с неопределенной клинической значимостью

Среди вариантов с неопределенной клинической значимостью чаще встречались CNV в регионах 2q13, 4q31.23, 7q11.21, 7q31.1, 12q24.12, 16p12.2, Xp22.31, Xp22.33 (Таблица 12).

Таблица 12 – Наиболее частые CNV с неопределенной клинической значимостью, обнаруженные в ходе исследования

Номер пациента	Результат aCGH(ISCN2020) [McGowan-Jordan J. et al., 2020] и qPCR	Клиническая значимость
1	2	3
Пересекающиеся CNV в регионе 2q13		
1	arr[hg19] 2q13(110895981_110980401)×1	VUS
2	arr[hg19] 2q13(110895981_110980401)×1 mat	VUS
3	arr[hg19] 2q13(110895981_110980401)×1	VUS
4	arr[hg19] 2q13(110895981_110970270)×1	VUS

Продолжение таблицы 12

1	2	3
5	arr[hg19] 2q13(110895981_110980401)×1	VUS
6	arr[hg19] 2q13(110895981_110980401)×3 pat	VUS
7	arr[hg19] 2q13(110895981_110980401)×3	VUS
8	arr[hg19] 2q13(110895981_110980401)×1, Xq22.1(100788622_100871316)×2 mat	VUS, VUS
9	arr[hg19] 2q13(110970221_113098686)×3, 3p26.1- p25.3(5179888_10236010)×1	VUS, P
10	arr[hg19] 2q13(110895981_110980401)×1, 11p14.1(28131098_28349712)×3	VUS, VUS
Пересекающиеся CNV в регионе 4q31.23		
11	arr[hg19] 4q31.23(149181199_149284619)×3	VUS
12	arr[hg19] 4q31.23(149181199_149284619)×4	VUS
13	arr[hg19] 4q31.23(149181199_149284619)×4, 11p15.4(9762304_10130519)×1	VUS, VUS
14	arr[hg19] 4q31.23(149181199_149284619)×4, 16q21(60836699_65385582)×3	VUS, VUS
15	arr[hg19] 3p12.1(83755843_85775763)×3, 4q31.23(149181199_149284619)×4	VUS, VUS
16	arr[hg19] 4q31.23(149181199_149284619)×3, 8q24.13(123852874_123921256)×3	VUS, VUS
Пересекающиеся CNV в регионе 7q11.21		
17	arr[hg19] 7q11.21(64691936_65070919)×1	VUS
18	arr[hg19] 7q11.21(64691936_65070919)×1	VUS
19	arr[hg19] 7q11.21(64691936_65070919)×1	VUS
20	arr[hg19] 7q11.21(64691936_65070919)×1	VUS
21	arr[hg19] 7q11.21(64691936_65070919)×3	VUS
22	arr[hg19] 5q12.1(59895008_60187882)×1, 7q11.21(64691936_65070919)×1	VUS, VUS
Пересекающиеся CNV в регионе 7q31.1		
23	arr[hg19] 7q31.1(111105151_111149166)×1 mat	VUS
24	arr[hg19] 7q31.1(111105151_111149166)×1 pat	VUS
25	arr[hg19] 7q31.1(110830742_111304031)×1 pat	VUS
26	arr[hg19] 7q31.1(111044035_111202026)×1 pat	VUS
27	arr[hg19] 7q31.1(111044035_111149166)×1 mat	VUS
28	arr[hg19] 7q31.1(110980176_111366863)×1	VUS
29	arr[hg19] 7q31.1(111130599_111202026)×3	VUS
Пересекающиеся CNV в регионе 12q24.12-q24.13		
30	arr[hg19] 12q24.12q24.13(112184121_112308929)×3	VUS
31	arr[hg19] 12q24.12-q24.13(112184121_112308929)×3 mat	VUS
32	arr[hg19] 12q24.12q24.13(112184121_112308929)×3	VUS
33	arr[hg19] 12q24.12q24.13(112184121_112308929)×3	VUS
34	arr[hg19] 12q24.12q24.13(112184121_112308929)×3 mat	VUS
35	arr[hg19] 12q24.12q24.13(112184121_112308929)×3	VUS
36	arr[hg19] 12q24.12-q24.13(112184121_112308929)×3 pat	VUS
37	arr[hg19] 12q24.12-q24.13(112184121_112326796)×3	VUS
38	arr[hg19] 12q24.12(112184121_112308929)×3 mat	VUS

Окончание таблицы 12

1	2	3
Пересекающиеся CNV в регионе 12p13.31		
39	arr[hg19] 12p13.31(7805008_8003473)×3 mat	VUS
40	arr[hg19] 12p13.31(7805008_8003473)×3 mat	VUS
41	arr[hg19] 12p13.31(8003414_8088660)×3	VUS
42	arr[hg19] 12p13.31(7653675_8088660)×3	VUS
43	arr[hg19] 12p13.31(8003414_8088660)×3	VUS
Пересекающиеся CNV в регионе 16p12.2		
44	arr[hg19] 16p12.2(21599687_21739885)×1 mat	VUS
45	arr[hg19] 16p12.2(21574908_21739885)×1 pat	VUS
46	arr[hg19] 16p12.2(21574908_21739885)×1 pat	VUS
47	arr[hg19] 16p12.2(21599499_21739499)×1	VUS
48	arr[hg19] 15q13.3(31972646_32510863)×3, 16p12.2(21599687_21739885)×1	P, VUS
Пересекающиеся CNV в регионе Xp22.31		
49	arr[hg19] Xp22.31(7584633_8115153)×3	VUS
50	arr[hg19] Xp22.31(7806007_8164803)×2	VUS
51	arr[hg19] Xp22.31(6552712_8115153)×2	VUS
52	arr[hg19] Xp22.31(7820636_8295650)×2	VUS
53	arr[hg19] Xp22.31(6552712_8115153)×3	VUS
54	arr[hg19] Xp22.31(6552712_8115153)×2	VUS
55	arr[hg19] Xp22.31(6552712_8115153)×2 mat	VUS
56	arr[hg19] Xp22.31(6705268_7269628)×3 mat, Xq26.3(134344980_134656932)×3	VUS, VUS
Пересекающиеся CNV в регионе Xp22.33		
57	arr[hg18] Xp22.33(94062_1715786)×2	VUS
58	arr[hg19] 3p22.1(41177103_41754496)×1, Xp22.33(1217017_1427590)×3	P, VUS
59	arr[hg19] 9p23(10320424_13877339)×3, Xp22.33 (298292_1538820)×3	LP, VUS
60	arr[hg19] 16p13.3(6785607_6881150)×1, Xp22.33 (298292_1019080)×3	VUS, VUS
61	arr[hg19] 7q11.22(69492624_70163628)×1, Xp22.33(298292_1019080)×3	P, VUS
62	arr[hg19] 9q34.3(138845554_140287676)×3, Xp22.33(209659_2362192)×3	LP, VUS
63	arr[hg19] 16q21(59860775_65022158)×3, Xq21.31- q21.33(86709753_95257164)×3, Xp22.33 (298292_1019080)×3	VUS, LP, VUS
64	arr[hg18] 9p24.2(4146589_4590270)×3, Xp22.33(149659_1498820)×3	VUS, VUS
65	arr[hg18] 9p24.2(4146589_4590270)×3, Xp22.33(149659_1498820)×3	VUS, VUS
66	arr[hg18] 1q21.1(144343691_144458626)×3 mat, Xp22.33(149659_1498820)×2	VUS, VUS

Примечание: dn – происхождение *de novo*, mat – материнское, pat - отцовское.
Полужирным шрифтом обозначены пересекающиеся по координатам абберрации.

Одними из наиболее частых VUS-CNV на аутосомах, обнаруженных в ходе настоящей работы, являются перестройки в регионе 7q31.1 - шесть микроделений и одна микродупликация (пациенты № 23-28 в Таблице 12). Все абберрации (за исключением одной у пациента № 27 в Таблице 12) включают единственный ген - *IMMP2L*. У пациента № 27 в Таблице 12, имеющего микроделецию 7q31.1, помимо гена *IMMP2L* в CNV вовлечен второй ген - *DOCK4*. По данным NCBI Gene продукт гена *IMMP2L* локализован в митохондриях и является одним из белков, необходимых для каталитической активности митохондриального комплекса пептидаз внутренней мембраны. Белок *DOCK4* функционирует как фактор обмена гуаниновых нуклеотидов и участвует в регуляции межклеточного взаимодействия. Тем не менее, по данным DECIPHER данный ген не является дозочувствительным. В базе DGV микроделеции и микродупликации 7q31.1, включающие только *IMMP2L*, часто обнаруживаются среди здоровых индивидов. В результате работы было показано, что в пяти из семи случаев микроделеции были унаследованы пробандами с РНПР от условно здоровых родителей (в двух случаях перестройка имеет материнское происхождение и в трех - отцовское). Таким образом, все CNV в регионе 7q31.1 были интерпретированы как варианты с неопределенной клинической значимостью.

Характеристика CNV по копийности, происхождению и генному составу

Tun CNV

Большую часть CNV составили микродупликации – 52%; микроделеции встречались реже – 42%. В результате исследования было обнаружено 29 микротрипликаций, что составляет 6% от общего количества вариантов (Рисунок 11).

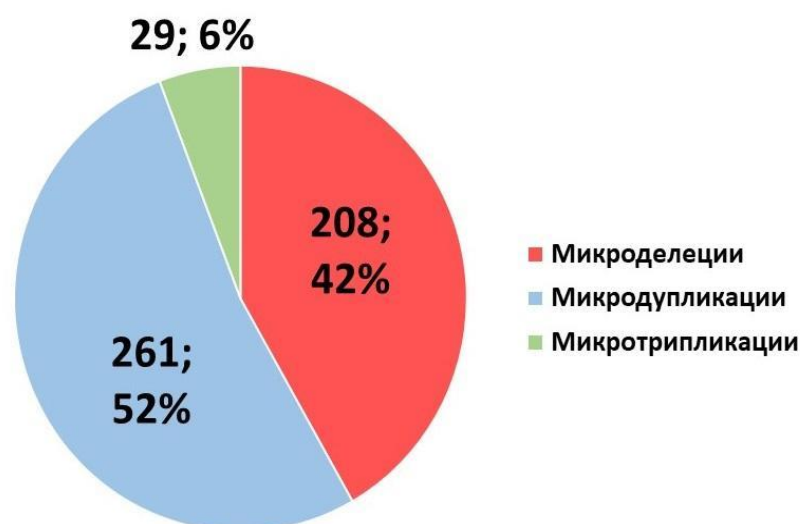


Рисунок 11 – Характеристика CNV у пациентов с расстройствами нейropsychического развития по копийности

Большая часть микроделений являются патогенными вариантами по сравнению с микродупликациями и микротрипликациями - 34%, 10% и 14%, соответственно (Рисунок 12).

Среди микроделений наблюдается значительное снижение частоты вероятно патогенных CNV в сравнении с патогенными (8% и 34%, соответственно), тогда как в группе микродупликаций и микротрипликаций патогенные и вероятно патогенные варианты встречаются с сопоставимой частотой. При сравнении микроделений и аббераций с увеличенной копийностью (микродупликаций и микротрипликаций) по клинической значимости наблюдаются статистически значимые отличия ($p < 0,001$). Такое распределение микроделений и микродупликаций по клинической значимости, вероятно, связано с тем, что интерпретация микроделений является более простой, в отличие от анализа микродупликаций. В случае, если в регион микроделеции включен гаплонедостаточный ген, то потеря данного участка приведет к заболеванию.



Рисунок 12 – Характеристика CNV по клинической значимости относительно направления изменения копийности перестроек

Интерпретация микродупликаций является менее однозначной, поскольку ее эффект может зависеть от несколько факторов – направление микродупликации (прямая или инвертированная), расположение относительно исходного участка (тандемная или нетандемная), от вовлеченности 5' и 3' концов гена, а, в случае моногенных CNV, также от захвата дополнительных экзонов [Newman S. et al., 2015]. Другим фактором, осложняющим интерпретацию микродупликаций, является более мягкое их проявление, по сравнению с микроделециями. Также известно, что некоторые микродупликации обладают более низкой пенетрантностью, в сравнении с микроделециями, локализованными в одном и том же регионе. Например, пенетрантность микроделеции и микродупликации региона 1q21.1 (дистальные) составляет 37% и 29%, соответственно; микроделеции и микродупликации 16p11.2 (дистальные) – 62% и 11%, соответственно; микроделеции и микродупликации 16p11.2 (проксимальные) – 47% и 27%, соответственно; микроделеции и микродупликации 17q12 – 34% и 21% [Rosenfeld J.A. et al., 2013]. В ходе настоящего исследования большинство микроделеций, микродупликаций и микротрипликаций были интерпретированы как варианты с неопределенной клинической значимостью (58%, 77% и 72%, соответственно). Зачастую CNV у пациентов с РНПР являются уникальными, следовательно, для

того чтобы классифицировать аберрацию как патогенную, вероятно патогенную, вероятно доброкачественную или доброкачественную, необходимо проводить исследования на крупных выборках, накапливая данные, а также же использовать модельные объекты для выяснения молекулярных эффектов CNV.

Происхождение CNV

При помощи количественной ПЦР в режиме реального времени для части вариантов был проведен анализ происхождения (127/498 (26%) CNV у 114/419 (27%) пробандов с РНПР). В ходе исследования определено, что большая часть микроделеций и микродупликаций были унаследованы от условно здоровых родителей – 85/125 (68%). Микроделеции чаще возникали *de novo* – 38%, в сравнении с микродупликациями – 27%, однако статистически значимых отличий обнаружено не было ($p = 0,186$) (Рисунок 13).

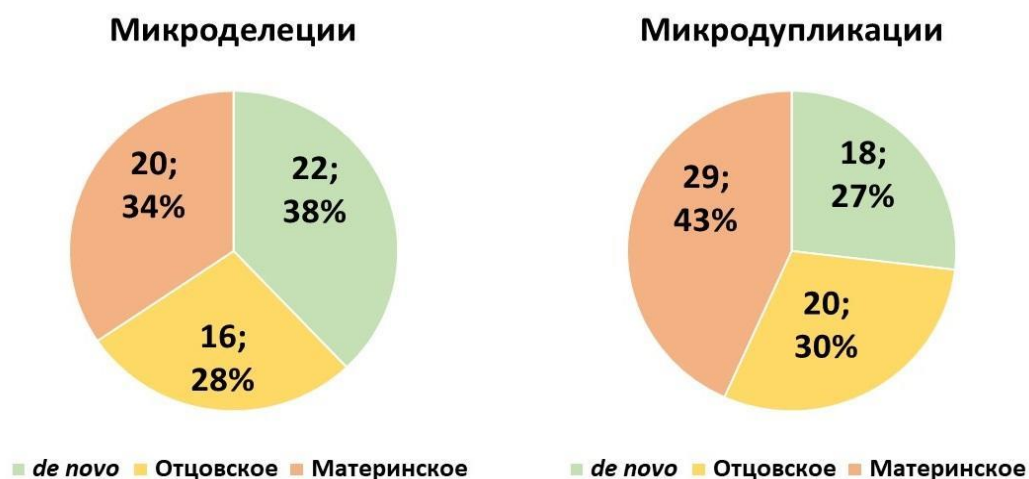


Рисунок 13 – Происхождение CNV у пациентов с расстройствами нейropsychического развития

Наследование патогенных CNV от условно здоровых родителей можно объяснить неполной пенетрантностью обнаруженных вариантов [Rosenfeld J.A. et al., 2013; Kirov G., 2015]. Известно о ряде факторов, которые могут модифицировать эффект CNV, влияя на проявление и выраженность симптомов у носителей. К таким факторам относятся однонуклеотидные варианты и CNV, эпигенетические факторы (дифференциальная аллельная экспрессия, инактивация

Х-хромосомы, импринтинг) [Girirajan S. et al., 2010; Girirajan S. et al., 2012; Tolmacheva E.N. et al., 2020; Vasilyev S.A. et al., 2021].

Генный состав CNV

В результате исследования было выявлено 83/498 (17%) моногенных и 415/498 (83%) полигенных CNV (Рисунок 14).

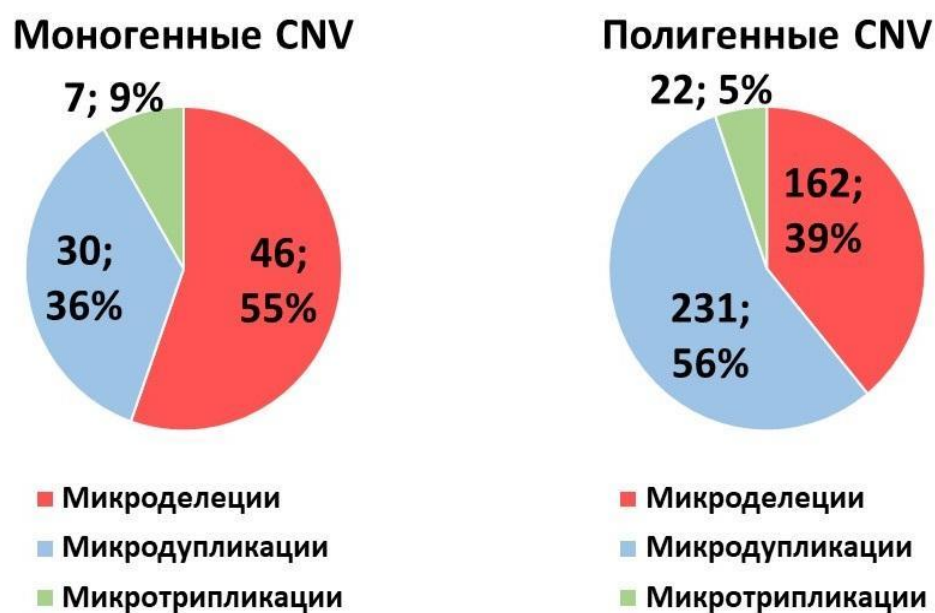


Рисунок 14 – Частоты микроделений, микродупликаций и микротрипликаций среди моногенных и полигенных CNV

Полученные данные отличаются от литературных ($p = 0,013$). В результате мета-анализа, который включает опубликованные работы о спектре CNV среди пациентов с РНПР, было установлено, что среди 454 структурных хромосомных вариантов 105 (23%) являются моногенными и 349 (77%) полигенными [Fedotov D.A. et al., 2024]. Обнаруженные отличия можно объяснить использованием в опубликованных работах микроматриц с разным разрешением. Так, например, некоторые авторы использовали ДНК-чипы более высокого разрешения (Agilent 4×180K и Affymetrix CytoScan HD), в сравнении с микроматрицами, при помощи которых были обследованы пациенты в ходе настоящего исследования [Lindstrand A. et al., 2019; Zarrei M. et al., 2019; Baccarin M. et al., 2020; Chehbani F. et al., 2022].

Среди моногенных CNV преобладали микроделеции – 55%, а среди полигенных чаще встречались микродупликации и микротрипликации – 61% ($p = 0,006$). Возможно, это указывает на то, что микроделеции одного гена (при условии его дозозависимости) достаточно для влияния на развитие и функционирование нервной системы, тогда как эффект микродупликации более выражен в том случае, если абберрация включает несколько генов. Это может объясняться эффектом размера CNV или взаимодействием вовлеченных в перестройку генов.

В настоящем исследовании моногенные и полигенные CNV обнаружены у 58/419 (14%) и 338/419 (81%) пациентов с РНПР, соответственно. У 23/419 (5%) индивидов были обнаружены комбинации моногенных и полигенных абберраций. Наши данные согласуются с литературными, согласно которым моногенные CNV встречаются у пациентов с РНПР с частотой до 9% [Lindy A.S. et al., 2018]. Стоит отметить, что поиск и описание моногенных абберраций является важным аспектом установления взаимосвязи между вариантом и его ассоциации с определенным фенотипом. Часто абберрации являются полигенными, что усложняет установление гена-кандидата, изменение дозы которого может привести к РНПР. Анализ моногенных CNV может облегчить идентификацию таких генов. Так, например, в работе Chen с коллегами был проведен анализ собственных и литературных данных, а также информации из базы DECIPHER. В результате была собрана информация о 69 пациентах с внутригенной микроделцией *DLG2* (OMIM: 603583). Полученные данные усиливают доказательства об ассоциации внутригенных микроделций *DLG2* с поражениями нервной системы, подтверждают гаплонедостаточность данного гена и указывают на связь микроделций *DLG2* с врожденными аномалиями и/или дисморфиями [Chen Y. et al., 2024].

Таким образом, была обследована крупная выборка ($n = 1417$) пациентов до 18 лет с РНПР. В ходе исследования CNV были обнаружены у 30% пациентов. Патогенные и вероятно патогенные абберрации выявлены у 5% и 3% детей, соответственно. CNV с неопределенной клинической значимостью обнаружены в 19% случаев. Среди идентифицированных абберраций чаще встречались микродупликации, главным образом, представляющие собой варианты с

неопределенной клинической значимостью. Был проведен анализ выявленных aberrаций по происхождению и количеству вовлеченных генов. Показано, что большая часть CNV унаследованы от условно здоровых родителей. Полигенные aberrации встречались чаще, чем моногенные.

3.2 Сравнение частот семей, имеющих ребенка с расстройствами нейropsychического развития, обусловленными CNV, в группах с наличием и отсутствием спонтанных абортов у матери

К настоящему времени опубликованы четыре крупных исследования, в которых выявлена связь между случаями СА у матери и рождением у нее детей с РНПР, СДВГ, ИР, РАС [Paz Levy D. et al., 2019; Wang H. et al., 2020; Ji H. et al., 2021; Jenabi E. et al., 2023]. В настоящем исследовании предполагается, что, кроме заболеваний матери, могут существовать общие генетические факторы, обуславливающие как РНПР, так и СА. Нами была выдвинута 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. CNV, во-первых, выявляются у 12% пациентов с РНПР, 14% СА, а также у 8% плодов с ВПР [Cai M. et al., 2020; Fedotov D.A. et al., 2024; Drozdov G.V. et al., 2025]. Во-вторых, при сравнении CNV между данными группами, обнаруживаются варианты в одних и тех же регионах - del1q21, dup1q21, del3q29, del7q11.23, dup7q11.31, dup8p23.1, del15q11-q13, dup15q13.2-15q13.3, del16p13.11, del22q11.2 [Кашеварова А.А. и др., 2022]. Таким образом, вполне вероятно, что одни и те же CNV при наличии дополнительных генетических, эпигенетических и средовых факторов могут приводить к нарушению развития как в пренатальном, так и постнатальном периодах онтогенеза.

Аберрации, обуславливающие как РНПР, так и остановку эмбрионального развития, вероятно, должны обладать специфическими характеристиками: тип (микроделеция/микродупликация), размер, происхождение, генный состав. Для проверки данной гипотезы была сформирована выборка пациентов с CNV (патогенными, вероятно патогенными и с неопределенной клинической

значимостью) и со сбалансированным кариотипом, матери которых имели не менее двух беременностей (403 семей): 133 семьи, в которых ребенок с РНПР является носителем CNV, и 270 семей с ребенком со сбалансированным кариотипом (Рисунок 15). В ходе исследования было показано, что CNV статистически достоверно чаще встречаются в группе семей с СА, в сравнении с группой без СА ($p = 0,03$).

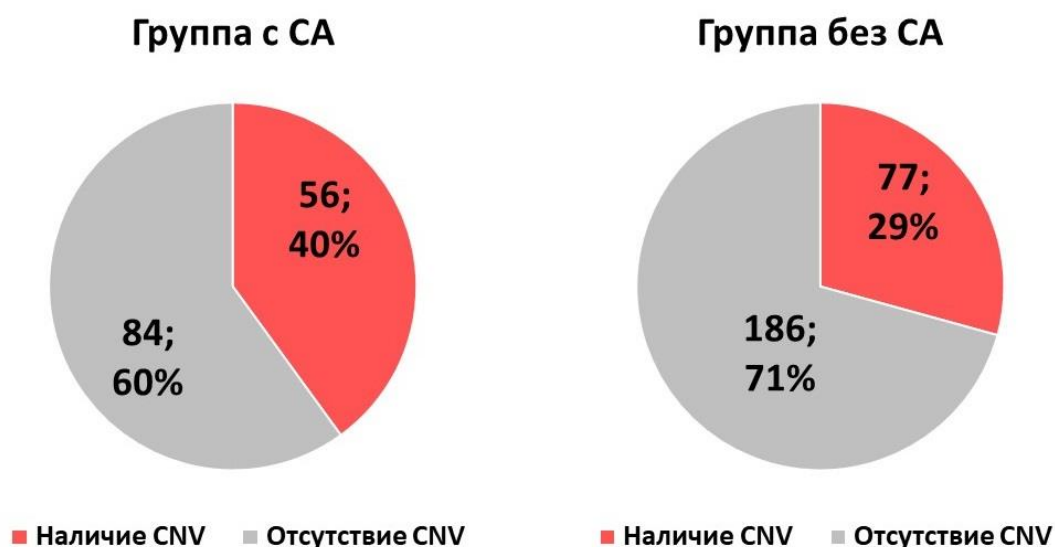


Рисунок 15 – Частоты семей с ребенком с расстройством нейropsychического развития, обусловленным CNV, и наличием и отсутствием случаев спонтанных абортов у матери

Таким образом, данные, полученные в настоящем исследовании, указывают на существование микроделеций и микродупликаций, влияющих как на пренатальное, так и на постнатальное развитие в зависимости от действия дополнительных модифицирующих факторов.

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

Патогенные aberrации, ассоциированные с известными микроделеционными и микродупликационными синдромами, как правило, приводят к множественным ВПР, что, вероятно, увеличивает риск самопроизвольного прерывания

беременности, если плод является носителем такой CNV. Так, в исследовании Cai с соавторами CNV чаще интерпретировались как патогенные у плодов с ВПР, в сравнении с плодами без анатомических дефектов - 21/30 (70%) и 11/27 (41%). В данном исследовании среди патогенных абберраций чаще встречались микроделеции региона 22q11.2 (5 случаев) [Cai M. et al., 2020]. Микроделеция 22q11.2, ассоциированная с синдромом Ди Джорджи (OMIM:188400) и обнаруженная в выборке СА, вероятно, может являться причиной нарушений эмбрионального развития [Maisenbacher M.K. et al., 2017]. Данное предположение основано на значительных отличиях частоты микроделеции 22q11.2 между СА (1/1497) и живорожденными индивидами (1/4000-1/6000) [Botto L.D. et al., 2003; Oskarsdottir S. et al., 2004]. В мета-анализе среди 122 патогенных структурных хромосомных вариантов микроделеция 22q11.2 встречалась чаще всего – 12 случаев (10%) [Drozdov G.V. et al., 2025].

Предполагается связь и других патогенных CNV с репродуктивными потерями. Так, в исследовании Peng с соавторами был оценен риск СА при наличии у эмбриона ряда CNV, ассоциированных с микроделеционными и микродупликационными синдромами. Показано, что риск варьировал от 21% до 50%, при этом чаще с нарушениями эмбриогенеза ассоциированы микродупликации 16p13.11 (OMIM: 613458) и 22q11.21 (OMIM: 608363), а также микроделеции 17p13.3 (OMIM: 247200), 17q12 (OMIM: 614527) и 22q11.21 (OMIM:188400) [Peng G. et al., 2023].

Патогенные CNV также связывают и с мертворождением. В исследовании Workalemahu с соавторами было обследовано 387 мертворожденных. Для aCGH использовалась ДНК, выделенная из клеток плаценты. В случаях, когда плацентарная ДНК была недоступна, для анализа структурного хромосомного дисбаланса использовали пуповинную кровь, фетальные мышцы или печень. Обнаруженные CNV были разделены на две группы. Первая группа – патогенные хромосомные абберрации (включая анеуплоидию) и варианты с неопределенной клинической значимостью. Вторая группа - CNV, размером менее 500 т.п.о, а также варианты, которые были классифицированы как доброкачественные. Показано, что

сосудистые поражения материнской части плаценты чаще встречались у мертворожденных плодов, имеющих варианты, относящиеся к первой группе по сравнению с плодами, у которых были обнаружены CNV второй группы ($p = 0,008$). Авторы также выделили ряд патогенных вариантов, которые могут быть связаны с мертворождением: микроделеции 4q32.3q35.2, 17p13.3, 22q11.21 и микродупликация 16p13.11 [Workalemahu T. et al., 2022]. Учитывая опубликованные сведения, в настоящей работе предполагалось, что группа с СА будет обогащена преимущественно патогенными абберациями, ассоциированными с известными синдромами.

В результате исследования в группе с СА обнаружено 63 CNV: 16 патогенных, 7 вероятно патогенных и 40 вариантов с неопределенной клинической значимостью (Таблица 13).

Таблица 13 – Результат aCGH для пробандов из группы семей со случаями спонтанных абортов

Номер семьи	Результат aCGH(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

Окончание таблицы 13

1	2	3
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
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.

Группа с отсутствием СА включала суммарно 95 структурных хромосомных aberrаций, среди которых 23, 10 и 62 CNV были классифицированы как патогенные, вероятно патогенные и варианты с неопределенной клинической значимостью, соответственно (Таблица А.1 в Приложении). При сравнении частот патогенных вариантов (P-CNV) с вероятно патогенным (LP-CNV) и с неопределенной клинической значимостью (VUS-CNV) у пробандов с РНПР между группами семей с наличием и отсутствием СА, статистически значимых отличий обнаружено не было (Таблица 14).

Таблица 14 – Сравнение частоты патогенных aberrаций с частотами вероятно патогенных CNV и вариантов с неопределенной клинической значимостью

Обследованные пациенты	Группа с СА	Группа без СА	<i>p</i> -value
Пациенты с P-CNV	16/140 (11%)	21/263 (8%)	0,255
Все остальные пациенты	124/140 (89%)	242/263 (92%)	

Статистически значимых отличий не было обнаружено и при сравнении частот патогенетически значимых CNV (патогенные, вероятно патогенные) с aberrациями неопределенной клинической значимости (Таблица 15).

Таблица 15 – Сравнение частоты патогенных и вероятно патогенных CNV с частотой вариантов с неопределенной клинической значимостью

Обследованные пациенты	Группа с СА	Группа без СА	<i>p</i> -value
Пациенты с P-CNV и LP-CNV	23/140 (16%)	30/263 (11%)	0,156
Остальные пациенты	117/140 (84%)	233/263 (89%)	

Таким образом, предполагалось, что патогенные CNV с большей долей вероятности должны приводить не только к рождению ребенка с РНПР, но и к СА у матери в одних и тех же семьях. Однако статистически значимые отличия в отношении клинической значимости выявленных вариантов не обнаружены. Вероятно, влияние одних и тех же aberrаций на пренатальное и постнатальное развитие индивида не является свойством исключительно известных патогенных aberrаций. Большая часть CNV в обеих исследуемых группах была интерпретирована как перестройки с неопределенной клинической значимостью. 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.

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

Очевидно, что для того, чтобы CNV привела и к СА, и рождению ребенка с РНПР в одной и той же семье, вариант должен быть унаследован от одного из родителей. Таким образом, унаследованные варианты чаще должны встречаться в группе с СА, в отличие от группы без случаев эмбриональной гибели. Для проверки данной гипотезы было установлено происхождение CNV при помощи количественной ПЦР в режиме реального времени для пациентов из 21 (группа с СА) и 19 (группа без СА) семей. У одного пациента (из группы без СА) были обнаружены две aberrации разного происхождения – *de novo* и отцовское. Данный пациент (БСА61 в Таблица А.1 в Приложении) был исключен из дальнейших статистических расчетов частоты вариантов относительно происхождения.

CNV, возникшие *de novo*, встречались в группах с наличием и отсутствием СА с частотой 30% и 22%, а унаследованные варианты – 70% и 78%, соответственно. Статистически значимых отличий выявлено не было ($p = 0,608$) (Таблица 16).

Таблица 16 – Сравнение частот *de novo* и унаследованных CNV в группах с наличием и отсутствием спонтанных аборт у матери

Обследованные пациенты	Группа с СА	Группа без СА	<i>p</i> -value
Пациенты с <i>de novo</i> CNV	7/21 (33%)	4/19 (22%)	0,608
Пациенты с унаследованными CNV	14/21 (67%)	15/19 (78%)	

Среди унаследованных CNV обнаруживался ряд различий (Таблица 17). В группе с СА наблюдалось значительное преобладание вариантов материнского происхождения – 10/14 (71%). В группе без СА, напротив, чаще встречались CNV, унаследованные от отца – 8/14 (57%). Тем не менее, статистически значимых отличий при сравнении групп выявлено не было ($p = 0,252$).

У пробандов с РНПР, матери которых имели случаи СА, были обнаружены следующие унаследованные варианты: от матери – del2q13, del7q31.1, dup3q29, dup12q24.12-q24.13, dup12p13.31, dup16q23.1, dup16p11.2, dupXq21.32, dupXq25q26.1, dupXp11.4 и от отца – del3q29, del10q26.3, dup2q23.1, dup21q22.3.

Таблица 17 – Сравнение частот унаследованных CNV в группах с наличием и отсутствием спонтанных аборт у матери

Происхождение CNV	Группа с СА	Группа без СА	<i>p</i> -value
Пациенты с CNV, унаследованными от матери	10/14 (71%)	6/14 (43%)	0,252
Пациенты с CNV, унаследованными от отца	4/14 (29%)	8/14 (57%)	

При этом dup2q23.1, dup3q29 и dup16p11.2 являются патогенетически значимыми, обнаружены у СА по данным литературы и нашим собственным

данным, а также включали гены, ассоциированные с аномалиями эмбриогенеза у мышей – *PCYT1A*, *TFRC*, *UBXN7*, *KIF22*, *PPP4C*, *CDIPT*, *TBX6*, *PAGR1*, согласно MGI. В исследовании Guo с соавторами сообщается об участии продукта гена *MBD5* в регуляции процессов эмбрионального развития и дифференцировки эритроцитов [Guo J. et al., 2024].

Стоит отметить, что в группе с СА нами также были обнаружены некоторые *de novo* варианты, включающие гены, связанные с нарушениями эмбрионального развития – патогенные микроделеции регионов 2q23,1 (ген *MBD5*) и 5q14.3 (*MEF2C*, *MEF2C-AS1*). По данным MGI, ген *MEF2C* ассоциирован с эмбриональной задержкой роста и неполным формированием сомитов.

Известно, что наличие у родителей «скрытых» инверсий, не обнаруживаемых в ходе стандартного кариотипирования, может предрасполагать к появлению CNV в геноме детей. В исследовании Liehr с соавторами для 51 из 81 CNV было определено родительское происхождение, при этом в 36 случаях (36/51, 70,5%) абберация была унаследована от одного из родителей. У 15 пробандов (15/51 (29,5%)) наличие CNV было обусловлено «скрытой» родительской инверсией [Liehr T. et al., 2018]. Одной из инверсий, предрасполагающих к возникновению хромосомного дисбаланса в мейозе, является парацентрическая инверсия 8p23.1. Kashevarova с коллегами описали семью, имеющую ребенка с РНПР (мать данного пробанда имеет СА в анамнезе), у которого по результатам цитогенетического исследования был выявлен кариотип 46,XY,r(8)(p23;q24.3)[27]/45,XY,8[3]. При помощи aCGH у ребенка были обнаружены терминальная делеция 8p23.3p23.1 и интерстициальная дупликация 8p23.1p11.22 размерами 7,9 м.п.о. и 27,1 м.п.о., соответственно. Между делецией и дупликацией находился сегмент с нормальным числом копий, размер которого составил 4,4 м.п.о. Для делеции было определено *de novo* происхождение. С помощью FISH анализа было установлено, что дупликация 8p23.1p11.22 была инвертирована. Анализ SNP показал, что перестроена материнская хромосома 8. Таким образом, было сделано заключение о том, что кольцевая хромосома у ребенка произошла из материнской хромосомы 8 [Kashevarova A.A. et al., 2020].

Кроме того, у одного из родителей может иметь место гонадный мозаицизм, объясняющий рождение ребенка с РНПР, обусловленным, на первый взгляд, *de novo* CNV, и СА в одних и тех же семьях. В исследовании Campbell с соавторами описана семья, в которой трое детей имели микроделецию последних двух экзонов гена *RAI1*. Известно, что микроделеция данного гена является наиболее частой причиной синдрома Смит-Магенис (OMIM: 182290). Примечательно, что у родителей сибсов данная микроделеция обнаружена не была. Однако при использовании в качестве дополнительного метода ПЦР длинных фрагментов было установлено наличие соматического мозаицизма у матери пациентов, а применение цифровой ПЦР привело к обнаружению у нее мутантных аллелей в 25,1% лимфоцитов периферической крови [Campbell I.M. et al., 2014]. Очевидно, что наличие у одного из родителей соматического мозаицизма в пределах одной ткани не может привести к передаче варианта потомству. Вероятно, соматический мозаицизм в некоторых случаях является индикатором гонадного мозаицизма, в результате чего структурная хромосомная aberrация может быть передана потомству.

Таким образом, предполагалось, что в группе семей с СА пробанды чаще будут наследовать патогенетически значимые генетические варианты от родителей. В результате исследования была показана тенденция к преобладанию CNV материнского происхождения в группе с СА, при этом пробанды в группе без СА чаще имели aberrации, 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. В некоторых семьях может обнаруживаться структурный хромосомный вариант *de novo* происхождения. Однако это не указывает на невозможность проявления aberrации в пренатальном или постнатальном периодах развития, особенно, при вовлечении генов, ассоциированных с нарушением эмбриогенеза, а также отвечающих за развитие и функционирование нервной системы.

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

Известно, что потеря генетического материала оказывает более существенное влияние на развитие организма, в отличие от его увеличения. Данное утверждение подкрепляется тем, что моносомии являются геномными аномалиями с очень ранним летальным эффектом. Большая часть моносомий приводят к эмбриональной гибели, за исключением моносомии по хромосоме X, ассоциированной с синдромом Шерешевского-Тернера. Трисомии также могут приводить к нарушениям эмбрионального развития. Например, трисомия хромосомы 16 является самой частой аномалией, которая обнаруживается у СА [Лебедев И.Н. и др., 2022]. Однако в некоторых случаях (например, трисомия 21, обуславливающая синдром Дауна, OMIM: 190685), наличие анеуплоидии может быть ассоциировано с живорождением, но при этом ребенок будет болен. В базе OMIM у пациентов с синдромом Дауна описываются такие фенотипические черты как брахицефалия, низкий рост, наличие ИР, ВПС, аномалии пищеварительной системы и др. Различия в клиническом проявлении также характерны и для разных типов CNV. Микроделеции чаще являются патогенными, чем микродупликации. В результате анализа спектра CNV у пациентов с РНПР по литературным данным показано, что среди 99 P-CNV микроделеций было значительно больше, чем микродупликаций – 62 (63%) и 37 (37%), соответственно [Fedotov D.A. et al., 2024]. В работе Wang с соавторами была исследована крупная выборка СА (n = 5003), в которой среди P-CNV также значительно чаще встречались микроделеции – 45/62 (72,3%) [Wang Y. et al., 2020]. Таким образом, в настоящей работе ожидалось, что пациенты с РНПР, матери которых имеют случаи СА, будут преимущественно включать 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%. Данные отличия являются статистически значимыми ($p = 0,027$) (Таблица 18). Наличие в семье нескольких sibсов с разными CNV, но с

одинаковым направлением изменения копийности, считалось как один случай. Микроделеции, обнаруженные в группах с наличием и отсутствием СА представлены в Таблице 13 и в Таблице А.1 в Приложении.

Таблица 18 – Сравнение частот микроделеций между группами с наличием и отсутствием спонтанных аборт

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

Чтобы оценить, за счет микроделеций с какой клинической значимостью получены различия, был проведен следующий анализ, однако статистически значимые отличия в отношении частоты патогенных, вероятно патогенных микроделеций, а также микроделеций с неопределенной клинической значимостью между пациентами из групп с наличием и отсутствием СА не обнаружены ($p = 0,101$; $p = 0,471$; $p = 0,178$, соответственно) (Таблица 19). При наличии у одного пробанда нескольких CNV с разной клинической значимостью, пациент мог попасть в несколько групп (по клинической значимости) одновременно ($n=2$).

В мета-анализе было показано, что в выборке СА среди общего спектра CNV в значительной степени преобладали микродупликации – 914/1425 (64%), в сравнении с микроделециями 341/1425 (24%). Для остальных вариантов не было данных относительно направления изменения копийности – 170/1425 (12%) [Drozdov G.V. et al., 2025]. Преобладание микродупликаций среди СА может указывать, например, на то, что эмбрионы с микроделециями погибают на ранних этапах развития. Эти данные согласуются с тем, что практически все моносомии являются эмбриолетальными, за исключением моносомии по хромосоме X, которая ассоциирована с живорождением и приводит к синдрому Шерешевского-Тернера.

Таблица 19 – Частоты патогенных, вероятно патогенных микроделеций и микроделеций с неопределенной клинической значимостью в группах с наличием и отсутствием спонтанных аборт

Обследованные индивиды	Группа с СА	Группа без СА	Уровень значимости, p
Пациенты с патогенными микроделециями	10/140 (7%)	8/263 (3%)	0,101
Остальные пациенты	130/140 (91%)	255/263 (97%)	
Пациенты с вероятно патогенными микроделециями	3/140 (2%)	2/263 (1%)	0,471
Остальные пациенты	137/140 (98%)	261/263 (99%)	
Пациенты с микроделециями с неопределенной клинической значимостью	15/140 (11%)	18/263 (7%)	0,178
Остальные пациенты	125/140 (89%)	245/263 (93%)	

Возможно, для обнаружения одних и тех же структурных хромосомных aberrаций, влияющих как на пренатальный, так и на постнатальный периоды развития, следует сконцентрироваться именно на микродупликациях и сравнить их частоту между группами с наличием и отсутствием СА. Однако при таком анализе статистически значимые отличия между группами с наличием и отсутствием СА в отношении частоты микродупликаций выявлены не были (Таблица 20).

Таблица 20 – Частоты микродупликаций и микротрипликаций в группах с наличием и отсутствием спонтанных аборт

Обследованные индивиды	Группа с СА	Группа без СА	Уровень значимости, p
Пациенты только с микродупликациями и микротрипликациями	26/140 (19%)	41/263 (16%)	0,444
Остальные пациенты	114/140 (81%)	222/263 (84%)	

Таким образом, обнаружены статистически значимые отличия в отношении встречаемости пациентов с микроделециями в группах с наличием и отсутствием СА. Однако при более детальном анализе микроделений по клинической значимости между исследуемыми группами отличия не обнаружены. Вероятно, это может быть связано с гетерогенностью спектра CNV в группах с наличием и отсутствием СА.

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

Как уже отмечалось ранее, эмбрионы с анеуплоидиями по большинству хромосом являются нежизнеспособными и погибают на ранних этапах пренатального периода развития. Таким образом, можно предположить, что чем протяженнее CNV, тем выше вероятность ее эмбриолетального эффекта. В настоящем исследовании предполагалось, что в группе семей с СА будет наблюдаться накопление CNV более крупного размера, по сравнению с группой семей без СА. Однако стоит отметить, что в некоторых случаях CNV небольшого размера (в т.ч. моногенные) способны приводить к множественным молекулярным эффектам в клетке, что, вероятно, также может негативно влиять на пренатальное

и постнатальное развитие индивида. Например, снижение дозы гена *MBD5* в результате моногенной микроделеции 2q23.1 приводит к нарушению экспрессии ряда других генов, ассоциированных с заболеваниями: *MECP2* (синдром Ретта, OMIM: 613454), *UBE3A* (синдром Ангельмана, OMIM: 105830), *RAI1* (синдром Смит-Магенис, OMIM: 182290), *MEF2C* (синдром микроделеции 5q14.3, OMIM: 613443), *TCF4* (синдром Питта-Хопкинса, OMIM: 610954) и *FMR1* (синдром Мартина-Белл, OMIM: 300624) [Mullegama S.V. et al., 2015]. В эксперименте на модельной системе нейронов, полученных из ИПСК, было обнаружено, что микродупликация и микроделеция гена *CNTN6* приводят к изменению экспрессии 3522 и 1141 генов, соответственно, по сравнению с клетками без хромосомного дисбаланса [Лопаткина М.Е., 2022].

В ходе данного исследования показано, что частота моногенных и полигенных CNV в группе с СА составила – 9% и 32%, а в группе семей без случаев эмбриональной гибели – 3% и 26%, соответственно. Семьи, имеющие несколько sibсов с разными CNV по количеству вовлеченных генов (моногенные и полигенные), исключались из статистических расчетов.

Таким образом, моногенные aberrации чаще встречались в группе семей с СА ($p = 0,028$) (Таблица 21) и 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 13). Три моногенных aberrации интерпретированы как патогенные (del2q23.1, dup2q23.1, включающие *MBD5*; del7q11.22, включающая *AUTS2*), одна перестройка – вероятно патогенная (dup4q32.3, включающая *SPOCK3*), остальные CNV являлись вариантами с неопределенной клинической значимостью. 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 то, что в норме *AUTS2* способен к его негативной регуляции [Geng Z. et al., 2024]. Известно,

что сигнальный путь WNT/ β -catenin участвует в регуляции раннего эмбрионального развития [Sidrat T. et al., 2021].

Таблица 21 – Сравнение частот моногенных и полигенных CNV между группами с наличием и отсутствием спонтанных аборт

Обследованные пациенты	Группа с СА	Группа без СА	Уровень значимости, p
Пациенты только 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%)	

Размер всех обнаруженных CNV в группе семей с СА находился в диапазоне от 52 т.п.о. (микродупликация 7q34, пациент СА51 в Таблице 13) до 8,4 м.п.о. (микротрипликация региона 15q11.1-q13.1, пациент СА27 в Таблице 13), а в группе семей с отсутствием случаев эмбриональной гибели от 28 т.п.о. (микроделеция 2p11.2, пациент БСА12 в Таблице А.1 в Приложении) до 4.8 м.п.о (микроделеция 2q31.1, пациент БСА1 в Таблице А.1 в Приложении). Распределение всех вариантов в обеих группах отражено на Рисунке 16.

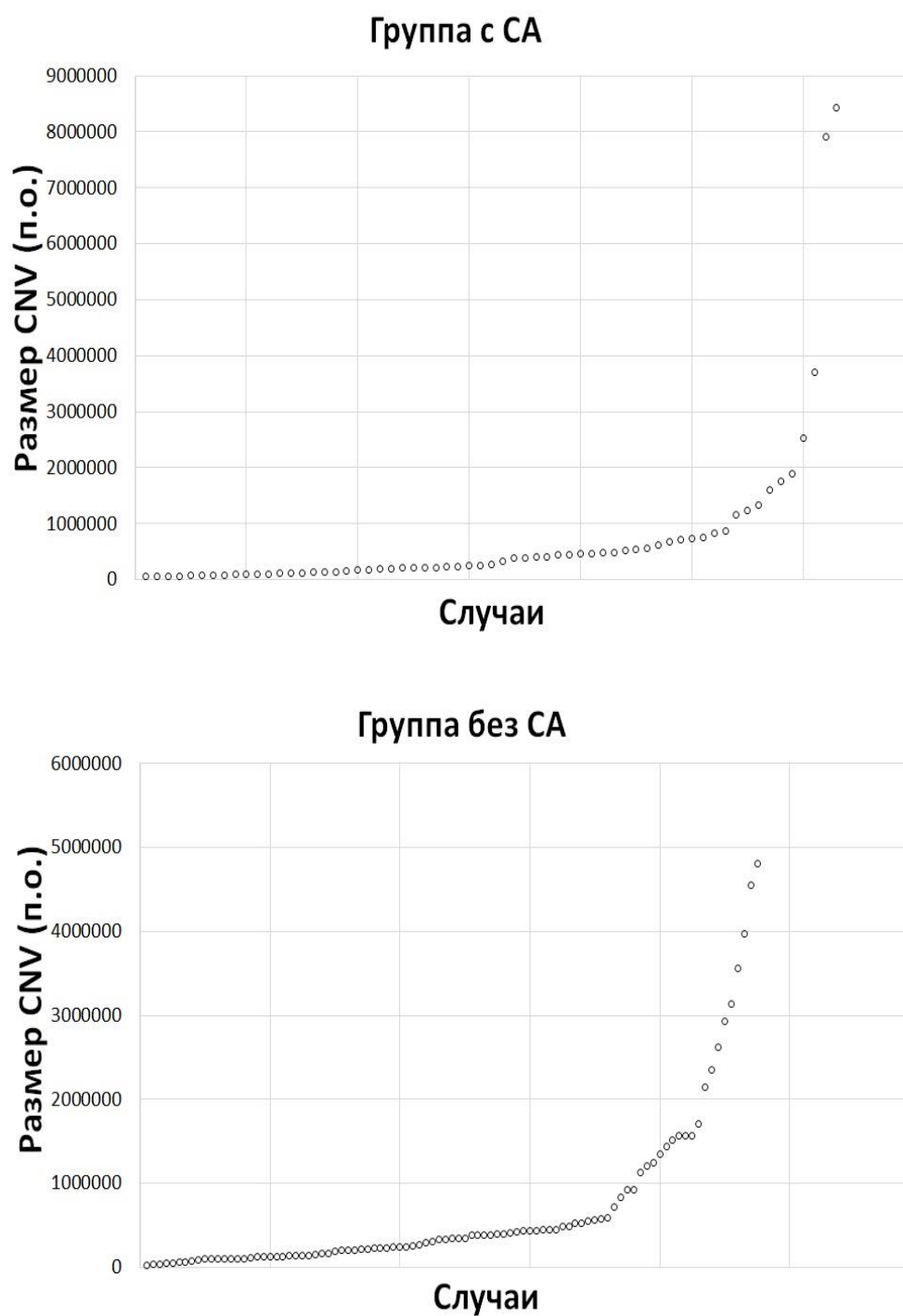


Рисунок 16 – Распределение CNV по размеру в группе семей с наличием и отсутствием спонтанных аборт

При сравнении CNV (с помощью критерия Манна-Уитни) по размеру между группами с наличием и отсутствием СА не было обнаружено статистически значимых отличий (Таблица 22).

Таблица 22 – 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

Примечание: п.о. - пар оснований

Вероятно, отличия при сравнении всех найденных вариантов по размеру между исследуемыми группами не были обнаружены ввиду гетерогенности спектра CNV. При сравнении микроделетий и микродупликаций в отдельности между группами с наличием и отсутствием СА, статистически значимые отличия относительно размера вариантов также показаны не были. Несмотря на отсутствие статистически значимых отличий при сравнении совокупности CNV между исследуемыми группами, обнаруживается, что в группе с наличием СА присутствуют два варианта, размером более 5 м.п.о., в сравнении с группой без СА - микроделеция 10q23.1q23.32 (7,9 м.п.о) (пациент СА3 в Таблице 13) и микротрипликация 15q11.1-q13.1 (8,4 м.п.о.) (пациент СА27 в Таблице 13).

Таким образом, показано, что моногенные CNV достоверно чаще встречаются в группе семей с СА, по сравнению с группой с отсутствием случаев

эмбриональной гибели, указывая на то, что влияние абберрации на пренатальное и постнатальное развитие может быть связано с изменением копийности отдельных генов. Тем не менее, вероятно, полигенные варианты также могут обладать подобным эффектом, обусловленным не только одним определенным геном, но и несколькими генами, ассоциированными с нарушениями на разных этапах онтогенеза.

3.7 Характеристика генного состава CNV в семьях, имеющих ребенка с расстройством нейropsychического развития и наличием или отсутствием спонтанных абортaв 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 того, вероятно, абберрации, обнаруженные у детей с РНПР в семьях с наличием СА, помимо аномалий нервной системы, также должны быть обогащены генами, ассоциированными с нарушениями эмбриогенеза, при условии, что они обусловили эмбриолетальность.

В ходе исследования в группах с наличием и отсутствием СА были обнаружены CNV, суммарно включающие 657 и 787 генов, соответственно. Для каждой из исследуемых групп в отдельности был выполнен анализ обогащения с использованием ресурса Enrichr (онтология «Фенотип млекопитающих»). Результат считался значимым при $p < 0,05$.

Группа с СА включала 30 значимых категорий, среди которых чаще встречались аномалии нервной системы (3), эмбриогенеза (4), сердечно-сосудистой системы (4) и клеточных процессов, таких как аутофагия, эндоцитоз и апоптоз (3) (Таблица 23).

Таблица 23 – Результат анализа обогащения генов, вовлеченных в CNV у пациентов из группы семей со случаями спонтанных аборт

Категории	p-value	Гены
1	2	3
Материнский импринтинг MP:0003122	0,0053	<i>MAGEL2;SNRPN;NDN;MKRN3</i>
Макроцефалия MP:0000434	0,0062	<i>HSD17B2;KCNQ2;PTEN;SMARCA1</i>
Перегиб нервной трубки MP:0003400	0,0076	<i>CYFIP1;HIRA;TFRC;PTEN;HES1;TBX6</i>
Увеличение веса головного мозга MP:0002176	0,0077	<i>WWOX;MBD5;HIRIP3;PTEN;SMARCA1</i>
Аномальная аутофагия MP:0008260	0,0117	<i>MAGEL2;HERC2;OPA1;PMP22;SNAP29</i>
Аномальная скорость кровотока MP:0000233	0,0120	<i>ACTA2;TXNRD2;CDK13</i>
Расширение рострально- каудальной оси тела MP:0003885	0,0120	<i>PAGR1;CYFIP1;AFDN</i>
Судороги в ответ на электрическую стимуляцию MP:0001650	0,0120	<i>HTR7;KCNQ2;CELF4</i>
Нарушение поведения MP:0002557	0,0129	<i>RTN4R;GABRB3;TBX1;EDN3;SEPTIN5</i>
Аномальные токи ГАМК- опосредованных рецепторов MP:0004008	0,0144	<i>GABRB3;GABRA5;CHRFAM7A</i>
Увеличенные пейеровы бляшки MP:0008136	0,0148	<i>PTEN;FAS</i>
Повышенный апоптоз аллантоиса MP:0003891	0,0148	<i>TJP1;PAGR1</i>
Нарушение поведения MP:0003461	0,0151	<i>GABRB3;TBX1;MBD5;ALDH2;TSPAN7;COM T;APBA2</i>
Нарушение обучаемости MP:0012307	0,0171	<i>YTHDF1;ZDHHC9;KCNQ2;TSPAN7;PTEN;D GCR8;TCF4</i>
Повышенный уровень триглицеридов в скелетных мышцах MP:0031415	0,02	<i>PPP1R3C;CDKAL1</i>
Нарушение функции гематоэнцефалического барьера MP:0005167	0,0265	<i>NR3C1;GFAP</i>
Повышенная частота злокачественных опухолей MP:0002018 MP:0002018	0,0265	<i>WWOX;TIAM1;PTEN</i>
Аномальная морфология сердечной мышечной ткани MP:0010630	0,0333	<i>OPA1;MTLN</i>
Аномальный паттерн эфферентной иннервации улитки MP:0004632	0,0333	<i>GABRB3;GABRA5</i>
Аномальный эндоцитоз MP:0030951	0,0333	<i>PLCG2;PTEN</i>
Аномальная форма тромбоцитов MP:0003405	0,0333	<i>AGBL4;RANBP10</i>

Окончание таблицы 23

Паралич конечностей MP:0000756	0,0333	<i>PMP22;CLCN1</i>
Анэнцефалия MP:0001890	0,0342	<i>TIAM1;TRAPPC10;HES1</i>
Повышенная восприимчивость к вирусной инфекции MP:0031024	0,0407	<i>IFIT1;IFIT2</i>
Аномальная морфология кортикальной промежуточной зоны MP:0008457	0,0407	<i>ARHGAP11A;RANBP1</i>
Аномальная морфология скуловой дуги MP:0004469	0,0407	<i>TBX1;CRKL</i>
Отсутствие сегмента задней церебральной артерии MP:0013840	0,0428	<i>PRMT7;AUTS2;PDZK1</i>
Аномалия в электроэнцефалографическом паттерне, регистрируемом в затылочной области, возникающая в ответ на стимуляцию сетчатки MP:0010748	0,0487	<i>OPA1;ENKD1</i>
Снижение апоптоза макрофагов MP:0011081	0,0487	<i>PI4KA;FAS</i>
Сращение тел позвонков MP:0004612	0,0487	<i>TBX1;TBX6</i>

Примечание. Полужирным шрифтом выделены категории, ассоциированные с нарушениями эмбрионального развития

В группе без СА было обнаружено 75 значимых категорий, среди которых чаще встречались аномалии, ассоциированные с поражениями скелета (13), нервной системы (11) и эмбриогенеза (8) (Таблица 24).

Таблица 24 – Результат анализа обогащения для группы с отсутствием спонтанных абортов

Категории	<i>p</i> -value	Гены
1	2	3
Аномальная морфология большого затылочного отверстия MP:0010941	0,0019	<i>IDUA;FGFR3;FGFRL1</i>
Задержка формирования сомитов MP:0003794	0,0030	<i>PAGR1;CYFIP1;NOTCH1;TACC3</i>
Нарушения пространственной рабочей памяти MP:0008428	0,0032	<i>TBX1;GRIN2A;GDI1;ALDH2;DGCR8;RAB39B;ZDHHC7;COMT;GRIN1</i>
Нарушение развития сомитов MP:0009768	0,0038	<i>CYFIP1;TBX6;AKAP17A;PAK2</i>
Увеличенная ширина черепа MP:0000441	0,0047	<i>IDUA;LZTR1;FGFR3;CRKL</i>
Аномальная морфология скуловой дуги MP:0004469	0,0060	<i>TBX1;IDUA;CRKL</i>

Продолжение таблицы 24

1	2	3
Гипоксия МР:0005039	0,0068	<i>ATF2;EGFL7;GRID2;TFRC;COMT</i>
Нарушение движений МР:0005424	0,0070	<i>OCA2;GRID2;PRRT2;HPRT1</i>
Аномальная морфология атланта МР:0004607	0,0078	<i>TBX1;SP3;TBX6;MLLT3;FGFRL1</i>
Отсутствие проамниотической полости МР:0011198	0,0080	<i>HNF1B;TRAIP;LIMS1</i>
Снижение бронхоконстриктивной реакции МР:0012125	0,0080	<i>TRAPPC2;GPSM1;MYH11</i>
Сращение тел позвонков МР:0004612	0,0080	<i>TBX1;NRARP;TBX6</i>
Аномальный размер головы МР:0011496	0,0083	<i>SLC25A1;CDH11;CTNNB1;FGFR3</i>
Аномальная морфология амниотической полости МР:0011199	0,0103	<i>PAGR1;HTT;CEP20</i>
Куполообразный череп МР:0000440	0,0112	<i>DLG1;ULK4;TYRP1;HTT;CTNNB1;WWP 2;FGFR3;FGFRL1</i>
Аномальное окостенение грудины МР:0008277	0,013	<i>NSD2;SP3;MLLT3;FGFR3;FGFRL1</i>
Снижение потребления алкоголя МР:0003546	0,013	<i>ALDH2;MPDZ;GRIN1</i>
Аномальная морфология головы МР:0000432	0,0150	<i>RNF168;HIRA;G6PD;MAZ;HTT;CTNNB 1;AKAP17A</i>
Аномальная морфология слуховых костей МР:0005107	0,016	<i>TBX1;DLX1;DLX2;FGFR3</i>
Уменьшенный размер фарингиальной дуги МР:0006346	0,0159	<i>TBX1;NOTCH1;CTNNB1</i>
Аномальная морфология шейных позвонков МР:0003048	0,0159	<i>TBX1;IDUA;TBX6;MLLT3;FGFR3;FGFR L1</i>
Перегиб нервной трубки МР:0003400	0,017	<i>CYFIP1;HIRA;NOTCH1;TFRC;AKAP1 7A;TBX6</i>
Нарушение синаптической потенциации МР:0001473	0,0180	<i>CALB2;GRIPAP1;MAPK9;GRIN2A; DOC2A;LEPR;CTNNB1;ZDHHC7;PAK2; MAPK3;GRIN1</i>
Сужение эмбриональной- экстраэмбриональной границы МР:0012135	0,019	<i>HIRA;LHX1;HTT</i>
Аномальная морфология митохондрий клеток Пуркинье МР:0014331	0,02	<i>HGSNAT;GRID2</i>
Смертность/старение МР:0010768	0,0210	<i>DDX19B;PDK1</i>
Восстановление исходного фенотипа МР:0003171	0,0210	<i>OCA2;HPRT1</i>
Аномальная форма уха МР:0000022	0,0210	<i>TBX1;HTT</i>
Повышенный апоптоз аллантаоиса МР:0003891	0,0210	<i>PAGR1;G6PD</i>
Гипертелоризм глаз МР:0001300	0,026	<i>IDUA;CTNNB1;FGFR3;CRKL</i>
Нарушение поведения МР:0002557	0,0261	<i>RTN4R;TBX1;MYT1L;SEPTIN5;GRIN1</i>

Продолжение таблицы 24

1	2	3
Аномальная морфология слуховых костей МР:0005106	0,0273	<i>TBX1;DLX2;FGFR3</i>
Аномальная морфология височной кости МР:0005272	0,0273	<i>TBX1;DLX2;FGFR3</i>
Снижение пигментации глаз МР:0005172	0,0273	<i>OCA2;TYRP1;NF1</i>
Повышенная пролиферация гладкомышечных клеток сосудов МР:0031510	0,028	<i>TBX1;MYH11</i>
Нарушение развития передней части головы МР:0030324	0,0285	<i>LHX1;CTNNB1</i>
Аномальная морфология Globus Pallidus МР:0004081	0,0285	<i>CTNNB1;HTT</i>
Аномальная морфология первичных фолликулов лимфатических узлов МР:0002345	0,0285	<i>FUT7;CHST4</i>
Отсутствие волосяных фолликулов МР:0000378	0,0285	<i>EDAR;CTNNB1</i>
Гиперчувствительность МР:0001400	0,0285	<i>HTT;SLC25A12</i>
Пренатальная летальность, полная пенетрантность МР:0011091	0,0285	<i>RANBP2;CYFIP1;OCA2;ATAD5;ATP6AP1;TYRP1;HTT;TRAF2;TBX6;DDX19A;DDX19B;PPP4C;LHX3;TACC3;NF1;FLNA;CTNNB1;GNB1L;IKBK;FGFR3;ENG</i>
Повышенная восприимчивость к отиту МР:0001850	0,0289	<i>TBX1;IDUA;ULK4;CTNNB1</i>
Расщелина лица МР:0008797	0,0292	<i>SLC25A1;PIGN;PCGF3;CTNNB1</i>
Дефект морфологии параксиальной мезодермы МР:0008029	0,0318	<i>HIRA;G6PD;TBX6</i>
Увеличение бета-клеток поджелудочной железы МР:0009113	0,0318	<i>LEPR;HPRT1;AGPAT2</i>
Аномальная активация тимоцитов МР:0003850	0,0367	<i>CDK6;CORO1A;LAT</i>
Внутриядерные включения нейронов МР:0004191	0,037	<i>HTT;HPRT1</i>
Фиброз поджелудочной железы МР:0003334	0,037	<i>HNF1B;LAT</i>
Аномальное развития дентина МР:0030542	0,037	<i>SP3;AGPAT2</i>
Аномальная морфология нейронов МР:0008462	0,037	<i>HTT;SP9</i>
Отсутствие мейбомиевых желез МР:0006236	0,037	<i>EDAR;CTNNB1</i>
Отсутствие метанефроса МР:0011366	0,037	<i>LHX1;FGFRL1</i>
Кальциноз МР:0003195	0,037	<i>NT5E;ABCC6</i>

Окончание таблицы 24

1	2	3
Снижение пролиферации эндотелиальных клеток сосудов MP:0020316	0,037	<i>NRARP;HPRT1</i>
Увеличенная головка сперматозоида MP:0009233	0,037	<i>OCA2;NF1</i>
Увеличение плотности дендритов MP:0020507	0,037	<i>MYT1L;RAB39B</i>
Уменьшенный размер грудной клетки MP:0010103	0,042	<i>XYLT1;FGFR3;FGFRL1</i>
Аномальная морфология нервной системы MP:0000778	0,042	<i>HTT;FBXO45;SEMA3F</i>
Аномальная регрессия сосудов MP:0000364	0,042	<i>FLNA;NRARP;MYH11</i>
Увеличенные желудочки головного мозга MP:0011380	0,045	<i>ATF2;VAC14;ATP6AP1;ULK4; CHN1;FGFRL1</i>
Аномальная морфология среднего мозга MP:0000897	0,046	<i>VAC14;RANBP1;GRID2;INPP5E; HTT</i>
Повышенная восприимчивость к ретровирусной инфекции MP:0020934	0,046	<i>SAMD9L;MST1R</i>
Аномальные NMDA-опосредованные синаптические токи MP:0002888	0,046	<i>GRIN1;MAPK8IP1</i>
Аномальное развитие артерий MP:0003410	0,046	<i>TBX1;ATF2</i>
Мускульный хоботок (при циклопии и эктоцефалии) MP:0006290	0,046	<i>PIGN;CRKL</i>
Аномальная морфология эффекторных Т-клеток MP:0002435	0,046	<i>CORO1A;LAT</i>
Нарушение поведения MP:0010323	0,046	<i>GRID2;PRRT2</i>
Аномальная морфология метанефроса MP:0011364	0,046	<i>NF1;FGFRL1</i>
Уменьшение количества волосковых клеток MP:0004328	0,046	<i>ATF2;AP1G1</i>
Увеличение количества тимоцитов DN3 MP:0010133	0,046	<i>RNF168;CDK6</i>
Снижение легочной вентиляции MP:0005576	0,047	<i>GPSM1;TRAPPC2;LEPR;PHPT1</i>
Фиброз почек MP:0003985	0,0479	<i>NPHP1;LEPR;LAT</i>
Сниженная агрессия MP:0003863	0,0478	<i>GDI1;MYT1L;GRIN1</i>
Аномальная морфология головного мозга MP:0000841	0,049	<i>SLC25A1;GALC;RANBP1;GRID2;INPP5 E</i>
Повышенная двигательная активность MP:0031391	0,049	<i>ABCA2;PRRT2;MYT1L;KCTD13;HTT;ZD HHC7;WDR45;SLC25A12;CSMD1;MAP K3;GRIN1</i>

Примечание. Полужирным шрифтом выделены категории, ассоциированные с нарушениями эмбрионального развития.

При сравнении результатов анализа обогащения между исследуемыми группами установлено, что некоторые категории, ассоциированные с аномалиями пренатального периода развития, встречаются как в группе с наличием СА, так и в группе без случаев эмбриональной гибели – перегиб нервной трубки (MP:0003400) и повышенный апоптоз аллантаиса (MP:0003891). Две аномалии эмбриогенеза из группы с СА не были обнаружены в группе с отсутствием абортивных исходов беременности – расширение роstralно-каудальной оси тела (MP:0003885) и анэнцефалия (MP:0001890). Семь категорий, которые встречались только в группе семей с СА, связаны с дефектами эмбриогенеза – нарушения формирования сомитов (MP:0003794, MP:0009768), аномалии проамниотической и амниотической полостей (MP:0011198, MP:0011199), сужение эмбриональной-экстраэмбриональной границы (MP:0012135) и дефект морфологии параксиальной мезодермы (MP:0008029).

Помимо ассоциации с нарушениями эмбриогенеза, между исследуемыми группами обнаружены различия в отношении некоторых систем органов. Так, варианты из группы с СА обогащены генами, ассоциированными с функциональными и анатомическими дефектами сердечно-сосудистой системы – аномальная скорость кровотока (MP:0000233), нарушение функции гематоэнцефалического барьера (MP:0005167), отсутствие сегмента задней церебральной артерии (MP:0013840) и аномальная морфология сердечной мышечной ткани (MP:0010630). В группе с отсутствием репродуктивных потерь обнаружена только одна категория, связанная с нарушением развития артерий (MP:0003410).

Группа с отсутствием СА, напротив, в значительной степени обогащена генами, связанными с дефектами скелета – аномальная морфология большого затылочного отверстия (MP:0010941), слуховых костей (MP:0005107, MP:0005106), височной кости (MP:0005272), шейных позвонков (MP:0004607, MP:0003048), аномальное окостенение грудины (MP:0008277), увеличение ширины черепа (MP:0000441), куполообразный череп (MP:0000440), нарушение развития дентина (MP:0030542), уменьшенный размер грудной клетки

(MP:0010103). При этом в группе с СА было обнаружено только две категории, связанные с дефектами скелета, данные нарушения встречались и в группе с отсутствием случаев эмбриональной гибели – сращение тел позвонков (MP:0004612) и аномальная морфология скуловой дуги (MP:0004469). Также три аномалии (группа семей с СА) были связаны с дефектами клеточных процессов таких как апоптоз (MP:0011081), эндоцитоз (MP:0030951) и аутофагия (MP:0008260).

Таким образом, в рамках данной работы было выдвинуто предположение о том, что именно в группе семей с СА CNV должны быть обогащены генами, ассоциированными с аномалиями эмбриогенеза, плаценты, иммунной и сердечно-сосудистой систем. Однако показано, что гены, вовлеченные как в эмбриональное развитие, так и в развитие и функционирование иммунной и сердечно-сосудистой систем, представлены в CNV в обеих группах. Наличие aberrаций, включающих гены, ассоциированные с эмбриональным развитием, в группе с отсутствием СА, вероятно, объясняется возможной неполной пенетрантностью вариантов. Кроме этого, исходы последующих беременностей в группе семей с отсутствием СА остаются неизвестными. Возможно, вовлечение в CNV генов, варианты в которых приводят к нарушениям эмбриогенеза, может указывать на риск СА для семей с отсутствием случаев эмбриональной гибели в будущем. Таким образом, для поиска вариантов, ассоциированных с нарушениями пренатального и постнатального периодов развития, необходимо анализировать генный состав каждого варианта в отдельности.

3.8 Клинические случаи пробандов с патогенными и вероятно патогенными CNV, матери которых имеют случаи спонтанных аборт в анамнезе

На заключительном этапе работы был проведен детальный анализ патогенных и вероятно патогенных CNV, которые по опубликованным данным также были обнаружены среди СА, плодов с ВПР и включали гены, ассоциированные с аномалиями эмбриогенеза. По данным литературы наиболее изученной CNV (в отношении влияния на эмбриогенез) является микроделеция

22q11.2, приводящая к синдрому Ди Джорджи (OMIM: 188400) в постнатальном периоде развития [Maisenbacher M.K. et al., 2017]. В контексте настоящего исследования микроделеция 22q11.2 была обнаружена у одного пробанда (пациент СА9 в Таблице 13), мать которого имеет спонтанный аборт в анамнезе (Рисунок 17).

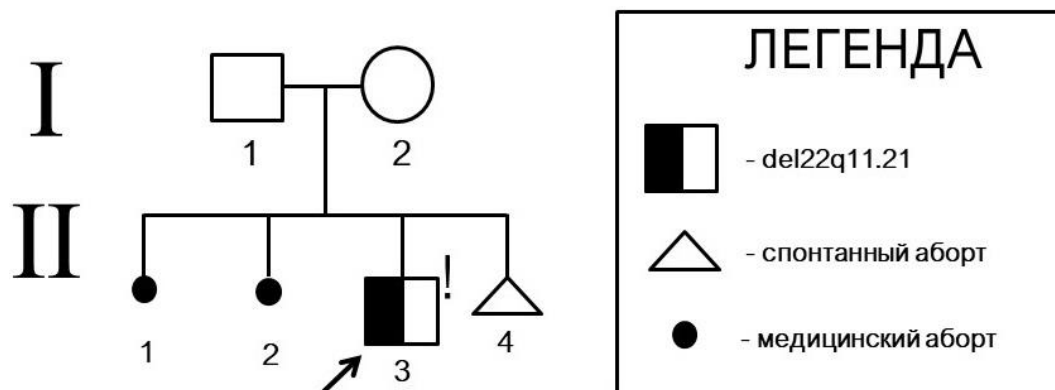


Рисунок 17 – Родословная пробанда с микроделецией 22q11.21

В родильном доме у пробанда были диагностированы ВПС – дефект межжелудочковой перегородки, открытое овальное окно, открытый артериальный проток. Также у пациента наблюдается задержка речевого развития и синдром двигательных нарушений. Обнаруженная патогенная микроделеция имеет размер 2,5 м.п.о. и включает 73 гена, при этом 8 генов являются патогенетически значимыми по базе данных OMIM – *PRODH*, *TBX1*, *COMT*, *GP1BB*, *SCARF2*, *SNAP29*, *SERPIND1*, *RTN4R*. Данная микроделеция была подтверждена при помощи FISH. По причине отсутствия материала родителей анализ происхождения варианта выполнен не был.

Известно, что ген *TBX1* участвует в регуляции миграции, пролиферации и дифференцировки клеток во время формирования сердца [Chapman D.L. et al., 1996; Vitelli F. et al., 2002; Yamagishi H. et al., 2003; Xu H. et al., 2005]. Кандидатные гены расстройства нейropsychического развития у пациентов с микроделецией 22q11.21 – *COMT*, *PRODH*, *ZDHHC8*, *DGCR8* [Gothelf D. et al., 2009]. У описываемого пациента в регионе микроделеции локализовано девять генов (*ESS2*, *SLC25A1*,

HIRA, *CDC45*, *TBX1*, *GNB1L*, *DGCR8*, *RANBP1*, *ZNF74*), ассоциированных с аномалиями эмбриона/плода, четыре – с патологией плаценты (*TBX1*, *COMT*, *RANBP1*, *CRKL*) и четыре - с дефектами нервной системы (*SLC25A1*, *HIRA*, *GNB1L*, *RANBP1*) по данным MGI (Таблица 25).

Таблица 25 – Ассоциация генов региона 22q11.2 (синдром Ди Джорджи) с нарушениями эмбрионального развития согласно Mouse Genome Informatics

Ген	Нарушение эмбриогенеза
1	2
<i>ESS2</i>	Эмбриональная летальность
<i>SLC25A1</i>	Аномальный размер эмбриона
	Эмбриональная задержка роста
	Аномальное развитие плода
	Аномальное закрытие нервной трубки
<i>HIRA</i>	Аномальное развитие плода
	Аномальное осевое вращение плода
	Аномальное развитие мезодермы
	Неспособность к гаструляции
	Аномальное расположение декстро-синистральной оси
	Аномальное расположение ростро-каудальной оси
	Усечение каудальной части тела
	Остановка эмбрионального роста
	Эмбриональная задержка роста
	Уменьшение размера эмбриона
	Аномальная морфология эмбриональных тканей
	Аномальная морфология аксиальной мезодермы
	Аномальная морфология параксиальной мезодермы
	Аномальная морфология мезенхимы головы
	Аномальная морфология нервной пластинки
	Аномальная морфология нервной трубки
	Аномальная морфология эмбрионального нейроэпителия
	Открытая нервная трубка
	Искривленная нервная трубка
	Аномальная морфология хорды
	Аномальная морфология прехордальной пластинки
	Аномальная морфология первичной борозды
	Аномальная форма сомитов
	Уменьшенный размер сомитов
	Неполное формирование сомитов

Окончание таблицы 25

1	2
	Уменьшение эмбрионально-экстраэмбриональной границы
	Аномальная морфология аллантаоиса
	Увеличение аллантаоиса
	Недостаточность хориоаллантаоисного сращения
<i>CDC45</i>	Летальность эмбрионов в период между имплантацией и формированием сомитов
<i>TBX1</i>	Эмбриональная задержка роста
	Уменьшение размера эмбриона
	Аномальная морфология мезенхимы
	Аномальная морфология плаценты
<i>GNB1L</i>	Аномальный размер эмбриона
	Аномальная морфология нервной трубки
<i>COMT</i>	Аномальная сосудистая сеть плаценты
	Аномальная морфология плаценты
<i>DGCR8</i>	Аномальное развитие плода
<i>RANBP1</i>	Аномальная морфология эмбриона
	Аномальный размер эмбриона
	Уменьшение размера эмбриона
	Аномальное закрытие нервной трубки
	Аномальный размер плаценты
<i>ZNF74</i>	Эмбриональная задержка роста
<i>CRKL</i>	Аномальная морфология плаценты

При сравнении микроделений региона 22q11.2, обнаруженных в исследовании Maisenbacher, и микроделеции пациента СА9 в Таблице 13, можно выделить минимальный пересекающийся регион, который содержит один ген - *SCARF2* [Maisenbacher M.K. et al., 2017]. Ген *SCARF2* связан с аутосомно-рецессивным синдромом Ван ден Энде-Гупта (OMIM: 600920). Клинические признаки данного синдрома включают арахнодактилию, треугольное лицо, гипоплазию скуловой кости и другие лицевые дисморфии, а также скелетные аномалии [Patel N. et al., 2014].

Известно, что микроделеция 22q11.2 встречается чаще у СА, по сравнению с живорожденными индивидами – 1/1497 и 1/4000-6000, соответственно [Botto L.D.

et al., 2003; Oskarsdottir S. et al., 2004]. В пренатальных когортах и у мертворожденных данная абберрация встречается значительно чаще – от 1/233 до 1/946 [Reddy U.M. et al., 2012; Shaffer L.G. et al., 2012; Wapner R.J. et al., 2012; Grati F.R. et al., 2015; Gross S.J. et al., 2016]. Вероятно, микроделеция 22q11.21 может быть ассоциирована не только с дефектами нервной, сердечно-сосудистой и иммунной систем, но также и быть причиной СА. Известно, что смертность младенцев с микроделецией 22q11.2 в 87% случаев связана с пороками сердца [McDonald-McGinn D.M. et al., 2015]. Некоторые гены, локализованные в регионе 22q11.21, по данным MGI, связаны с аномалиями плаценты (*TBX1*, *COMT*, *RANBP1*, *CRKL*), которая является ключевым органом, обеспечивающим развитие эмбриона. Показано, что наиболее частым патологическим признаком при СА являются патологические изменения ворсин хориона (757 случаев; 86,2%), тогда как при мертворождении имеет место уменьшение размера плаценты (128 случаев; 33,9%) [Thompson B.B. et al., 2024].

Кроме патогенной микроделеции 22q11.21 у пациентов с РНПР и CNV, матери которых имели СА в анамнезе, были обнаружены другие абберрации, включающие гены, которые значимы не только в отношении развития и функционирования нервной системы, но также и для эмбриогенеза, что показано в экспериментах на мышах. Например, к врачу-генетику в Медико-генетический центр НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ обратилась семья с ребенком девяти лет (II-4, Рисунок 18) (пациент СА26 в Таблице 13) с жалобами на задержку психического и речевого развития, гиперактивность, аутоагрессию и судорожный синдром. При этом мать пациента имеет четыре абортных исхода беременности: антенатальную гибель плода и три СА.

В результате стандартного метафазного анализа у пробанда был выявлен нормальный кариотип – 46,XY. Затем с помощью молекулярного кариотипирования методом aCGH была обнаружена патогенная CNV – микродупликация региона 2q23.1 размером 260,6 т.п.о., включающая экзоны 4-13 единственного гена *MBD5*.

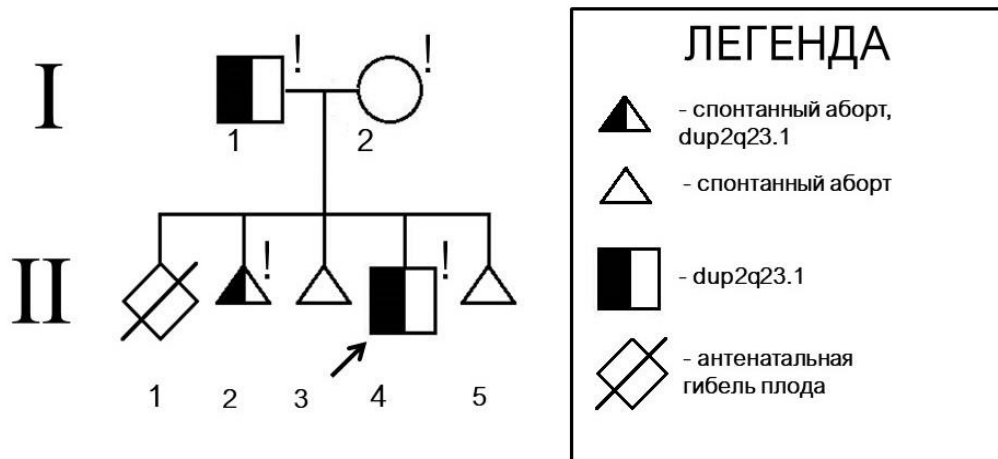


Рисунок 18 – Родословная семьи пробанда с микродупликацией региона 2q23.1

Показано, что данный вариант был унаследован ребенком от условно здорового отца, имеющего высшее техническое образование. Для исследования был доступен материал только одного СА (II-2) (Рисунок 18) с нормальным кариотипом по результатам стандартного метафазного анализа, у которого данная микродупликация также была зарегистрирована (Рисунок 19).

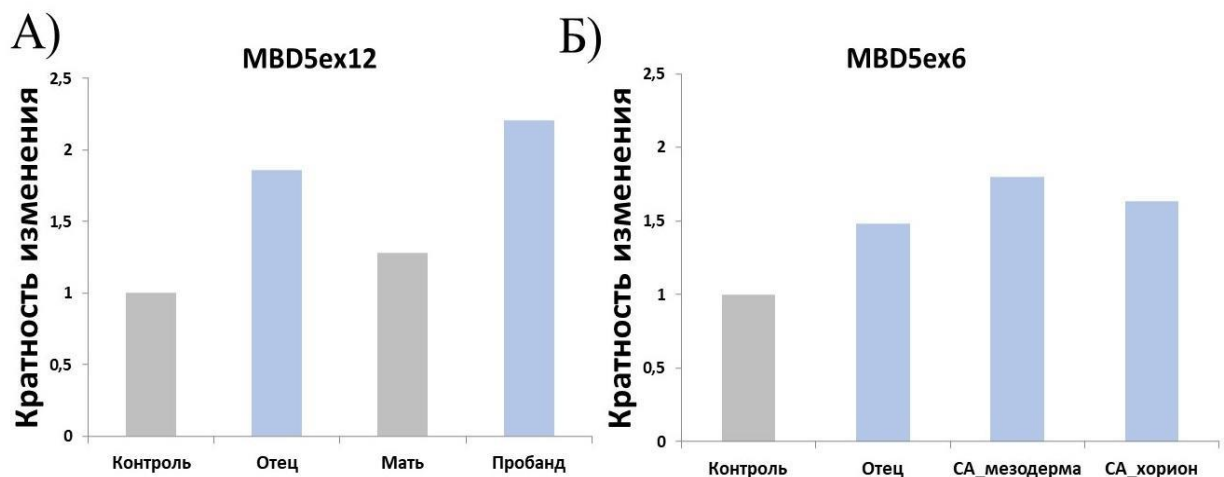


Рисунок 19 – А) анализ происхождения микродупликации региона 2q23.1 у пробанда (II-4); Б) верификация микродупликации 2q23.1 у СА (II-2)

Известно, что ген *MBD5* является дозозависимым [DECIPHER]. По данным базы OMIM, варианты данного гена (однонуклеотидные замены, микроделеции и

микродупликации) приводят к нарушениям интеллекта с аутосомно-доминантным типом наследования (OMIM: 156200). При обращении к базе DECIPHER были обнаружены три пациента с моногенной микродупликацией 2q23.1 (*MBD5*) – №284339, №517825, №263368. На сегодняшний момент времени в литературе есть сообщение о семи пациентах с РНПР, имеющих различные микродупликации 2q23.1 (внутригенные, со стороны 5'- или 3'-конца), но затрагивающие только часть гена *MBD5* [Bonnet C. et al., 2013; Mullegama S.V. et al., 2014; Myers K.A. et al., 2021]. Опубликовано два сообщения о повышении уровня экспрессии гена *MBD5* при его частичной и полной микродупликации [Bonnet C. et al., 2013; Mullegama S.V. et al., 2014]. Bonnet с соавторами показали увеличение уровня экспрессии данного гена у пациента с микродупликацией экзонов 9-12 гена *MBD5*, что пересекается с координатами микродупликации региона 2q23.1 пациента СА26 в Таблице 13 [Bonnet C. et al., 2013]. По данным Newman с коллегами, большая часть микродупликаций является тандемными [Newman S. et al., 2015]. Согласно рекомендациям ACMG по интерпретации клинической значимости моногенных CNV, внутригенным микродупликациям с предполагаемой тандемной локализацией присваивается «средний» критерий патогенности – РМ4 [Brandt T. et al., 2020]. Учитывая дозозависимость гена *MBD5* и его связь с патологическим фенотипом, микродупликация региона 2q23.1 была классифицирована как патогенная.

В составе белкового продукта гена *MBD5* имеется 2 домена: MBD, необходимый для взаимодействия метил-СpG-связывающего белка специфически с метилированной ДНК, и PWWP, встречающийся во многих белках, участвующих в делении, росте и дифференцировке клеток. В экспериментах на мышах описывается роль гена *MBD5* в регуляции роста, гомеостаза глюкозы, метаболизма железа и поведения [Du et al., 2012; Camarena V. et al., 2014; Tao Y. et al., 2014]. Кроме этого, Guo с соавторами сообщают об участии MBD5 в регуляции процессов эмбрионального развития и дифференцировки эритроцитов [Guo J. et al., 2024]. В то же время, известно, что MBD5 взаимодействует с комплексом Polycomb (PR-DUP), который у млекопитающих катализирует деубиквитинирование гистона

H2A по лизину в положении 119. Данный комплекс включает белки BAP1, ASXL1/2, KDM1B, FOXK1/2 и HCFC1 [Sowa M.E et al., 2009; Yu et al., 2010; Dey A. et al., 2012]. Согласно MGI, варианты в генах *BAP1* и *HCFC1* ассоциированы с аномалиями эмбрионального развития.

Показано, что микроделеция гена *MBD5* приводит к изменению экспрессии генов *MECP2* (синдром Ретта, OMIM: 613454), *UBE3A* (синдром Ангельмана, OMIM: 105830), *RAI1* (синдром Смит-Магенис, OMIM: 182290), *MEF2C* (синдром микроделеции 5q14.3, OMIM: 613443), *TCF4* (синдром Питта-Хопкинса, OMIM: 610954) и *FMR1* (синдром Мартина-Белл, OMIM: 300624) [Mullegama S.V. et al., 2015]. По данным MGI, гены *FOXG1* и *MEF2C* связаны с нарушениями эмбриогенеза. В литературе опубликованы исследования, в которых сообщается о связи между экспансией тринуклеотидных повторов в гене *FMR1* и случаями СА [Ma Y. et al., 2019; Dean D.D. et al., 2019]. Shao с соавторами провели исследование спектра CNV у 577 СА. В результате анализа белок-белковых взаимодействий дозочувствительных генов, вовлеченных в aberrации у СА, авторы сообщают о возможной ассоциации некоторых генов, включая *UBE3A*, с нарушениями эмбриогенеза [Shao Y. et al., 2024].

Помимо пробандов с микроделецией 22q11.2 и микродупликацией 2q23.1, в настоящем исследовании была обнаружена микроделеция 7q11.22 у неродственных пациентов женского пола, матери которых имеют один случай СА в акушерско-гинекологическом анамнезе. Обе девочки имеют интеллектуальные нарушения. Как у первого, так и у второго пробанда микроделеция 7q11.22 затрагивает часть гена *AUTS2*. У пациенток СА12.1 и СА55 (Таблица 13) в структурный хромосомный вариант вовлечены экзоны 6 и 3-6, соответственно. Для пациента СА55 был доступен материал родителей. Установлено, что микроделеция 7q11.22 у ребенка возникла *de novo*. Для семьи пробанда СА12.1 материал родителей был недоступен, происхождение CNV установить не удалось. База DECIPHER содержит информацию о гаплонедостаточности данного гена. CNV в гене *AUTS2* ассоциированы с интеллектуальными нарушениями с аутосомно-доминантным типом наследования (OMIM: 615834). По данным литературы,

нарушение структуры гена *AUTS2* может проявляться задержкой развития, нарушениями интеллекта различной степени и микроцефалией [Talkowski M.E. et al., 2012; Oksenberg N. et al., 2013; Beunders G. et al., 2016]. Продукт данного гена является частью белкового комплекса Polycomb 1, который принимает участие в модификации хроматина, отрицательно регулируя экспрессию ряда других генов [Gao Z. et al., 2012; Gao Z. et al., 2014]. При этом *AUTS2* изменяет репрессивную функцию Polycomb, делая его активатором транскрипции, что приводит к изменению экспрессии генов в ЦНС [Gao Z. et al., 2014; Liu S. et al., 2021]. Geng с соавторами получили церебральные органоиды с микроделецией гена *AUTS2*, для которых был проведен транскриптомный анализ. Установлено, что микроделеция *AUTS2* приводила к уменьшению популяции клеток нейрональной линии и избытку клеток, напоминающих по транскрипционному профилю клетки хороидного сплетения [Geng Z. et al., 2024]. Кроме этого, в исследовании было показано, что микроделеция *AUTS2* приводит к активации сигнального пути WNT/ β -catenin, что указывает на то, что в норме *AUTS2* способен к его негативной регуляции [Geng Z. et al., 2024]. Известно, что сигнальный путь WNT/ β -catenin участвует в регуляции раннего эмбрионального развития [Sidrat T. et al., 2021]. Вероятно, данная микроделеция может быть связана с нарушениями пренатального развития у человека. *De novo* происхождение данной CNV у одной из исследуемых семей вовсе не указывает на ее неспособность влиять на эмбриогенез.

В группе семей с СА у одного из пробандов была обнаружена патогенная микродупликация региона 16p11.2 (пациент СА28 в Таблице 13). Пациент в возрасте пяти лет (на момент обследования) имел задержку психо-речевого и моторного развития, микроцефалию, гипогонадизм, стигмы дизэмбриогенеза. Родился от 3-ей беременности. Первая беременность закончилась рождением здорового ребенка, вторая – спонтанным абортom (Рисунок 20).

По результатам цитогенетического исследования (кариотипирования) лимфоцитов периферической крови у пациента выявлен кариотип: 46,XY – нормальный мужской хромосомный набор. При проведении aCGH был обнаружен

патогенный вариант – микроудупликация 16p11.2, протяженность которой составляет 525 т.п.о.

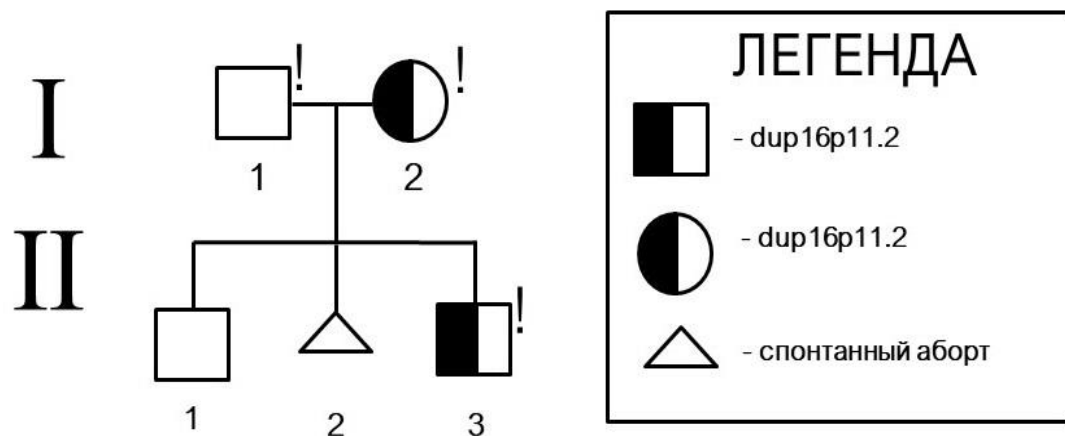


Рисунок 20 – Родословная семьи с ребенком с микроудупликацией 16p11.2

С помощью количественной ПЦР в режиме реального времени было установлено, что данная микроудупликация была унаследована пробандом от матери (Рисунок 21).

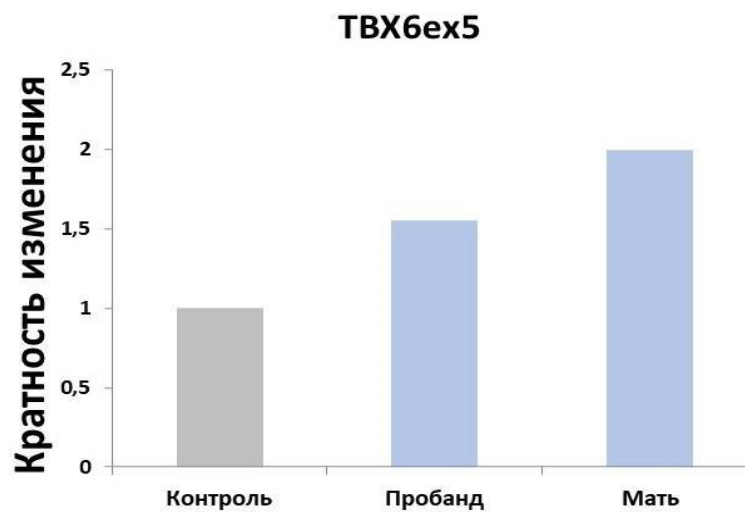


Рисунок 21 – Анализ происхождения микроудупликации региона 16p11.2

Микроудупликация у пациента пересекается с областью синдрома микроудупликации 16p11.2 (OMIM: 614671). В данном регионе локализовано 29 генов - *SPN*, *QPRT*, *ZG16*, *KIF22*, *MAZ*, *PRRT2*, *PAGR1*, *MVP*, *CDIPT*, *SEZ6L2*, *KCTD13*, *TAOK2*, *HIRIP3*, *DOC2A*, *FAM57B*, *ALDOA*, *PPP4C*, *TBX6*, *YPEL3*,

GDPD3, MAPK3, CORO1A, C16orf54, CDIPT-AS1, ASPHD1, TMEM219, INO80E, C16orf92, LOC101928595.

По данным литературы, варианты в гене *PRRT2* описаны у пациентов с пароксизмальной дискенезией [Chen W. J. et al., 2011]. Микроделеция региона 16p11.2, размером 188 т.п.о, включающая гены *MVP, CDIPT, SEZ6L2, ASPHD1* и *KCTD13*, обнаружена у пациентов с PAC [Crepel A. et al., 2011]. В экспериментах на рыбах *Danio rerio* и мышах показано, что снижение уровня экспрессии *KCTD13* приводит к макроцефалии, тогда как сверхэкспрессия данного гена, наоборот, ассоциирована с микроцефалией [Golzio C. et al., 2012]. Согласно базе MGI, гены *QPRT, DOC2A, SEZ6L2, PRRT2, MAPK3, KCTD13* ассоциированы с нарушениями нервной системы. Варианты в генах *KIF22, PPP4C, CDIPT, TBX6, PAGR1* связаны с аномалиями морфологии и развития эмбриона, а также с эмбриональной летальностью (Таблица 26).

Таблица 26 – Ассоциация генов, вовлеченных в микродупликацию региона 16p11.2, с аномалиями эмбриогенеза по данным Mouse Genome Informatics

Ген	Нарушение эмбриогенеза
1	2
<i>KIF22</i>	аномальное развитие эмбриона
	эмбриональная летальность до имплантации
<i>PPP4C</i>	эмбриональная летальность при органогенезе, полная пенетрантность
<i>CDIPT</i>	эмбриональная летальность до органогенеза
<i>TBX6</i>	эмбриональная летальность при органогенезе, полная пенетрантность
	аномальное направление поворота эмбриона
<i>PAGR1</i>	аномальная морфология амниона
	аномальная морфология хориона
	аномальная морфология экстраэмбриональной эктодермы
	эмбриональная летальность при органогенезе, полная пенетрантность
	уменьшение размера эмбриона

При анализе литературных данных были обнаружены два СА: один с микроделецией, размером превосходящей перестройку пациента СА28 в Таблице

13, а второй СА с микродупликацией, включающей аналогичный список генов, что и CNV у данного пациента [Li S. et al., 2021] (Рисунок 22).

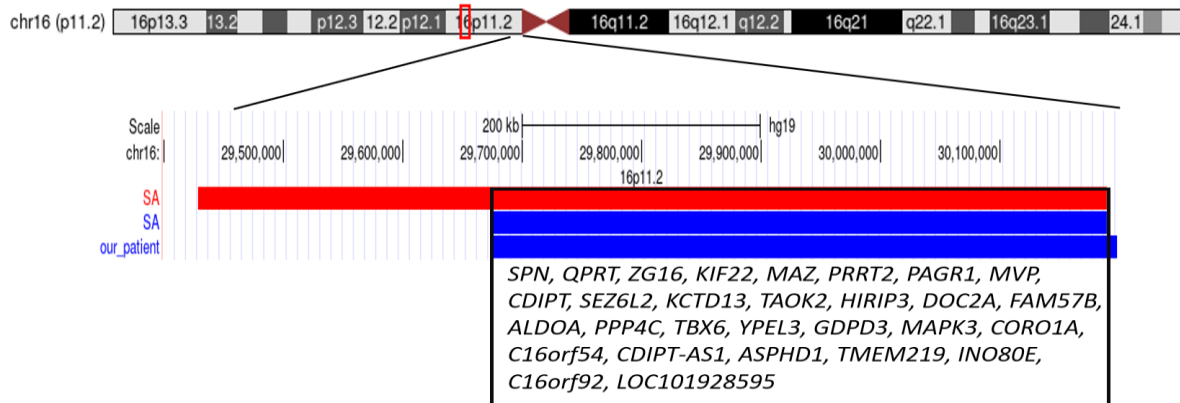


Рисунок 22 – Карта CNV в регионе 16p11.2, обнаруженных у пациента с расстройствами нейропсихического развития и у спонтанных аборт

Примечание: красный цвет – микроделеция, синий цвет – микродупликация.

Черным прямоугольником выделен минимальный пересекающийся регион

Микродупликация 3q29 у двух sibсов-близнецов (с одинаковыми точками разрывов) (CA29.1 и CA29.2 в Таблице 13), мать которых имеет один спонтанный аборт, была интерпретирована как вероятно патогенная. У обеих девочек (пять лет на момент обследования) диагностированы задержка психо-речевого развития, отсутствие контакта с окружающими, стереотипные движения, периодические истерики. Пациентки родились от второй беременности (Рисунок 23).

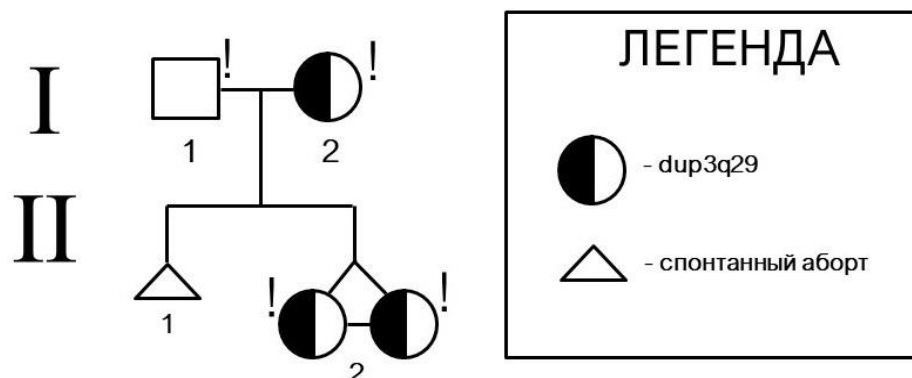


Рисунок 23 – Родословная семьи с детьми с микродупликацией региона 3q29

По результатам цитогенетического исследования (кариотипирования) лимфоцитов периферической крови обе девочки имеют нормальный женский хромосомный набор - 46,XX. При обследовании методом aCGH у обеих девочек выявлен вероятно патогенный вариант – микродупликация 3q29, протяженность которой составляет 486 т.п.о. (Рисунок 24).

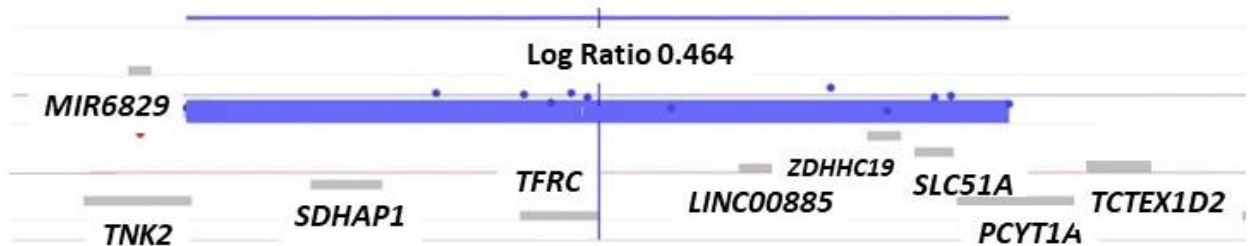


Рисунок 24 – Результат aCGH пробандов с микродупликацией 3q29

С помощью количественной ПЦР в режиме реального времени установлено, что данная микродупликация унаследована sibсами от условно здоровой матери (Рисунок 25).

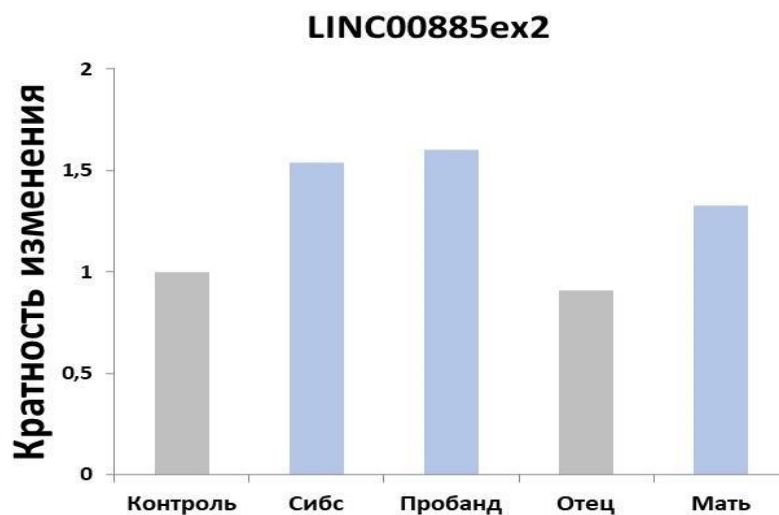


Рисунок 25 – Анализ происхождения микродупликации региона 3q29

В регионе микродупликации 3q29 локализовано 13 генов (*TNK2*, *TFRC*, *SLC51A*, *PCYT1A*, *TNK2-AS1*, *TCTEX1D2*, *SDHAP1*, *LINC00885*, *ZDHHC19*, *UBXN7*, *TM4SF19-TCTEX1D2*, *TM4SF19-AS1*). Область CNV пересекается с областью синдромов микроделеции и микродупликации 3q29 (OMIM: 609425; OMIM:

611936). Продукт гена *TNK2* кодирует тирозинкиназу, имеющую высокий уровень экспрессии в головном мозге [Hitomi Y. et al., 2013]. Гомозиготный миссенс вариант данного гена был обнаружен у трех sibсов с эпилепсией и ИР в одной семье [Hitomi Y. et al., 2013]. По данным MGI, варианты в генах *PCYT1A*, *TFRC*, *UBXN7* ассоциированы с нарушениями эмбрионального развития (Таблица 27).

Таблица 27 – Ассоциация генов, вовлеченных в микродупликацию региона 3q29, с аномалиями эмбрионального развития, согласно Mouse Genome Informatics

Ген	Нарушение эмбриогенеза
1	2
<i>PCYT1A</i>	аномальное преимплантационное развитие эмбриона
	отсутствие бластоцели
	задержка эмбрионального роста
	эмбриональная летальность до имплантации (полная пенетрантность)
	нарушение имплантации эмбриона
<i>TFRC</i>	эмбриональная летальность
	аномальная морфология эмбриональных эритроцитов
	патологический эмбриональный эритропоэз
	некроз тканей эмбриона
	задержка эмбрионального развития
<i>UBXN7</i>	аномальный размер эмбриона
	задержка эмбрионального развития

Ранее были опубликованы работы, в которых микродупликация региона 3q29, пересекающаяся по координатам с CNV у описываемых пациентов, была обнаружена у одного СА, а также плода с ВПР [Wang Y. et al., 2020; Cayan A.G.,

Dyer L.M., 2020]. Минимальный пересекающийся регион включает девять генов, в том числе *PCYT1A*, *TFRC*, *UBXN7* (Рисунок 26).

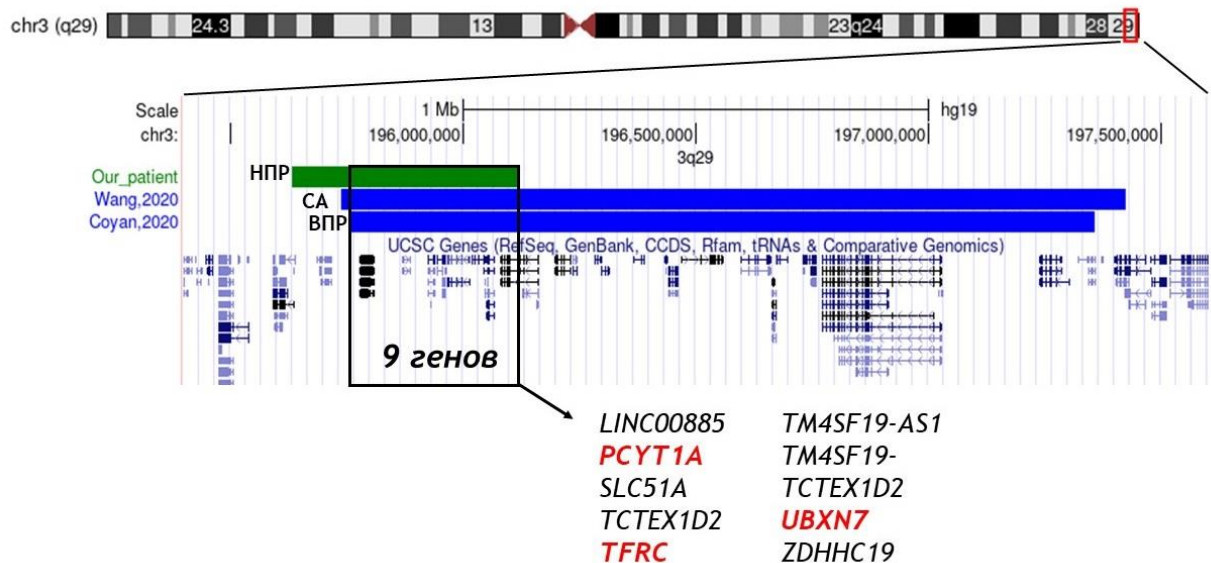


Рисунок 26 – Карта микродупликаций региона 3q29, обнаруженных у sibсов с расстройствами нейropsychического развития, спонтанного аборта и плода с врожденными пороками развития

Примечание: синий цвет – микродупликации по литературным данным, зеленый цвет – микродупликация у пациентов CA29.1 и CA29.2 в Таблице 13. Черным прямоугольником выделен минимальный пересекающийся регион. Красным цветом отмечены гены, варианты в которых ассоциированы с аномалиями эмбриогенеза.

Таким образом, результаты исследования указывают на вероятную связь CNV, проявляющихся РНПР, с нарушениями эмбриогенеза. Концентрируясь на патогенных и вероятно патогенных вариантах, был обнаружен и подробно описан ряд унаследованных патогенетически значимых CNV – микродупликации регионов 2q23.1, 3q29 и 16p11.2, которые, вероятно, могут объяснить рождение детей с РНПР и случаи СА в одних и тех же семьях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С появлением молекулярно-генетических методов исследования представления относительно генетических причин заболеваний значительно расширились. Развитие технологий привело к описанию нового типа структурного хромосомного дисбаланса – CNV, которые могут приводить к различным заболеваниям, в том числе, к расстройствам нейropsychического развития (РНПР). Опубликовано множество работ, посвященных поиску и анализу патогенетически значимых CNV у пациентов с РНПР [Iourov I.Y. et al., 2012; Ворсанова С.Г. и др., 2013; 2017; 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]. Кроме того, поиск патогенетически значимых CNV активно ведется в материале спонтанных аборт (СА), плодов с врожденными пороками развития и при мертворождениях [Cai M. et al., 2020; Finley J. et al., 2022; Workalemahu T. et al., 2022; Shao Y. et al., 2024; Dai Y.F. et al., 2024]. Несмотря на большое количество исследований, на сегодняшний день, не обнаружено ни одной исключительно эмбриолетальной микроделеции или микродупликации. Все выявленные в пренатальном периоде развития варианты встречаются и постнатально у здоровых или больных индивидов.

Примечательно, что в мировой литературе опубликованы работы, результаты которых указывают на существование связи 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]. Известно о различных патологиях (аномалии плаценты, сердечно-сосудистые и аутоиммунные заболевания матери), которые могут приводить к двум указанным исходам, однако молекулярные причины такой ассоциации неизвестны [Rand J.H. et al., 1997; Tamblyn J.A. et al., 2013; 2013; Parikh et al., 2016; Grimstad F. et al., 2016]. Вероятно, существуют и генетические факторы, которые могут приводить к нарушению раннего эмбрионального развития в одних случаях и к РНПР в детском возрасте в других. Мы предположили, что одним из таких факторов могут выступать вариации числа копий участков ДНК (CNV).

Настоящее исследование включало 1417 пациентов с РНПР, которые были обследованы с помощью aCGH. CNV обнаружены у 30% пробандов, что сопоставимо с литературными данными, согласно которым частота данного типа aberrаций варьирует от 7,1% до 40% среди пациентов с РНПР [Firouzabadi S.G. et al., 2017; Zarrei M. et al., 2019; Baccarin M. et al., 2020; Chehbani F. et al., 2022]. Установлено, что патогенные, вероятно патогенные CNV и варианты с неопределенной клинической значимостью встречаются у 5%, 3% и 19% пробандов, соответственно. Согласно мета-анализу частота данных вариантов составляет 3%, 2% и 7%, соответственно [Fedotov D.A. et al., 2024].

Для проверки основной гипотезы настоящего исследования 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 из основной выборки были отобраны 403 семьи с известным акушерским анамнезом – с наличием СА ($n = 140$) и без случаев эмбриональной гибели ($n = 263$). Впервые было показано, что CNV статистически достоверно чаще встречаются в группе семей с СА, в сравнении с группой без abortивных исходов беременности – 40% и 29%, соответственно ($p = 0,03$). Данный результат указывает на существование CNV, которые могут влиять как на пренатальный, так и на постнатальный периоды онтогенеза. Обнаруженная ассоциация подтверждается наблюдениями того, что одни и те же CNV встречаются как постнатально у пациентов с РНПР, так и в пренатальном периоде развития – у СА и плодов с ВПР. Примерами таких CNV могут быть патогенные варианты, ассоциированные с известными микроделеционными и микродупликационными синдромами, проявляющимися различными РНПР (ИР, РАС, СДВГ) – $del1q21$, $dup1q21$, $del3q29$, $del7q11.23$, $dup7q11.31$, $dup8p23.1$, $del15q11-q13$, $dup15q13.2-15q13.3$, $del16p13.11$, $del22q11.2$ [Кашеварова А.А. и др., 2022]. Вероятно, CNV, влияющие как на постнатальный период развития, так и на пренатальный, должны иметь специфические характеристики в отношении клинической значимости, происхождения, копийности, а также размера и генного состава. На следующем этапе исследования

был проведен сравнительный анализ данных параметров CNV между группами с СА и без случаев эмбриональной гибели.

Впервые было показано, что микроделеции статистически достоверно чаще встречаются в группе с СА, в сравнении с отсутствием СА – 19% и 11%, соответственно ($p = 0,027$). Данный результат согласуется с тем, что потеря генетической информации может оказывать более значительный эффект на индивидуальное развитие.

В ходе работы установлено, что моногенные CNV достоверно чаще встречаются в группе с наличием СА, в сравнении с группой с отсутствием случаев эмбриональной гибели - 9% и 3%, соответственно ($p = 0,028$). Данный результат является неожиданным, поскольку предполагалось, что именно полигенные CNV, затрагивая разные гены, с большей долей вероятности способны влиять на пренатальный и постнатальный периоды развития. Полученный же в данной работе результат указывает на существование генов, изменение копийности которых может быть критично для разных этапов онтогенеза. Так, известно, что некоторые моногенные CNV способны индуцировать множественные молекулярные эффекты в клетке. Ранее было показано, что микродупликация и микроделеция гена *CNTN6* приводят к изменению экспрессии 3522 и 1141 генов, соответственно, в сравнении с клетками без CNV [Лопаткина М.Е., 2022].

При сравнении групп по клинической значимости CNV было показано, что патогенные варианты встречались в обеих группах с сопоставимой частотой – 11% (с СА) и 8% (без СА) ($p = 0,255$). Известно, что патогенные CNV, ассоциированные с микроделеционными и микродупликационными синдромами, способны приводить к ВПР, что, вероятно, увеличивает риск СА, если плод является носителем такой CNV. Однако в настоящем исследовании не обнаружено повышенной частоты патогенных структурных хромосомных aberrаций в группе семей с СА.

Для пробандов было определено происхождение патогенетически значимых вариантов с помощью количественной ПЦР в режиме реального времени. Было выдвинуто предположение о том, что CNV должна быть унаследованной, чтобы

привести к рождению ребенка с РНПР и случаю СА в одной и той же семье. Примечательно, что при сравнении CNV материнского и отцовского происхождения в группе с наличием СА обнаружена тенденция к преобладанию частоты вариантов, унаследованных от матери – 71% (группа с СА) и 43% (группа без СА). Однако вследствие небольших объемов исследуемых групп статистически значимых отличий не выявлено ($p = 0,252$).

CNV были проанализированы с точки зрения размера вариантов. Как в группе с наличием СА, так и без случаев эмбриональной гибели преимущественно встречались aberrации с сопоставимым размером. Так, в группе с СА размер CNV (Me[Q1;Q3]) составил 270157 п.о. [132538; 671004], а в группе с отсутствием abortивных исходов беременности – 339897 п.о. [140780; 584242] ($p = 0,77$).

При анализе генного состава CNV (ресурс Enrichr, онтология «Фенотип млекопитающих») в группе с наличием и отсутствием СА были обнаружены категории, связанные с аномалиями нервной системы, что является ожидаемым, поскольку обе группы включали семьи с детьми с РНПР. Показано, что CNV в обеих группах также включают гены, ассоциированные с аномалиями эмбриогенеза, что, вероятно, указывает на возможность случаев СА в семьях без случаев эмбриональной гибели в будущем. В группе семей с СА были выявлены категории, ассоциированные с аномалиями сердечно-сосудистой системы. Согласно литературным данным, при ВПС плода обнаруживаются структурные и функциональные аномалии плаценты [Andescavage N. et al., 2015; Albalawi A. et al., 2017; Zun Z. et al., 2017]. Известно, что наиболее частым патологическим признаком при СА являются аномалии ворсин хориона (757 случаев; 86,2%), тогда как при мертворождении имеет место уменьшение размера плаценты (128 случаев; 33,9%) [Thompson B.B. et al., 2024]. Однако результаты, полученные в ходе анализа обогащения в группе без СА, также включали категории, связанные с аномалиями сердечно-сосудистой системы. Кроме этого, в обеих анализируемых группах были и категории, ассоциированные с нарушениями иммунной системы.

В рамках настоящего исследования были выявлены CNV, которые могут приводить к рождению ребенка с РНПР и объяснить случаи СА в одной и той же

семье. Такими абберрациями являются микродупликации 2q23.1, 3q29, 16p11.2. Поиск таких CNV из всего спектра был основан на анализе генного состава варианта, происхождения, а также встречаемости пересекающихся CNV в выборках СА.

Таким образом, в данной работе впервые высказана и 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. Диссертационная работа была посвящена поиску CNV в одних и тех же регионах, приводящих в одних случаях к рождению детей с РНПР, а в других – к СА. Полученные в ходе исследования сведения расширяют имеющиеся знания о возможных эффектах CNV.

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 аборт, 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 СОКРАЩЕНИЙ

РНПР – расстройства нейropsychического развития

ИР – интеллектуальные расстройства

РАС – расстройства аутистического спектра

СДВГ – синдром дефицита внимания с гиперактивностью

ВПр – врожденные пороки развития

ВПС – врожденные пороки сердца

СА – спонтанный аборт

НБ – невынашивание беременности

ПНБ – привычное невынашивание беременности

т.п.о – тысяча пар оснований

м.п.о – миллион пар оснований

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК – рибонуклеиновая кислота

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

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

ПЦР – полимеразная цепная реакция

NGS (от англ. Next Generation Sequencing) – секвенирование нового поколения

WES (от англ. Whole Exome Sequencing) – полноэкзомное секвенирование

WGS (от англ. Whole Genome Sequencing) – полногеномное секвенирование

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»

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ворсанова С.Г., Куринная О.С., Юров И.Ю. и др. Молекулярно-цитогенетическое исследование детей, родившихся недоношенными: выявление геномных аномалий // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2019. – Т. 5. – №. 1. – С. 25-51.
2. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Куринная О.С. и др. Геномные аномалии у детей с умственной отсталостью и аутизмом: использование технологии сравнительной геномной гибридизации на хромосомах *in situ* (HRCGH) и молекулярного кариотипирования на ДНК-микроматрицах (array CGH) // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2013. – Т.113 – №. 8. – С. 46-49.
3. Заваденко Н.Н. Гиперактивность и дефицит внимания в детском возрасте / Н.Н. Заваденко М.: ACADEMIA, 2005. – 256 с.
4. 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.
5. Кашеварова А.А., Скрыбин Н.А., Никитина Т.В. и др. Онтогенетическая плейотропия генов, вовлеченных в CNV у спонтанных абортусов человека // Генетика. – 2019. – Т. 55. – №. 10. – С. 1158-1171.
6. Киевская Ю. К. Изучение клинически значимых вариаций числа копий участков ДНК у плодов с маркерами хромосомной патологии I триместра, пороками и аномалиями развития: Дис. ... канд. мед. наук: 1.5.7 / Ю.К. Киевская. – Москва, 2023. – 197 с.
7. Киевская Ю.К., Шилова Н.В., Канивец И.В. и др. Метод SNP-однонуклеотидного хромосомного микроматричного анализа в изучении вариаций числа копий ДНК у плодов с расширенной воротниковой зоной // Современные технологии в медицине. – 2021. – Т. 13. – №. 6. – С. 72-77.

8. Киевская Ю.К., Шилова Н.В., Канивец И.В. и др. Применение хромосомного микроматричного анализа для диагностики хромосомной патологии у плодов с врожденными пороками сердца // Перинатология. – 2019. – Т. 183. – №. 15. – С. 18-22.
9. Киевская Ю.К., Шилова Н.В., Канивец И.В. и др. Применение хромосомного микроматричного анализа в клинической практике // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2020. – Т. 19. – №. 3. – С. 117-123.
10. Лебедев И. Н. Хромосомные болезни / Медицинская генетика. Национальное руководство / под ред. Е.К. Гинтера, В.П. Пузырёва, С.И. Куцева // ГЭОТАР-Медиа. – 2022. – С. 548–606.
11. Лебедев И.Н. Молекулярно-цитогенетическая характеристика хромосомного дисбаланса в клетках спонтанных абортусов с низкой пролиферативной активностью *in vitro* // Генетика. – 2003. – Т. 39 – № 8. – С. 1158-1171.
12. Лебедев И.Н., Кашеварова А.А., Скрыбин Н.А. и др. Матричная сравнительная геномная гибридизация (array-CGH) в диагностике хромосомного дисбаланса и CNV-полиморфизма при анэмбрионии // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – Т. 62. – № 2. – С. 117-125.
13. Лебедев И.Н., Шилова Н.В., Юров И.Ю. и др. Рекомендации Российского общества медицинских генетиков по хромосомному микроматричному анализу // Медицинская генетика. – 2023. – Т. 22. – №. 10. – С. 3-47.
14. Левченко О. А. Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика несиндромальных нарушений интеллектуального развития: Дис. ... канд. мед. наук: 1.5.7 / О.А. Левченко. – Москва, 2021. – 150 с.
15. Лопаткина М. Е. Распространенность и транскриптомные эффекты хромосомных микроделетий и микродупликаций, затрагивающих ген CNTN6 : Дис. ... канд. мед. наук: 1.5.7 / М.Е. Лопаткина. – Томск, 2022. – 234 с.

16. Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю. и др. ПЦР в реальном времени / под ред. Д.В. Ребрикова. – 11-е изд. – Москва: Лаборатория знаний, 2023. — 223 с.
17. Савченко Р.Р., Кашеварова А.А., Скрыбин Н.А. и др. Анализ CNVs при анэмбрионии и неразвивающейся беременности // Медицинская генетика. – 2018. – Т. 17. – № 3. – С. 49-54.
18. Хаустов А.В., Шумских М.А. Организация образования обучающихся с расстройствами аутистического спектра в Российской Федерации: результаты Всероссийского мониторинга 2018 года // Аутизм и нарушения развития. –2019. – Т. 17. – №. 3. – С. 3-11.
19. Шилова Н.В., Миньженкова М.Е. Интерпретация клинически значимых вариаций числа копий ДНК // Медицинская генетика. – 2018. – Т. 17. – №. 10. – С. 15-19.
20. Akter H., Rahman M.M., Sarker S. et al. Construction of copy number variation landscape and characterization of associated genes in a Bangladeshi cohort of neurodevelopmental disorders // Front Genet. – 2023. – V. 14. – № 955631.
21. Albalawi A., Brancusi F., Askin F. et al. Placental Characteristics of Fetuses With Congenital Heart Disease // J Ultrasound Med. – 2017. – V. 36. – №. 5. – P. 965-972.
22. Alkan C., Coe B.P., Eichler E.E. Genome structural variation discovery and genotyping // Nat. Rev. Genet. – 2011. – V. 12. – №. 5. – P. 363-376.
23. American Psychiatric Association (APA) Diagnostic and statistical manual of mental disorders // 4th ed., Rev. Washington, DC: American Psychiatric Association. – 2000.
24. American Psychiatric Association (APA) Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5) // Washington, DC: American Psychiatric Publishing. - 2013.
25. Andescavage N., Yarish A., Donofrio M. et al. 3-D volumetric MRI evaluation of the placenta in fetuses with complex congenital heart disease // Placenta. – 2015. – V. 36. – №. 9. – P. 1024-1030.

26. Azamian M., Lalani S.R. Cytogenomic Aberrations in Congenital Cardiovascular Malformations // *Mol Syndromol.* – 2016. V. 7. – №. 2. – P. 51-61.
27. Baccarin M., Picinelli C., Tomaiuolo P. et al. Appropriateness of array-CGH in the ADHD clinics: A comparative study // *Genes Brain Behav.* 2020. – V. 19. – №. 6:e12651.
28. Bai W., Zhang Q., Lin Z. et al. Analysis of copy number variations and possible candidate genes in spontaneous abortion by copy number variation sequencing // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2023. – V. 14. – № 1218793.
29. Bale T.L., Baram T.Z., Brown A.S. et al. Early life programming and neurodevelopmental disorders // *Biol Psychiatry.* – 2010. – V. 68. – №. 4. – P. 314-319.
30. Bareh G.M., Jacoby E., Binkley P. et al. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation assessment in normozoospermic male partners of couples with unexplained recurrent pregnancy loss: a prospective study // *Fertil Steril.* – 2016. – V. 105. – №. 2. – P. 329-336.
31. Barrett M.J., Donoghue V., Mooney E.E. et al. Isolated acute non-cystic white matter injury in term infants presenting with neonatal encephalopathy // *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* –2013. –V. 98. – №. 2. – P. F158-F160.
32. Beckmann J.S., Estivill X., Antonarakis S.E. Copy number variants and genetic traits: closer to the resolution of phenotypic to genotypic variability // *Nat Rev Genet.* – 2007. – V. 8. – №. 8. P. 639-646.
33. Bell K.A., Van Deerlin P.G., Haddad B.R., Feinberg R.F. Cytogenetic diagnosis of "normal 46,XX" karyotypes in spontaneous abortions frequently may be misleading // *Fertil Steril.* – 1999. – V. 71. – №. 2. – P. 334-341.
34. Bender Atik R., Christiansen O.B., et al. ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss // *Hum Reprod Open.* – 2018. – V. 2018. – №. 2: hoy004.
35. Beroukhim R., Mermel C.H., Porter D., et al. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers // *Nature.* – 2010. – V. 463. – №. 7283. P. 899-905.

36. Beunders G., van de Kamp J., Vasudevan P. et al. A detailed clinical analysis of 13 patients with *AUTS2* syndrome further delineates the phenotypic spectrum and underscores the behavioural phenotype // *J Med Genet.* – 2016. – V. 53. – №. 8. – P. 523-532.
37. Bonnet C., Ali Khan A., Bresso E. et al. Extended spectrum of *MBD5* mutations in neurodevelopmental disorders // *Eur J Hum Genet.* – 2013. – V. 21. – №. 12. – P. 1457-1461.
38. Boots C., Stephenson M.D. Does obesity increase the risk of miscarriage in spontaneous conception: a systematic review // *Semin Reprod Med.* – 2011. V. 29. – №. 6. – P. 507-513.
39. Borlot F., Regan B.M., Bassett A.S. et al. Prevalence of Pathogenic Copy Number Variation in Adults With Pediatric-Onset Epilepsy and Intellectual Disability // *JAMA Neurol.* – 2017. – V. 74. – №. 11. – P. 1301-1311.
40. Bortoletto P., Lucas E.S., Melo P., et al. Miscarriage syndrome: Linking early pregnancy loss to obstetric and age-related disorders // *EBioMedicine.* – 2022. – V. 81:104134.
41. Botto L.D., May K., Fernhoff P.M. et al. A population-based study of the 22q11.2 deletion: phenotype, incidence, and contribution to major birth defects in the population // *Pediatrics.* – 2003. – V. 112. – P. 101-107.
42. Brandt T., Sack L.M., Arjona D. et al. Adapting ACMG/AMP sequence variant classification guidelines for single-gene copy number variants // *Genet Med.* – 2020. – V. 22. – №. 2. – P. 336-344.
43. Cai M., Lin N., Su L. et al. Copy number variations in ultrasonically abnormal late pregnancy fetuses with normal karyotypes // *Sci Rep.* – 2020. – V. 10. – №. 1:15094.
44. Camarena V., Cao L., Abad C et al. Disruption of *Mbd5* in mice causes neuronal functional deficits and neurobehavioral abnormalities consistent with 2q23.1 microdeletion syndrome // *EMBO Mol Med.* – 2014. – T. 6. – №. 8. – P. 1003-1015.

45. Campbell I.M., Yuan B., Robberecht C. et al. Parental somatic mosaicism is underrecognized and influences recurrence risk of genomic disorders // *Am J Hum Genet.* – 2014. – V. 95. – №. 2. – P. 173-182.
46. Capalbo A., Hoffmann E.R., Cimadomo D., et al. Human female meiosis revised: new insights into the mechanisms of chromosome segregation and aneuploidies from advanced genomics and time-lapse imaging // *Hum Reprod Update* – 2017. – V. 23. – №. 6. – P. 706-722.
47. Carrell D.T., Liu L., Peterson C.M. et al. Sperm DNA fragmentation is increased in couples with unexplained recurrent pregnancy loss // *Arch Androl.* – 2003. – V. 49. – №. 1. – P. 49-55.
48. Cassel S.L., Joly S., Sutterwala F.S. The NLRP3 inflammasome: a sensor of immune danger signals // *Semin Immunol.* – 2009. – V. 21. - №. 4. – P. 194-198.
49. Chapman D.L., Garvey N., Hancock S. et al. Expression of the T-box family genes, *Tbx1-Tbx5*, during early mouse development // *Dev Dyn.* – 1996. – V. 206. – №. 4. – P. 379-390.
50. Chaves T.F., Baretto N., Oliveira L.F. et al. Copy Number Variations in a Cohort of 420 Individuals with Neurodevelopmental Disorders From the South of Brazil // *Sci Rep.* – 2019. – V. 9. – № 1:17776.
51. Chehbani F., Tomaiuolo P., Picinelli C. et al. Yield of array-CGH analysis in Tunisian children with autism spectrum disorder // *Mol. Genet. Genomic Med.* – 2022. – V. 10. – №. 8:e1939.
52. Chen K.R., Yu T., Lien Y.J., Chou Y.Y., Kuo P.L. Childhood neurodevelopmental disorders and maternal diabetes: A population-based cohort study // *Dev Med Child Neurol.* – 2023. –V. 65. – №. 7. – P. 933-941.
53. Chen S.W., Zhong X.S., Jiang L.N., et al. Maternal autoimmune diseases and the risk of autism spectrum disorders in offspring: A systematic review and meta-analysis // *Behav Brain Res.* –2016. – V. 296. P. 61-69.

54. Chen W.J., Lin Y., Xiong Z.Q. et al. Exome sequencing identifies truncating mutations in *PRRT2* that cause paroxysmal kinesigenic dyskinesia // *Nat Genet.* – 2011. – T. 43. – №. 12. – P. 1252-1255.
55. Chen Y., Karaca E., Robin N.H. et al. *DLG2* intragenic exonic deletions reinforce the link to neurodevelopmental disorders and suggest a potential association with congenital anomalies and dysmorphism // *Genet Med.* – 2024. – V. 26. – №. 1:101010.
56. Cho C., Jung-Ha H., Willis W.D. et al. Protamine 2 deficiency leads to sperm DNA damage and embryo death in mice // *Biol Reprod.* – 2003. – V. 69. – №. 1. – P. 211-217.
57. Cox D.M., Butler M.G. A Case of the 7p22.2 Microduplication: Refinement of the Critical Chromosome Region for 7p22 Duplication Syndrome // *J Pediatr Genet.* – 2015. – V. 4. – №. 1. – P. 34-37.
58. Cayan A.G., Dyer L.M. 3q29 microduplication syndrome: Clinical and molecular description of eleven new cases // *Eur J Med Genet.* – 2020. – T. 63. – №. 12:104083.
59. Crepel A., Steyaert J., De la Marche W. et al. Narrowing the critical deletion region for autism spectrum disorders on 16p11.2 // *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* – 2011. – T. 156. – №. 2. – P. 243-245.
60. Dai Y.F., Wu X.Q., Huang H.L. et al. Experience of copy number variation sequencing applied in spontaneous abortion // *BMC Med Genomics.* – 2024. – V. 17. – №. 1.
61. De Braekeleer M., Dao T.N. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses // *Hum Reprod.* – 1990. – V. 5. – №. 5. – P. 519-528.
62. Dean D.D., Agarwal S., Muthuswamy S. Defining the role of *FMR1* gene in unexplained recurrent spontaneous abortion // *J Assist Reprod Genet.* – 2019. – V. 36. – №. 11. – P. 2245-2250.
63. DeFilippis M. Depression in Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorder // *Children (Basel).* – 2018. – V. 5. – №. 9:112.

64. DeVilbiss E.A., Magnusson C., Gardner R.M. et al. Antenatal nutritional supplementation and autism spectrum disorders in the Stockholm youth cohort: population-based cohort study // *BMJ*. – 2017. – V. 359:j4273.
65. Dey A., Seshasayee D., Noubade R. et al. Loss of the tumor suppressor BAP1 causes myeloid transformation // *Science*. – 2012. – T. 337. – P. 1541-1546.
66. Di Gregorio E., Riberi E., Belligni E.F. et al. Copy number variants analysis in a cohort of isolated and syndromic developmental delay/intellectual disability reveals novel genomic disorders, position effects and candidate disease genes // *Clin Genet*. – 2017. – V. 92. – №. 4. – P. 415-422.
67. D'Ippolito S., Tersigni C., Marana R. et al. Inflammosome in the human endometrium: further step in the evaluation of the "maternal side" // *Fertil Steril*. – 2016. – V. 105. – №. 1.
68. Dixon M.E., Chien E.K., Osol G. et al. Failure of decidual arteriolar remodeling in the CBA/J x DBA/2 murine model of recurrent pregnancy loss is linked to increased expression of tissue inhibitor of metalloproteinase 2 (TIMP-2) // *Am J Obstet Gynecol*. – 2006. – V. 194. – №. 1. – P. 113-119.
69. Drozdov G.V., Kashevarova A.A., Lebedev I.N. Copy number variations in spontaneous abortions: a meta-analysis // *J Assist Reprod Genet*. – 2025. – V. 41. – №. 4. – P. 1039-1052.
70. Du Y., Liu B., Guo F. et al. The essential role of *Mbd5* in the regulation of somatic growth and glucose homeostasis in mice // *PLoS One*. – 2012. – T. 7. – №. 10.
71. Egloff M., Nguyen L.S., Siquier-Pernet K. et al. Whole-exome sequence analysis highlights the role of unmasked recessive mutations in copy number variants with incomplete penetrance // *Eur J Hum Genet*. – 2018. – V. 26. – №. 6. – P. 912-918.
72. Ehrlich L., Prakash S.K. Copy-number variation in congenital heart disease // *Curr Opin Genet Dev*. – 2022. – V. 77.
73. Eiben B., Bartels I., Bähr-Porsch S., et al. Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct-preparation method of chorionic villi and its implications for studying genetic causes of pregnancy wastage // *Am J Hum Genet*. – 1990. – V. 47. – №. 4. – P. 656-663.

74. Eichler E.E. Segmental duplications: what's missing, misassigned, and misassembled – and should we care? // *Genome Res.* – 2001. – V. 11. – №. 5. – P. 653–656.
75. Elder P.J.D., Ramsden D.B., Burnett D., et al. Human amylase gene copy number variation as a determinant of metabolic state // *Expert Rev Endocrinol Metab.* – 2018. – V.13. – №. 4. – P. 193-205.
76. Engchuan W., Dhindsa K., Lionel A.C. et al. Performance of case-control rare copy number variation annotation in classification of autism // *BMC Med Genomics.* – 2015. – V. 8 (Suppl 1). – №. S7.
77. Fan H.T., Zhang M., Zhan P., Yang X., Tian W.J., Li R.W. Structural chromosomal abnormalities in couples in cases of recurrent spontaneous abortions in Jilin Province, China // *Genet Mol Res.* 2016. – V. 15. – №. 1.
78. Fedotov, D.A., Kashevarova, A.A., Lebedev, I.N. CNVs in Patients with Neurodevelopmental Disorders: Meta-Analysis. // *Russ J Genet.* – 2024. – V. 60. – №. 5. – P.572–587.
79. Fergusson D.M., Horwood L.J., Boden J.M. Abortion and mental health disorders: evidence from a 30-year longitudinal study // *Br J Psychiatry.* – 2008. – V. 193. – №. 6. – P. 444-451.
80. Finley J., Hay S., Oldzej J. et al. The genomic basis of sporadic and recurrent pregnancy loss: a comprehensive in-depth analysis of 24,900 miscarriages // *Reprod. Biomed. Online.* – 2022. – V. 45. – №. 1. – P. 125-134.
81. Firouzabadi S.G., Kariminejad R., Vameghi R. et al. Copy number variants in patients with autism and additional clinical features: Report of *VIPR2* duplication and a novel microduplication syndrome // *Mol. Neurobiol.* – 2017. – V. 54. – №. 9. – P. 7019-7027.
82. Fortin O., Vincelette C., Chénier S. et al. Copy number variation in genetic epilepsy with febrile seizures plus // *Eur J Paediatr Neurol.* – 2020. – V. 27. – P. 111-115.
83. Fox-Lee L., Schust D.J. Recurrent pregnancy loss. In: Berek J.S., editor // *Berek and Novak's Gynecology.* – 2007. – P. 1277–1322.

84. Franke M., Ibrahim D.M., Andrey G. et al. Formation of new chromatin domains determines pathogenicity of genomic duplications // *Nature*. – 2016. – V. 538. – P. 265-269.
85. Fritz B., Hallermann C., Olert J. et al. Cytogenetic analyses of culture failures by comparative genomic hybridisation (CGH)-Re-evaluation of chromosome aberration rates in early spontaneous abortions // *Eur J Hum Genet*. – 2001. – V. 9. – №. 7. – P. 539-547.
86. Fry A.E., Rees E., Thompson R. et al. Pathogenic copy number variants and *SCN1A* mutations in patients with intellectual disability and childhood-onset epilepsy // *BMC Med. Genet*. – 2016. – V. 17. – №. 1:34.
87. Fusco R., Siracusa R., Genovese T. et al. Focus on the Role of NLRP3 Inflammasome in Diseases // *Int J Mol Sci*. – 2020. – V. 21. – №. 12: 4223.
88. Gao Z., Lee P., Stafford J.M. et al. An *AUTS2*-Polycomb complex activates gene expression in the CNS // *Nature*. – 2014. – V. 516. – №. 7531. – P. 349-354.
89. Gao Z., Zhang J., Bonasio R. et al. PCGF homologs, CBX proteins, and RYBP define functionally distinct PRC1 family complexes // *Mol Cell*. – 2012. – V. 45. – №. 3. – P. 344-356.
90. Gaskins A.J., Rich-Edwards J.W., Hauser R. et al. Maternal prepregnancy folate intake and risk of spontaneous abortion and stillbirth // *Obstet Gynecol*. – 2014. – V.124. – №. 1. – P. 23-31.
91. Geng Z., Tai Y.T., Wang Q., Gao Z. *AUTS2* disruption causes neuronal differentiation defects in human cerebral organoids through hyperactivation of the WNT/ β -catenin pathway // *Sci Rep*. – 2024. – V. 14. – №. 1:19522.
92. Getahun D., Rhoads G.G., Demissie K. et al. In utero exposure to ischemic-hypoxic conditions and attention-deficit/hyperactivity disorder // *Pediatrics*. – 2013. – V. 131. – №. 1:e53-e61.
93. Gilissen C., Hehir-Kwa J.Y., Thung D.T. et al. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability // *Nature*. – 2014. – T. 511. – P. 344-347.

94. Gimelli S., Capra V., Di Rocco M. et al. Interstitial 7q31.1 copy number variations disrupting *IMMP2L* gene are associated with a wide spectrum of neurodevelopmental disorders // *Mol Cytogenet.* – 2014. – V. 7.
95. Giorgio E., Robyr D., Spielmann M. et al. A large genomic deletion leads to enhancer adoption by the lamin B1 gene: a second path to autosomal dominant adult-onset demyelinating leukodystrophy (ADLD) // *Hum Mol Genet.* – 2015. – V. 24. – №. 11. – P. 3143-3154.
96. Girirajan S., Dennis M.Y., Baker C. et al. Refinement and discovery of new hotspots of copy-number variation associated with autism spectrum disorder // *Am J Hum Genet.* – 2013. – V. 92. - №. 2. – P. 221-237.
97. Girirajan S., Eichler E.E. Phenotypic variability and genetic susceptibility to genomic disorders // *Hum. Mol. Genet.* – 2010. – V. 19. – №. R2. – P. R176- R187.
98. Girirajan S., Rosenfeld J.A., Coe B.P. et al. Phenotypic heterogeneity of genomic disorders and rare copy-number variants // *N Engl J Med.* – 2012. – V. 367. – №. 14. – P. 1321-1331.
99. Giulietti A., Overbergh L., Valckx D. et al. An overview of real-time quantitative PCR: applications to quantify cytokine gene expression // *Methods* – 2001. – V. 25. – № 4. – P. 386-401.
100. Golzio C., Willer J., Talkowski M.E. et al. *KCTD13* is a major driver of mirrored neuroanatomical phenotypes of the 16p11.2 copy number variant // *Nature.* – 2012. – T. 485. – P. 363-367.
101. Gothelf D., Frisch A., Michaelovsky E. et al. Velo-Cardio-Facial Syndrome // *J Ment Health Res Intellect Disabil.* – 2009. – V. 2. – №. 2. – P. 149-167.
102. Grati F.R., Molina Gomes D., Ferreira J.C. et al. Prevalence of recurrent pathogenic microdeletions and microduplications in over 9500 pregnancies // *Prenat Diagn.* – 2015. – T. 35. – №. 8. – P. 801-809.
103. Grimstad F., Krieg S. Immunogenetic contributions to recurrent pregnancy loss // *J Assist Reprod Genet.* – 2016. – V. 33. – №. 7. – P. 833-847.

104. Gross S.J., Stosic M., McDonald-McGinn D.M. et al. Clinical experience with single-nucleotide polymorphism-based non-invasive prenatal screening for 22q11.2 deletion syndrome // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2016. – T. 47. – №. 2. – P. 177-183.
105. Gruhn J.R., Zielinska A.P., Shukla V. et al. Chromosome errors in human eggs shape natural fertility over reproductive life span // *Science.* – 2019. – V. 365. – №. 6460. – P. 1466-1469.
106. Gu C., Li K., Li L. et al. Genomic imbalance in euploid pregnancy loss // *J Assist Reprod Genet.* – 2022. – V. 39. – №. 9. – P. 2115-2124.
107. Gu W., Zhang F., Lupski J.R. Mechanisms for human genomic rearrangements // *Pathogenetics.* – 2008. – V. 1. – №. 1.
108. Guennoun R., Labombarda F., Gonzalez Deniselle M.C. et al. Progesterone and allopregnanolone in the central nervous system: response to injury and implication for neuroprotection // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2015. – V. 146. – P. 48-61.
109. Guo J., Zou Z., Dou X. et al. Zebrafish Mbd5 binds to RNA m5C and regulates histone deubiquitylation and gene expression in development metabolism and behavior // *Nucleic Acids Res.* – 2024. – T. 52. – №. 8. – P. 4257-4275.
110. Hagberg B., Witt-Engerström I. Rett syndrome: epidemiology and nosology--progress in knowledge 1986--a conference communication // *Brain Dev.* – 1987. – V. 9. – №. 5. – P. 451-457.
111. Hagberg H., Mallard C., Ferriero D.M. et al. The role of inflammation in perinatal brain injury // *Nat Rev Neurol.* – 2015. – V. 11. – №. 4. – P. 192-208.
112. Hastings P.J., Lupski J.R., Rosenberg S.M., Ira G. Mechanisms of change in gene copy number // *Nat Rev Genet.* – 2009. – V. 10. – №. 8. – P. 551-564.
113. Henkel J., Saif R., Jagannathan V., et al. Selection signatures in goats reveal copy number variants underlying breed-defining coat color phenotypes // *PLoS Genet.* – 2019. – V. 15. – №. 12:e1008536.
114. Hilger A.C., Dworschak G.C., Reutter H.M. Lessons Learned from CNV Analysis of Major Birth Defects // *Int J Mol Sci.* – 2020. – V. 21. – №. 21:8247.

115. Hitomi Y., Heinzen E.L., Donatello S. et al. Mutations in *TNK2* in severe autosomal recessive infantile onset epilepsy // *Ann Neurol.* – 2013. – T. 74. – №. 3. – P. 496-501.
116. Homa S.T., Vassiliou A.M., Stone J. et al. A Comparison Between Two Assays for Measuring Seminal Oxidative Stress and their Relationship with Sperm DNA Fragmentation and Semen Parameters // *Genes (Basel).* – 2019. – V. 10. – №. 3:236.
117. Hossain M.M., Khan N., Sultana A., et al. Prevalence of comorbid psychiatric disorders among people with autism spectrum disorder: An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses // *Psychiatry Res.* – 2020. – V. 287:112922.
118. Hu Y., Chen G., Wan H. et al. A rat pup model of cerebral palsy induced by prenatal inflammation and hypoxia // *Neural Regen Res.* – 2013. – V. 8. – №. 9. – P. 817-824.
119. Huang W., Wang J., Pang M. et al. Copy Number Variations in Female Infertility in China. *Balkan J Med Genet.* – 2019. – V. 22. – №. 1. – P. 5-10.
120. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Kurinnaia O.S. et al. Molecular karyotyping by array CGH in a Russian cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy and congenital anomalies // *Mol Cytogenet.* – 2012. – V. 5. – №. 1:46.
121. Iwaniuk A., Jablonska E. Neutrophils in Health and Disease: From Receptor Sensing to Inflammasome Activation // *Int J Mol Sci.* – 2023. – V. 24. – №. 7:6340.
122. Jaillard S., Tucker E.J., Akloul L. et al. 22q11.2 rearrangements found in women with low ovarian reserve and premature ovarian insufficiency // *J Hum Genet.* – 2018. – V. 63. – №. 5. – P. 691-698.
123. Jansen S., Vissers L.E.L.M., de Vries B.B.A. The Genetics of Intellectual Disability // *Brain Sci.* – 2023. – V.13. – №. 2:231.
124. Jayasena C.N., Radia U.K., Figueiredo M. et al. Reduced Testicular Steroidogenesis and Increased Semen Oxidative Stress in Male Partners as Novel Markers of Recurrent Miscarriage // *Clin Chem.* – 2019. – V. 65. – №. 1. P. 161-169.

125. Jenabi E., Ayubi E., Bashirian S. et al. Association between previous abortion history and risk of autism spectrum disorders among offspring: a meta-analysis // *Clin Exp Pediatr.* – 2023. – 66. – №. 2. – P. 70-75.
126. Ji H., Yu Y., Miao M. et al. Risk of intellectual disability and maternal history of spontaneous abortion: A nationwide cohort study // *Dev. Med. Child Neurol.* – 2021. – V. 63. – №. 7. – P. 831-838.
127. Jobanputra V., Esteves C., Sobrino A. et al. Using FISH to increase the yield and accuracy of karyotypes from spontaneous abortion specimens // *Prenat Diagn.* – 2011. – V. 31. – №. 8. – P. 755-759.
128. Joustra S. D., van Trotsenburg A. S., Sun Y., et al. IGSF1 deficiency syndrome: A newly uncovered endocrinopathy // *Rare diseases (Austin, Tex.).* – 2013. – V. 1: e24883.
129. Kashevarova A.A., Nikitina T.V., Mikhailik L.I. et al. 46,XY,r(8)/45,XY,-8 Mosaicism as a Possible Mechanism of the Imprinted Birk-Barel Syndrome: A Case Study // *Genes (Basel).* – 2020. – V. 11. – №. 12:1473.
130. Kearney H. M., Thorland E. C., Brown K. K. et al. Working Group of the American College of Medical Genetics Laboratory Quality Assurance Committee. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants // *Genet. Med.* – 2011. – V. 13. – №. 7. – P. 680-685.
131. Kikas T., Punab A.M., Kasak L. et al. Microdeletions and microduplications linked to severe congenital disorders in infertile men // *Sci Rep.* – 2023. – V. 13. – №. 1:574.
132. Kılıçaslan F., Öz Ö., Mutlu M. B. Investigation of chromosomal anomalies and copy number variations in children diagnosed with autism spectrum disorder by array CGH method // *Int J Dev Neurosci.* – 2025. – V. 85. – №1: e10397.
133. Kirkman-Brown J., Pavitt S., Khalaf Y. et al. Sperm selection for assisted reproduction by prior hyaluronan binding: the HABSelect RCT // *Southampton (UK): NIHR Journals Library.* – 2019.

134. Kirov G. CNVs in neuropsychiatric disorders // *Hum Mol Genet.* – 2015. – V. 24. – №. R1. – P. R45-R49.
135. Kolb S.J., Kissel J.T. Spinal Muscular Atrophy // *Neurol Clin.* – 2015. – V. 33. – №. 4. – P. 831-846.
136. Kolte A.M., Westergaard D., Lidegaard Ø., et al. Chance of live birth: a nationwide, registry-based cohort study // *Hum Reprod.* – 2021. – V. 36. – №. 4. – P. 1065-1073.
137. Korff C.M., Dale R.C. The Immune System in Pediatric Seizures and Epilepsies // *Pediatrics.* – 2017. – V. 140. – №. 3:e20163534.
138. Kumar K., Deka D., Singh A. et al. Predictive value of DNA integrity analysis in idiopathic recurrent pregnancy loss following spontaneous conception // *J Assist Reprod Genet.* – 2012. – V. 29. – №. 9. – P. 861-867.
139. Kumaran M., Krishnan P., Cass C.E., et al. Breast cancer associated germline structural variants harboring small noncoding RNAs impact post-transcriptional gene regulation // *Sci Rep.* – 2018. – V. 8. – №. 1. – P. 7529.
140. Kushima I., Nakatochi M., Aleksic B. et al. Cross-Disorder Analysis of Genic and Regulatory Copy Number Variations in Bipolar Disorder, Schizophrenia, and Autism Spectrum Disorder // *Biol Psychiatry.* – 2022. – V. 92. – №. 5. – P. 362-374.
141. Kutteh W.H. Antiphospholipid antibody syndrome and reproduction // *Curr Opin Obstet Gynecol.* – 2014. – V. 26. – №. 4. – P. 260-265.
142. Kutteh W.H. Novel strategies for the management of recurrent pregnancy loss // *Semin Reprod Med.* – 2015. – V. 33. – №. 3. – P. 161-168.
143. Lashen H., Fear K., Sturdee D.W. Obesity is associated with increased risk of first trimester and recurrent miscarriage: matched case-control study // *Hum Reprod.* – 2004. – V.19. – №. 7. – P. 1644-1646.
144. Lee H.F., Chi C.S., Tsai C.R. Diagnostic yield and treatment impact of whole-genome sequencing in paediatric neurological disorders // *Dev Med Child Neurol.* – 2021. – V. 63. – №. 8. – P. 934-938.

145. Lee J.A., Lupski J.R. Genomic rearrangements and gene copy-number alterations as a cause of nervous system disorders // *Neuron*. – 2006. – V.52. – №. 1. – P. 103-121.
146. Leon R.L., Mir I.N., Herrera C.L. et al. Neuroplacentology in congenital heart disease: placental connections to neurodevelopmental outcomes // *Pediatr Res*. – 2022. – V. 91. – №. 4. – P. 787-794.
147. Leroy C., Jacquemont M. L., Doray B. et al. Xq25 duplication: the crucial role of the *STAG2* gene in this novel human cohesinopathy // *Clinical genetics*. –2016. – V. 89. – № 1. – P. 68–73.
148. Levy B., Sigurjonsson S., Pettersen B. et al. Genomic imbalance in products of conception: single-nucleotide polymorphism chromosomal microarray analysis // *Obstet Gynecol*. – 2014. – V. 124. – №. 2. – P. 202-209.
149. Lewis A.J., Galbally M., Gannon T., Symeonides C. Early life programming as a target for prevention of child and adolescent mental disorders // *BMC Med*. – 2014. – V.12. – №. 33.
150. Lewis S.E., Aitken R.J. DNA damage to spermatozoa has impacts on fertilization and pregnancy // *Cell Tissue Res*. – 2005. – V. 322. – №. 1. – P. 33-41.
151. Li H.W., Cheung A.N., Tsao S.W. et al. Expression of e-cadherin and beta-catenin in trophoblastic tissue in normal and pathological pregnancies // *Int J Gynecol Pathol*. – 2003. – V. 22. – №. 1. – P. 63-70.
152. Li S., Chen L.L., Wang X.H. et al. Chromosomal variants accumulate in genomes of the spontaneous aborted fetuses revealed by chromosomal microarray analysis // *PLoS One*. – 2021. – V. 16. – №. 11: e0259518.
153. Li S., Chen L.L., Wang X.H. et al. Chromosomal variants accumulate in genomes of the spontaneous aborted fetuses revealed by chromosomal microarray analysis // *PLoS One*. – 2021. – V. 16. – №. 11:e0259518.
154. Liehr T., Schreyer I., Kuechler A. et al. Parental origin of deletions and duplications - about the necessity to check for cryptic inversions // *Mol Cytogenet*. – 2018. – V. 11. – P. 20.

155. Lin P.C. Reproductive outcomes in women with uterine anomalies // *J Womens Health (Larchmt)*. – 2004. – V. 13. – №. 1. – P. 33-39.
156. Lindstrand A., Eisfeldt J., Pettersson M. et al. From cytogenetics to cytogenomics: whole-genome sequencing as a first-line test comprehensively captures the diverse spectrum of disease-causing genetic variation underlying intellectual disability // *Genome Med.* – 2019. – V. 11. – №.1: 68.
157. Lindy A. S., Stosser M. B., Butler E., Downtain-Pickersgill C., Shanmugham A., Retterer K., Brandt T., Richard G., McKnight D. A. Diagnostic outcomes for genetic testing of 70 genes in 8565 patients with epilepsy and neurodevelopmental disorders // *Epilepsia*. – 2018. – V. 59. – № 5. – P. 1062–1071.
158. Liu S., Aldinger K.A., Cheng C.V. et al. NRF1 association with AUTS2-Polycomb mediates specific gene activation in the brain // *Mol Cell*. – 2021. – V. 81. – №. 22:4663-4676.e8.
159. Liu S., Song L., Cram D.S. et al. Traditional karyotyping vs copy number variation sequencing for detection of chromosomal abnormalities associated with spontaneous miscarriage // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2015. V. 46. – №. 4. – P. 472-477.
160. Lomax B., Tang S., Separovic E., et al. Comparative genomic hybridization in combination with flow cytometry improves results of cytogenetic analysis of spontaneous abortions. // *Am J Hum Genet.* – 2000. – V. 66. – №. 5. – P. 1516-1521.
161. Lopes F., Torres F., Soares G. et al. Genomic imbalances defining novel intellectual disability associated loci // *Orphanet J. Rare Dis.* – 2019. – V. 14. – №. 1:164.
162. Lyall K., Ashwood P., Van de Water J. et al. Maternal immune-mediated conditions, autism spectrum disorders, and developmental delay // *J Autism Dev Disord.* – 2014. – V. 44. – №. 7. –P. 1546-1555.
163. Ma Y., Wei X., Pan H. et al. The prevalence of CGG repeat expansion mutation in *FMR1* gene in the northern Chinese women of reproductive age // *BMC Med Genet.* – 2019. – V. 20. – №. 1.

164. Maisenbacher M.K., Merrion K., Pettersen B. et al. Incidence of the 22q11.2 deletion in a large cohort of miscarriage samples // *Mol Cytogenet.* – 2017. – V. 10. – №. 6.
165. Matos B., Publicover S.J., Castro L.F.C., Esteves P.J., Fardilha M. Brain and testis: more alike than previously thought? // *Open Biol.* – 2021. – V. 11. – №. 6:200322.
166. Matsunami N., Hadley D., Hensel C.H. et al. Identification of rare recurrent copy number variants in high-risk autism families and their prevalence in a large ASD population // *PLoS One.* – 2013. – V. 8. – №. 1:e52239.
167. May T., Adesina I., McGillivray J., Rinehart N. J. Sex differences in neurodevelopmental disorders // *Curr. Opin. Neurol.* – 2019. – V. 32. – №. 4. – P. 622–626.
168. McDonald-McGinn D.M., Sullivan K.E., Marino B. et al. 22q11.2 deletion syndrome // *Nat Rev Dis Primers.* – 2015. – T. 1.
169. McGowan-Jordan J., Hastings R.J., Moore S. ISCN 2020: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature // Basel: Karger – 2020.
170. Miller D.T., Adam M.P., Aradhya S., et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies // *Am J Hum Genet.* – 2010. – V. 86. – №. 5. – P. 749-764.
171. Morris-Rosendahl D.J., Crocq M.A. Neurodevelopmental disorders-the history and future of a diagnostic concept // *Dialogues Clin Neurosci.* – 2020. – V. 22. – №. 1. – P. 65-72.
172. Morris-Rosendahl D.J., Crocq M.A. Neurodevelopmental disorders-the history and future of a diagnostic concept // *Dialogues Clin Neurosci.* – 2020. – V. 22. – №. 1. – P. 65-72.
173. Mullegama S.V., Alaimo J.T., Chen L., Elsea S.H. Phenotypic and molecular convergence of 2q23.1 deletion syndrome with other neurodevelopmental syndromes associated with autism spectrum disorder // *Int J Mol Sci.* – 2015. – T. 16. – №. 4. – P. 7627-7643.

174. Mullegama S.V., Rosenfeld J.A., Orellana C. et al. Reciprocal deletion and duplication at 2q23.1 indicates a role for *MBD5* in autism spectrum disorder // *Eur J Hum Genet.* – 2014. – V. 22. – №. 1. – P. 57-63.
175. Muñoz M., Arigita M., Bennasar M. et al. Chromosomal anomaly spectrum in early pregnancy loss in relation to presence or absence of an embryonic pole // *Fertil Steril.* – 2010. – V. 94. – №.7. – P. 2564-2568.
176. Muyayalo K.P., Li Z.H., Mor G., Liao AH. Modulatory effect of intravenous immunoglobulin on Th17/Treg cell balance in women with unexplained recurrent spontaneous abortion // *Am J Reprod Immunol.* – 2018. – V. 80. – №. 4:e13018.
177. Myers K.A., Marini C., Carvill G.L. et al. Phenotypic Spectrum of Seizure Disorders in *MBD5*-Associated Neurodevelopmental Disorder // *Neurol Genet.* – 2021. – V. 7. – №. 2:e579.
178. Nanassy L., Carrell D.T. Paternal effects on early embryogenesis // *J Exp Clin Assist Reprod.* – 2008. – V. 5. – №. 2.
179. Newman S., Hermetz K.E., Wechselblatt B., Rudd M.K. Next-generation sequencing of duplication CNVs reveals that most are tandem and some create fusion genes at breakpoints // *Am J Hum Genet.* – 2015. – V. 96. – №. 2. – P. 208-220.
180. Nikitina T.V., Lebedev I.N., Sukhanova N.N. et al. A mathematical model for evaluation of maternal cell contamination in cultured cells from spontaneous abortions: significance for cytogenetic analysis of prenatal selection factors // *Fertil Steril.* – 2005. – V. 83. – №. 4. – P. 964-972.
181. Nurk S., Koren S., Rhie A., et al. The complete sequence of a human genome // *Science.* – 2022. – V. 376. – P. 44-53.
182. Ogasawara M., Aoki K., Okada S., Suzumori K. Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages // *Fertil Steril.* – 2000. – V. 73. – №. 2. – P. 300-304.
183. Okamoto T., Niu R., Yamada S., Osawa M. Reduced expression of tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-2 in gestational trophoblastic diseases // *Mol Hum Reprod.* – 2002. – V. 8. – №. 4. – P. 392-398.

184. Oksenberg N., Ahituv N. The role of *AUTS2* in neurodevelopment and human evolution // *Trends Genet.* – 2013. – V. 29. – №. 10. – P. 600-608.
185. Olsson L.M., Holmdahl R. Copy number variation in autoimmunity--importance hidden in complexity? // *Eur J Immunol.* – 2012. – V. 42. – №. 8. P. 1969-1976.
186. Omeljaniuk W.J., Garley M., Pryczynicz A. et al. NLRP3 Inflammasome in the Pathogenesis of Miscarriages // *Int J Mol Sci.* – 2024. – V. 25. – №. 19:10513.
187. Onodera K., Shavit J.A., Motohashi H., Yamamoto M., Engel J.D. Perinatal synthetic lethality and hematopoietic defects in compound *mafG::mafK* mutant mice // *EMBO J.* – 2000. – V. 19. – №. 6. –P. 1335-1345.
188. Oskarsdóttir S., Vujic M., Fasth A. Incidence and prevalence of the 22q11 deletion syndrome: a population-based study in Western Sweden // *Arch Dis Child.* – 2004. – V. 89. – №. 2. – P. 148-151.
189. Oudejans C.B., Mulders J., Lachmeijer A.M. et al. The parent-of-origin effect of 10q22 in pre-eclamptic females coincides with two regions clustered for genes with down-regulated expression in androgenetic placentas // *Mol Hum Reprod.* – 2004. – V. 10. – №. 8. – P. 589-598.
190. Pan Y., Yan L., Chen Q. et al. Dysfunction of Shh signaling activates autophagy to inhibit trophoblast motility in recurrent miscarriage // *Exp Mol Med.* – 2021. – V. 53. – №. 1. – P. 52-66.
191. Pang L., Wei Z., Li O. et al. An increase in vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF soluble receptor-1 (sFlt-1) are associated with early recurrent spontaneous abortion // *PLoS One.* – 2013. – V. 8. – №. 9: e75759.
192. Parikh N.I., Jeppson R.P., Berger J.S. et al. Reproductive Risk Factors and Coronary Heart Disease in the Women's Health Initiative Observational Study // *Circulation.* – 2016. – V. 133. – №. 22. –P. 2149-2158.
193. Patel N., Salih M.A., Alshammari M.J. et al. Expanding the clinical spectrum and allelic heterogeneity in van den Ende-Gupta syndrome // *Clin Genet.* – 2014. – V. 85. – №. 5. – P. 492-494.

194. Paz Levy D., Wainstock T., Sheiner E. et al. Maternal recurrent pregnancy loss is associated with an increased risk for long-term neurological morbidity in offspring // *Dev. Med. Child Neurol.* – 2019. – V. 61. – №. 1. – P. 91-97.
195. Peng G., Zhou Q., Chai H. et al. Estimation on risk of spontaneous abortions by genomic disorders from a meta-analysis of microarray results on large case series of pregnancy losses // *Mol Genet Genomic Med.* – 2023. – V. 11. – №. 8:e2181.
196. Perry G.H., Dominy N.J., Claw K.G. et al. Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation // *Nat Genet.* – 2007. – V. 39. – №. 10. – P. 1256-1260.
197. Plenge R.M., Stevenson R.A., Lubs H.A. et al. Skewed X-chromosome inactivation is a common feature of X-linked mental retardation disorders // *Am J Hum Genet.* – 2002. – V. 71. – №. 1. – P. 168-173.
198. Popescu F., Jaslow C.R., Kutteh W.H. Recurrent pregnancy loss evaluation combined with 24-chromosome microarray of miscarriage tissue provides a probable or definite cause of pregnancy loss in over 90% of patients // *Hum Reprod.* – 2018. – V. 33. – №. 4. P. 579-587.
199. Priya P.K., Mishra V.V., Roy P., Patel H. A Study on Balanced Chromosomal Translocations in Couples with Recurrent Pregnancy Loss // *J Hum Reprod Sci.* – 2018. – V.11. – №. 4. – P. 337-342.
200. Psoni S., Sofocleous C., Traeger-Synodinos J. et al. Phenotypic and genotypic variability in four males with *MECP2* gene sequence aberrations including a novel deletion // *Pediatr Res.* – 2010. – V. 67. – №. 5. – P. 551-556.
201. Qian J., Zhang N., Lin J. et al. Distinct pattern of Th17/Treg cells in pregnant women with a history of unexplained recurrent spontaneous abortion // *Biosci Trends.* – 2018. – V. 12. – №. 2. – P. 157-167.
202. Quenby S., Gallos I.D., Dhillon-Smith R.K., et al. Miscarriage matters: the epidemiological, physical, psychological, and economic costs of early pregnancy loss. // *Lancet.* 2021. –V. 397. – №. 10285. – P. 1658-1667.
203. Rai R., Backos M., Rushworth F., et al. Polycystic ovaries and recurrent miscarriage--a reappraisal // *Hum Reprod.* – 2000. – V. 15. – №. 3. – P. :612-615.

204. Rajcan-Separovic E., Diego-Alvarez D., Robinson W. et al. Identification of copy number variants in miscarriages from couples with idiopathic recurrent pregnancy loss // *Human Reproduction*. – 2010. – V. 25. – №. 11. – P. 2913-2922.
205. Rajderkar S., Barozzi I., Zhu Y. et al. Topologically associating domain boundaries are required for normal genome function // *Commun Biol*. – 2023. – T. 6. – №. 1. – P. 435.
206. Rand J.H., Wu X.X., Andree H.A. et al. Pregnancy loss in the antiphospholipid-antibody syndrome--a possible thrombogenic mechanism // *N Engl J Med*. – 1997. – V. 337. – №. 3. – P. 154-160.
207. Reddy U.M., Page G.P., Saade G.R. et al. Karyotype versus microarray testing for genetic abnormalities after stillbirth // *N Engl J Med*. – 2012. – T.367. – №. 23. – P. 2185-2193.
208. Regan L., Backos M., Rai R. The Investigation and Treatment of Couples with Recurrent First-trimester and Second-trimester Miscarriage: Green-top Guideline // *RCOG*. – 2011. – №. 17.
209. Renaud S.J., Cotechini T., Quirt J.S. et al. Spontaneous pregnancy loss mediated by abnormal maternal inflammation in rats is linked to deficient uteroplacental perfusion // *J Immunol*. – 2011. – V. 186. – №. 3. – P. 1799-1808.
210. Ribas-Maynou J., García-Peiró A., Fernandez-Encinas A. et al. Double stranded sperm DNA breaks, measured by Comet assay, are associated with unexplained recurrent miscarriage in couples without a female factor // *PLoS One*. – 2012. – V. 7. – №. 9:e44679.
211. Riggs E.R., Andersen E.F., Cherry A.M., et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen) // *Genet Med*. – 2020. – V. 22. – №. 2. – P. 245-257.

212. Rippey C., Walsh T., Gulsuner S., et al. Formation of chimeric genes by copy-number variation as a mutational mechanism in schizophrenia // *Am J Hum Genet.* – 2013. – V. 93. – №. 4. – P. 697-710.
213. Roomandeh N., Saremi A., Arasteh J. et al. Comparing Serum Levels of Th17 and Treg Cytokines in Women with Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion and Fertile Women // *Iran J Immunol.* – 2018. – V. 15. – №. 1. P. 59-67.
214. Rose S.B., Garrett S.M., Stanley J., et al. Retesting and repeat positivity following diagnosis of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoea* in New Zealand: a retrospective cohort study // *BMC Infect Dis.* – 2017. – V. 17. – №. 1:526.
215. Rosenbaum S., Simon P. Speech and Language Disorders in Children: Implications for the Social Security Administration's Supplemental Security Income Program // National Academies Press. – 2016.
216. Rosenfeld J.A., Coe B.P., Eichler E.E., Cuckle H., Shaffer L.G. Estimates of penetrance for recurrent pathogenic copy-number variations // *Genet Med.* – 2013. – V. 15. – №. 6. – P. 478-481.
217. Rostamzadeh D., Yousefi M., Haghshenas M.R. et al. mTOR Signaling pathway as a master regulator of memory CD8⁺ T-cells, Th17, and NK cells development and their functional properties // *J Cell Physiol.* – 2019. – V. 234. – №. 8. – P. 12353-12368.
218. Saifi B., Aflatoonian R., Tajik N. et al. T regulatory markers expression in unexplained recurrent spontaneous abortion // *J Matern Fetal Neonatal Med.* – 2016. – V. 29. – №. 7. – P. 1175-1180.
219. Saifi B., Rezaee S.A., Tajik N. et al. Th17 cells and related cytokines in unexplained recurrent spontaneous miscarriage at the implantation window // *Reprod Biomed Online.* – 2014. – V. 29. – (4). – P. 481-489.
220. Salari N., Ghasemi H., Abdoli N., et al. The global prevalence of ADHD in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis // *Ital J Pediatr.* – 2023. – V. 49. – №. 1:48.

221. Schore A. N. All our sons: the developmental neurobiology and neuroendocrinology of boys at risk // *Infant Ment. Health J.* – 2017. – V. 38. – №. 1. – P. 15–52.
222. Seckl J.R., Holmes M.C. Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal 'programming' of adult pathophysiology // *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* – 2007. – V. 3. – №. 6. – P. 479-488.
223. Sekar A., Bialas A.R., de Rivera H., et al. Schizophrenia risk from complex variation of complement component 4 // *Nature.* – 2016. – V. 530. – №. 7589. – P. 177-183.
224. Servetti M., Pisciotto L., Tassano E. et al. Neurodevelopmental Disorders in Patients With Complex Phenotypes and Potential Complex Genetic Basis Involving Non-Coding Genes, and Double CNVs // *Front Genet.* – 2021. – V. 12.
225. Seval Y., Akkoyunlu G., Demir R., Asar M. Distribution patterns of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and -9 and their inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2) in the human decidua during early pregnancy // *Acta Histochem.* – 2004. – V. 106. – №. 5. – P. 353-362.
226. Shaffer L.G., Dabell M.P., Fisher A.J. et al. Experience with microarray-based comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis in over 5000 pregnancies // *Prenat Diagn.* – 2012. – T. 32. – №. 10. – P. 976-985.
227. Shao Y., Yang S., Cheng L. et al. Identification of chromosomal abnormalities in miscarriages by CNV-Seq // *Mol Cytogenet.* – 2024. – V. 17. – №. 1:4.
228. Sheng Y.R., Hou S.Y., Hu W.T. et al. Characterization of Copy-Number Variations and Possible Candidate Genes in Recurrent Pregnancy Losses // *Genes (Basel).* – 2021. – V. 12. – №. 2. – P. 141.
229. Sidrat T., Rehman Z.U., Joo M.D. et al. Wnt/ β -catenin Pathway-Mediated PPAR δ Expression during Embryonic Development Differentiation and Disease // *Int J Mol Sci.* – 2021. – V. 22. – №. 4:1854.
230. Sokolova E., Oerlemans A.M., Rommelse N.N. et al. A Causal and Mediation Analysis of the Comorbidity Between Attention Deficit Hyperactivity

Disorder (ADHD) and Autism Spectrum Disorder (ASD) // *J Autism Dev Disord.* – 2017. – V. 47. – №. 6. – P. 1595-1604.

231. Soler A., Morales C., Mademont-Soler I., et al. Overview of Chromosome Abnormalities in First Trimester Miscarriages: A Series of 1,011 Consecutive Chorionic Villi Sample Karyotypes // *Cytogenet Genome Res.* – 2017. – V. 152. – №. 2. – P. 81-89.

232. Solomon M., Henkel R. Semen culture and the assessment of genitourinary tract infections // *Indian J Urol.* – 2017. – V. 33. – №. 3. – P. 188-193.

233. Sowa M.E., Bennett E.J., Gygi S.P., Harper J.W. Defining the human deubiquitinating enzyme interaction landscape // *Cell.* – 2009. – T.138. – №. 2. – P. 389-403.

234. Spector J.D., Wiita A.P. ClinTAD: a tool for copy number variant interpretation in the context of topologically associated domains // *J Hum Genet.* – 2019. – V. 64. – №. 5. – P. 437-443.

235. Spielmann M., Lupiáñez D.G., Mundlos S. Structural variation in the 3D genome // *Nat Rev Genet.* – 2018. – 19. – №. 7. – P. 453-467.

236. Srivastava S., Love-Nichols J.A., Dies K.A., et al. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders // *Genet Med.* – 2019 – V. 21. – №. 11. – P. 2413-2421.

237. Stankiewicz P., Lupski J.R. Structural variation in the human genome and its role in disease // *Annu Rev Med.* – 2010. – V. 61. – P. 437-455.

238. Stefanski A., Calle-López Y., Leu C., et al. Clinical sequencing yield in epilepsy, autism spectrum disorder, and intellectual disability: A systematic review and meta-analysis // *Epilepsia.* 2021. – V. 62. – №. 1. – P. 143-151.

239. Stephenson M.D. Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples // *Fertil Steril.* – 1996. – V. 66. – №. 1. – P. 24-29.

240. Stephenson M.D., Sierra S. Reproductive outcomes in recurrent pregnancy loss associated with a parental carrier of a structural chromosome rearrangement // *Hum Reprod.* – 2006. – V. 21. – №. 4. – P. 1076-1082.

241. Strowig T., Henao-Mejia J., Elinav E. Flavell R. Inflammasomes in health and disease // *Nature*. – 2012. – V. 481. – №. 7381. – P. 278-286.
242. Sugiura-Ogasawara M., Aoki K., Fujii T., et al. Subsequent pregnancy outcomes in recurrent miscarriage patients with a paternal or maternal carrier of a structural chromosome rearrangement // *J Hum Genet*. – 2008. – V. 53. – №. 7. – P. 622-628.
243. Talkowski M.E., Rosenfeld J.A., Blumenthal I. et al. Sequencing chromosomal abnormalities reveals neurodevelopmental loci that confer risk across diagnostic boundaries // *Cell*. – 2012. – V. 149. – №. 3. – P. 525-537.
244. Tamblyn J.A., Lissauer D.M., Powell R. The immunological basis of villitis of unknown etiology - review // *Placenta*. – 2013. – V. 34. – №. 10. – P. 846-855.
245. Tao Y., Wu Q., Guo X., Zhang Z. et al. MBD5 regulates iron metabolism via methylation-independent genomic targeting of Fth1 through KAT2A in mice // *Br J Haematol*. – 2014. – T. 166. – №. 2. – P. 279-291.
246. Te Weehi L., Maikoo R., Mc Cormack A. et al. Microduplication of 3p26.3 implicated in cognitive development // *Case Rep Genet*. – 2014.
247. Thompson B.B., Holzer P.H., Kliman H.J. Placental Pathology Findings in Unexplained Pregnancy Losses // *Reprod Sci*. – 2024. – V. 31. – №. 2. – P. 488-504.
248. Tolmacheva E.N., Kashevarova A.A., Nazarenko L.P. et al. Delineation of Clinical Manifestations of the Inherited Xq24 Microdeletion Segregating with sXCI in Mothers: Two Novel Cases with Distinct Phenotypes Ranging from *UBE2A* Deficiency Syndrome to Recurrent Pregnancy Loss // *Cytogenet Genome Res*. – 2020. – V. 160. – №. 5. – P. 245-254.
249. Tsigos C., Chrousos G.P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress // *J Psychosom Res*. – 2002. – V.53. – №. 4. – P. 865-871.
250. Tuchman R. What is the Relationship Between Autism Spectrum Disorders and Epilepsy? // *Semin Pediatr Neurol*. – 2017. – V. 24. – №. 4. – P. 292-300.
251. Vacher C.M., Bonnin A., Mir I.N. et al. Editorial: Advances and perspectives in neuroplacentology // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2023. – V. 14:1206072.

252. Van den Veyver I.B. Skewed X inactivation in X-linked disorders // *Semin Reprod Med.* – 2001. – 19. – №. 2. – P. 183-191.
253. van Dijk M., Mulders J., Könst A. et al. Differential downregulation of alphaT-catenin expression in placenta: trophoblast cell type-dependent imprinting of the *CTNNA3* gene // *Gene Expr Patterns.* – 2004. – V. 5. – №. 1. – P. 61-65.
254. Vasilyev S.A., Skryabin N.A., Kashevarova A.A., et al. Differential DNA Methylation of the *IMMP2L* Gene in Families with Maternally Inherited 7q31.1 Microdeletions is Associated with Intellectual Disability and Developmental Delay // *Cytogenet Genome Res* – 2021. – V. 161. – P. 105-119.
255. Vasin K.S., Vorsanova S.G., Kurinnaia O.S. et al. Bioinformatic analysis of microduplications at 5p15.33: identification of *TPPP* as a candidate gene for autism and intellectual disability // *Research Results in Biomedicine.* – 2020. – V. 6. – №.4. – P. 466-475.
256. Vitelli F., Morishima M., Taddei I. et al. *Tbx1* mutation causes multiple cardiovascular defects and disrupts neural crest and cranial nerve migratory pathways // *Hum Mol Genet.* – 2002. – V. 11. – №. 8. – P. 915-922.
257. Wang H., Li F., Miao M. et al. Maternal spontaneous abortion and the risk of attention-deficit/hyperactivity disorder in offspring: a population-based cohort study // *Hum. Reprod.* – 2020. – V. 35. – №. 5. – P. 1211-1221.
258. Wang Y., Cheng Q., Meng L., et al. Clinical application of SNP array analysis in first-trimester pregnancy loss: a prospective study // *Clin Genet.* – 2017. – V. 91. – №. 6. – P. 849-858.
259. Wang Y., Li Y., Chen Y. et al. Systematic analysis of copy-number variations associated with early pregnancy loss // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2020. – V. 55. – №. 1. – P. 96-104.
260. Wapner R.J., Martin C.L., Levy B., et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis // *N Engl J Med.* – 2012. – T. 367. – №. 23. – P. 2175-2184.

261. Warren J.E., Turok D.K., Maxwell T.M. et al. Array comparative genomic hybridization for genetic evaluation of fetal loss between 10 and 20 weeks of gestation // *Obstet Gynecol.* – 2009. – V. 114. – №. 5. – P. 1093-1102.
262. Wieland J., Zitman F.G. It is time to bring borderline intellectual functioning back into the main fold of classification systems // *BJPsych Bull.* – 2016. – V. 40. – №. 4. – P. 204-206.
263. Winnepeninckx B., Rooms L., Kooy R.F. Mental retardation: a review of the genetic causes // *Br J Dev Disabil.* – 2003. – V. 49. – №. 96. – P. 29–44.
264. Workalemahu T., Dalton S., Allshouse A. et al. Copy number variants and placental abnormalities in stillborn fetuses: A secondary analysis of the Stillbirth Collaborative Research Network study // *BJOG.* – 2022. – V. 129. – №. 13. – P. 2125-2131.
265. Wright D., Boije H., Meadows J.R., et al. Copy number variation in intron 1 of *SOX5* causes the Pea-comb phenotype in chickens // *PLoS Genet.* – 2009. – V. 5. – №. 6:e1000512.
266. Xu H., Cerrato F., Baldini A. Timed mutation and cell-fate mapping reveal reiterated roles of *Tbx1* during embryogenesis, and a crucial function during segmentation of the pharyngeal system via regulation of endoderm expansion // *Development.* – 2005. – V. 132. – №. 19. – P. 4387-4395.
267. Yamagishi H., Maeda J., Hu T. et al. *Tbx1* is regulated by tissue-specific forkhead proteins through a common Sonic hedgehog-responsive enhancer // *Genes Dev.* – 2003. – V. 17. – №. 2. – P. 269-281.
268. Yu H., Mashtalir N., Daou S. et al. The ubiquitin carboxyl hydrolase BAP1 forms a ternary complex with YY1 and HCF-1 and is a critical regulator of gene expression // *Mol Cell Biol.* – 2010. – T. 30. – №. 21. – P. 5071-5085.
269. Yuan H., Shangguan S., Li Z., et al. CNV profiles of Chinese pediatric patients with developmental disorders // *Genet Med.* – 2021. – T. 23. – №. 4. – P. 669-678.

270. Zablotsky B., Black L.I., Maenner M.J., et al. Prevalence and Trends of Developmental Disabilities among Children in the United States: 2009-2017 // *Pediatrics*. – 2019. – V. 144. – №. 4:e20190811.
271. Zarrei M., Burton C.L., Engchuan W. et al. A large data resource of genomic copy number variation across neurodevelopmental disorders // *NPJ Genom. Med.* – 2019. – V. 4:26.
272. Zarrei M., MacDonald J.R., Merico D., Scherer S.W. A copy number variation map of the human genome // *Nat Rev Genet.* – 2015. – V. 16. – №. 3. – P. 172-183.
273. Zeidan J., Fombonne E., Scora J., et al. Global prevalence of autism: A systematic review update // *Autism Res.* – 2022. – V. 15. – №. 5. – P. 778-790.
274. Zeng W., Qi H., Du Y. et al. Analysis of potential copy-number variations and genes associated with first-trimester missed abortion // *Heliyon*. – 2023. – V. 9. – №. 8:e18868.
275. Zhang F., Gu W., Hurles M.E., Lupski J.R. Copy number variation in human health, disease, and evolution. // *Annu Rev Genomics Hum Genet.* – 2009. – V. 10. – P. 451-481.
276. Zhu X., Li J., Zhu Y. et al. Application of chromosomal microarray analysis in products of miscarriage // *Mol Cytogenet.* – 2018. – V. 11:44.
277. Zidi-Jrah I., Hajlaoui A., Mougou-Zerelli S. et al. Relationship between sperm aneuploidy, sperm DNA integrity, chromatin packaging, traditional semen parameters, and recurrent pregnancy loss // *Fertil Steril.* – 2016. – V. 105. – №. 1. – P. 58-64.
278. Zidi-Jrah I., Hajlaoui A., Mougou-Zerelli S. et al. Relationship between sperm aneuploidy, sperm DNA integrity, chromatin packaging, traditional semen parameters, and recurrent pregnancy loss // *Fertil Steril.* – 2016. – V. 105. – №. 1. – P. 58-64.
279. Zlotina A., Melnik O., Fomicheva Y. et al. A 300-kb microduplication of 7q36.3 in a patient with triphalangeal thumb-polysyndactyly syndrome combined with

congenital heart disease and optic disc coloboma: a case report // BMC Med Genomics. – 2020. – V. 13. – №. 1:175.

280. Zun Z., Zaharchuk G., Andescavage N.N. et al. Non-Invasive Placental Perfusion Imaging in Pregnancies Complicated by Fetal Heart Disease Using Velocity-Selective Arterial Spin Labeled MRI // Sci Rep. – 2017. – V. 7. – №. 1:16126.

Интернет-ресурсы:

1. Международная классификация болезней 11-го пересмотра (МКБ-11) [Электронный ресурс]: URL: <https://icd.who.int/ru> (дата обращения: 09.03.2025).
2. База данных геномных вариантов [Электронный ресурс]: Database of Genomic Variants (DGV). URL: <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home> (дата обращения: 09.03.2025).
3. Геномный браузер Ensembl [Электронный ресурс]: Ensembl genome browser. URL: <https://uswest.ensembl.org/index.html> (дата обращения: 09.03.2025).
4. Инструмент для подбора праймеров [Электронный ресурс]: Primer3 tool. URL: <https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/> (дата обращения: 09.03.2025).
5. Инструмент для подбора праймеров [Электронный ресурс]: Primer designing tool – NCBI. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/> (дата обращения: 09.03.2025).
6. Инструмент для проведения анализа обогащения [Электронный ресурс]: Enrichr. URL: <https://maayanlab.cloud/Enrichr/> (дата обращения: 09.03.2025).
7. База данных «Менделевское наследование у человека» [Электронный ресурс]: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). URL: <https://omim.org/> (дата обращения: 09.03.2025).
8. База данных геномных вариантов и фенотипов у человека [Электронный ресурс]: Database of genomic variation and phenotype in humans using Ensembl resources (DECIPHER). URL: <https://www.deciphergenomics.org/> (дата обращения: 09.03.2025).

9. Веб-приложение для интерактивной визуализации, геномного исследования и стандартизированной интерпретации клинической значимости вариаций числа копий участков ДНК (CNV) [Электронный ресурс]: CNV-ClinViewer. URL: <https://cnv-clinviewer.broadinstitute.org/> (дата обращения: 09.03.2025).

10. Международная база данных по лабораторным мышам, предоставляющая интегрированные генетические, геномные и биологические данные [Электронный ресурс]: Mouse Genome Informatics (MGI). URL: <https://www.informatics.jax.org/> (дата обращения: 09.03.2025)

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Номер таблицы	Название таблицы	Стр.
1	Классификация расстройств нейropsychического развития	15
2	Публикации, включенные в анализ спектра CNV у пациентов с расстройствами нейropsychического развития	37
3	Частые CNV, ассоциированные с микроделеционными и микродупликационными синдромами, у пациентов с расстройствами нейropsychического развития	38
4	Результаты анализа обогащения для генов, вовлеченных в патогенетически значимые CNV	41
5	Патогенные делеции региона 8p23.3	45
6	Наиболее частые CNV у спонтанных аборт	49
7	Микроделеции региона 22q11.2	51
8	Состав смеси для мечения	61
9	Приготовление раствора для гибридизации	63
10	Пациенты с расстройствами нейropsychического развития, имеющие патогенные микроделеции и микродупликации	73
11	Наиболее частые вероятно патогенные CNV, обнаруженные в ходе исследования	79
12	Наиболее частые CNV с неопределенной клинической значимостью, обнаруженные в ходе исследования	80
13	Результат aCGH для пробандов из группы семей со случаями спонтанных аборт	92
14	Сравнение частоты патогенных аббераций с частотами вероятно патогенных CNV и вариантов с неопределенной клинической значимостью	94

15	Сравнение частоты патогенных и вероятно патогенных CNV с частотой вариантов с неопределенной клинической значимостью	94
16	Сравнение частот <i>de novo</i> и унаследованных CNV в группах с наличием и отсутствием спонтанных абортс у матери	96
17	Сравнение частот унаследованных CNV в группах с наличием и отсутствием спонтанных абортс у матери	96
18	Сравнение частот микроделений между группами с наличием и отсутствием спонтанных абортс	100
19	Частоты патогенных, вероятно патогенных микроделений и микроделений с неопределенной клинической значимостью в группах с наличием и отсутствием спонтанных абортс	101
20	Частоты микродупликаций и микротрипликаций в группах с наличием и отсутствием спонтанных абортс	102
21	Сравнение частот моногенных и полигенных CNV между группами с наличием и отсутствием спонтанных абортс	104
22	Сравнение вариантов по размеру между группами с наличием и отсутствием спонтанных абортс	106
23	Результат анализа обогащения генов, вовлеченных в CNV у пациентов из группы семей со случаями спонтанных абортс	108
24	Результат анализа обогащения для группы с отсутствием спонтанных абортс	109
25	Ассоциация генов региона 22q11.2 (синдром Ди Джорджи) с нарушениями эмбрионального развития согласно Mouse Genome Informatics	116
26	Ассоциация генов, вовлеченных в микродупликацию региона 16p11.2, с аномалиями эмбриогенеза по данным Mouse Genome Informatics	124

27	Ассоциация генов, вовлеченных в микродупликацию региона 3q29, с аномалиями эмбрионального развития, согласно Mouse Genome Informatics	127
Номер рисунка	Название рисунка	Стр.
1	Классификация CNV	26
2	Алгоритм поиска публикаций (NCBI PubMed)	36
3	Распределение CNV на хромосомах у пациентов с расстройствами нейropsychического развития	39
4	Распределение CNV по размеру у пациентов с расстройствами нейropsychического развития	40
5	Риск спонтанных абортov при хромосомных аномалиях, геномных нарушениях и синдромальных CNV	50
6	Дизайн исследования	58
7	Оценка мечения образцов ДНК	62
8	Программа амплификации отработки условий ПЦР для пар праймеров	67
9	Программа амплификации ПЦР для подтверждения и анализа происхождения CNV	68
10	Характеристика CNV у пациентов с расстройствами нейropsychического развития по клинической значимости	72
11	Характеристика CNV у пациентов с расстройствами нейropsychического развития по копийности	84
12	Характеристика CNV по клинической значимости относительно направления изменения копийности перестроек	85
13	Происхождение CNV у пациентов с расстройствами нейropsychического развития	86

14	Частоты микроделений, микродупликаций и микротрипликаций среди моногенных и полигенных CNV	87
15	Частоты семей с ребенком с расстройством нейropsychического развития, обусловленным CNV, и наличием и отсутствием случаев спонтанных абортoв у матери	90
16	Распределение CNV по размеру в группе семей с наличием и отсутствием спонтанных абортoв	105
17	Родословная пробанда с микроделением 22q11.21	115
18	Родословная семьи пробанда с микродупликацией региона 2q23.1	119
19	А) анализ происхождения микродупликации региона 2q23.1 у пробанда (II-4); Б) верификация микродупликации 2q23.1 у СА (II-2)	119
20	Родословная семьи с ребенком с микродупликацией 16p11.2	123
21	Анализ происхождения микродупликации региона 16p11.2	123
22	Карта CNV в регионе 16p11.2, обнаруженных у пациента с расстройствами нейropsychического развития и у спонтанных абортoв	125
23	Родословная семьи с детьми с микродупликацией региона 3q29	125
24	Результат aCGH пробандов с микродупликацией 3q29	126
25	Анализ происхождения микродупликации региона 3q29	126
26	Карта микродупликаций региона 3q29, обнаруженных у sibсов с расстройствами нейropsychического развития, спонтанного абортa и плода с врожденными пороками развития	128

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 – Результат аCGH у пробандов из группы семей без абортивных исходов беременности

Номер семьи	Результат аCGH(ISCN2020) [McGowan-Jordan J. et al., 2020] и qPCR	Клиническая значимость
1	2	3
Микроделеции		
БСА1	arr[hg19] 2q31.1(171785000_176597527)×1 dn	P
БСА2	arr[hg19] 3q29(195740357_197310451)×1	P
БСА3	arr[hg19] 4p16.3(71552_3210433)×1	P
БСА4	arr[hg19] 7q36.1(151602419_152032715)×1 dn	P
БСА5	arr[hg19] 15q11.2(22885637_23179948)×1 mat	P
БСА6	arr[hg19] 15q13.3(32021733_32510863)×1	P
БСА7	arr[hg19] 16p11.2(29673954_30198600)×1 dn	P
БСА8	arr[hg19] 16p11.2(28837450_29042118)×1	P

Продолжение таблицы А.1

1	2	3
БСА9	arr[hg19] 3p26.3(93949_1023965)×1	LP
БСА10	arr[hg19] 11p13(31521664_31625448)×1 pat	LP
БСА11	arr[hg19] 2q13(110895981_110980401)×1	VUS
БСА12	arr[hg19] 2p11.2(85618822_85646883)×1	VUS
БСА13	arr[hg19] 3q13.31(116233164_116615500)×1	VUS
БСА14	arr[hg19] 4q21.22-q21.23(82583953_85510609)×1	VUS
БСА15	arr[hg19] 4q22.2(93834537_93956119)×1 pat	VUS
БСА16	arr[hg19] 5q31.3(140482936_140530297)×1	VUS
БСА17	arr[hg19] 5q35.3(179663497_179807137)×1	VUS
БСА18	arr[hg19] 7q11.21(64691936_65070919)×1	VUS
БСА19	arr[hg19] 7q31.1(110980176_111366863)×1	VUS
БСА20	arr[hg19] 8q22.1(95884158_96003347)×1	VUS
БСА21	arr[hg19] 8p23.2(2206158_3909039)×1 mat	VUS
БСА22	arr[hg19] 12q13.3(56827680_57079947)×1	VUS

Продолжение таблицы А.1

1	2	3
БСА23	arr[hg19] 12q21.2(75764016_75904796)×1	VUS
БСА24	arr[hg19] 15q13.1(28171359_28273441)×1 pat	VUS
БСА25	arr[hg19] 16q24.1(85012859_85060298)×1	VUS
БСА26	arr[hg19] 16q24.3(90074064_90111263)×1	VUS
БСА27	arr[hg19] 16p12.2(21574908_21739885)×1 pat	VUS
БСА28	arr[hg19] 22q11.23(25664618_25799582)×1	VUS
Микродупликации и микротрипликации		
БСА29	arr[hg19] 2p25.3(1842071_2246200)×4	P
БСА30	arr[hg19] 15q13.3(32021733_32510863)×3 pat	P
БСА31	arr[hg19] 15q13.3(32076948_32510863)×3	P
БСА32	arr[hg19] 15q13.3(32139817_32404023)×3 pat	P
БСА33	arr[hg19] 17q11.2(29124299_29578197)×3	P
БСА34	arr[hg19] Xq28(154120738_154560375)×4	P
БСА35	arr[hg19] 9q34.11(130442410_130658550)×3	LP

Продолжение таблицы А.1

1	2	3
БСА36	arr[hg19] 13q12.11(20153689_20579257)×3	LP
БСА37	arr[hg19] Xp22.32-p22.31(5837199_6182748)×3	LP
БСА38	arr[hg19] 1q25.1(175497401_175726866)×3	VUS
БСА39	arr[hg19] 1p36.22p36.21(12394368_12839470)×3	VUS
БСА40	arr[hg19] 5q11.2(53284507_53591177)×3	VUS
БСА41	arr[hg19] 7q21.2-q21.3(92085702_93605654)×3 pat	VUS
БСА42	arr[hg19] 7q31.1(111130599_111202026)×3	VUS
БСА43	arr[hg19] 8p22-p21.3(18488998_19040109)×3 mat	VUS
БСА44	arr[hg19] 9p21.3(20310511_20650408)×3	VUS
БСА45	arr[hg19] 9p24.3(500525_730088)×3 pat	VUS
БСА46	arr[hg19] 10p11.21(35061767_35302595)×3	VUS
БСА47	arr[hg19] 12q24.12-q24.13(112184121_112308929)×3 mat	VUS
БСА48	arr[hg19] 12q24.12q24.13(112184121_112308929)×3	VUS
БСА49	arr[hg19] 12q24.12q24.13(112184121_112308929)×3	VUS

Продолжение таблицы А.1

1	2	3
БСА50	arr[hg19] 14q31.3(88288638_88621474)×3	VUS
БСА51	arr[hg19] 16q22.1q22.2(69967873_70800379)×3 dn	VUS
БСА52	arr[hg19] 16p11.2(28837450_29042118)×3	VUS
БСА53	arr[hg19] 16p13.2(10092048_10480761)×4	VUS
БСА54	arr[hg19] 17p13.1(10016227_10368033)×3 mat	VUS
БСА55	arr[hg19] 17p13.3(148092_597761)×3	VUS
БСА56	arr[hg19] 19q13.43(56370486_56590093)×3	VUS
БСА57	arr[hg19] 20q13.33(62850226_62893189)×3	VUS
БСА58	arr[hg19] Xp22.2(13737352_13902747)×2 mat	VUS
БСА59	arr[hg19] Xp22.31(6552712_8115153)×2	VUS
БСА60	arr[hg19] Xp22.31(6552712_8115153)×2	VUS
Комбинации CNV		
БСА61	arr[hg19] 15q11.2(22784523_23179948)×1 pat, 16p11.2(29673954_30198600)×3 dn	P, P
БСА62	arr[hg19] 1q41(214776938_214837830)×1, Xq28(153576890_153822717)×3	VUS, P

Продолжение таблицы А.1

1	2	3
БСА63	arr[hg19] 3p22.1(41177103_41754496)×1, Xp22.33(1217017_1427590)×3	P, VUS
БСА64	arr[hg19] 2q12.3(109148244_110074155)×3, 16q22.2(71274401_72403671)×3	LP, VUS
БСА65	arr[hg19] 6q14.3(85683493_86267735)×4, 16q23.3(82738674_83945896)×3	VUS, VUS
БСА66	arr[hg19] 3p21.31(49866061_50196973)×3, 17p13.3(490921_597761)×1	VUS, VUS
БСА67	arr[hg19] 1p31.3(66099329_66290476)×3, 2q33.3(206249500_206376907)×3, 3p24.3(20026812_20595948)×3	VUS, VUS, VUS
БСА68	arr[hg19] Xq26.3(133634030_133699987)×0, 10q26.3(135276496_135372492)×4	P, VUS
БСА69	arr[hg19] 4q31.23(149181199_149284619)×4, 16q21(60836699_65385582)×3	VUS, VUS
БСА70	arr[hg19] 9p23(10320424_13877339)×3, Xp22.33 or Yp11.32(298292_1538820 or 248292_1488820)×3	LP, VUS
БСА71	arr[hg19] 16p13.3(6785607_6881150)×1, Xp22.33 or Yp11.32 (298292_1019080 or 248292_969080)×3	VUS, VUS
БСА72	arr[hg19] 8q24.23q24.3(136746812_140713571)×3, 10q23.33(96453830_96612764)×1	VUS, VUS
БСА73	arr[hg19] 8p11.21p11.1(42938288_43333638)×3, Xp11.23(48791150_49024153)×2	VUS, P
БСА74	arr[hg19] 11p11.2(45910109_46053680)×3, 18q21.33(59777173_59878525)×4	LP, VUS

Окончание таблицы А.1

1	2	3
БСА75	arr[hg19] 9q34.3(138845554_140287676)×3, Xp22.33(209659_2362192)×3	LP, VUS
БСА76	arr[hg19] 17q12(34817422_36168104)×3, 22q11.21(19023824_21379958)×3	P, P
БСА77	arr[hg19] 7q36.2(153569109_153813352)×3, 16p13.11p12.3(15492317_18112776)×3	LP, P

Примечание: dn – происхождение *de novo*, mat – от матери, pat - от отца.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность своему научному руководителю, кандидату биологических наук Кашеваровой Анне Александровне за всестороннюю помощь, поддержку, проявленное терпение, глубокую заинтересованность и компетентное руководство в течение всей научно-исследовательской работы.

Автор выражает глубокую признательность доктору биологических наук, члену-корреспонденту РАН Лебедеву Игорю Николаевичу за ценные советы, поддержку, конструктивную критику, значительную помощь в планировании и обсуждении результатов диссертационной работы.

Автор выражает благодарность научному руководителю Томского НИМЦ, академику РАН, доктору медицинских наук, профессору, Валерию Павловичу Пузыреву, директору Томского НИМЦ, академику РАН, доктору биологических наук, профессору Степанову Вадиму Анатольевичу за предоставленную возможность выполнения диссертационной работы в НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Автор выражает особую признательность научным коллективам лабораторий цитогенетики, онтогенетики и геномики орфанных болезней НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ (в особенности к.м.н. Скрыбину Николаю Алексеевичу, к.м.н. Лопаткиной Марии Евгеньевне, Васильевой Оксане Юрьевне, к.м.н. Беляевой Елене Олеговне, к.м.н. Толмачевой Екатерине Николаевне, к.м.н. Фоновой Елизавете Алексеевне) за помощь в освоении молекулярно-цитогенетических и молекулярно-генетических методов исследования, а также за участие в планировании научной работы, в получении и обсуждении результатов исследования.

Автор выражает благодарность врачам-генетикам и специалистам Медико-генетического центра (Генетической клиники) НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ (в особенности д.м.н., профессору Назаренко Людмиле Павловне, к.м.н. Сеитовой Гульнаре Наримановне, д.м.н. Минайчевой Ларисе Ивановне, к.м.н. Салюковой Ольге Александровне, Вовк

Светлане Леонидовне) за обследование пациентов и помощь в формировании выборки для диссертационной работы.

Огромное спасибо врачам и коллегам, наблюдавшим и направлявшим пациентов для исследования - к.м.н. Масленникову Аркадию Борисовичу, Шориной Асие Ринатовне (Городская клиническая больница №1 (г. Новосибирск), д.м.н. Максимовой Надежде Романовне, к.м.н. Сухомясовой Айталине Лукиничне (Республиканская больница №1 (Национальный центр медицины имени М.Е. Николаева, г. Якутск), Емелиной Дарье Андреевне (Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии имени В.М. Бехтерева (г. Санкт-Петербург), д.б.н. Пчелиной Софье Николаевне, к.б.н. Копытовой Алене Эдуардовне (Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина).

Автор выражает слова искренней благодарности своей семье и друзьям за понимание, безграничное терпение, заботу и невероятную поддержку.