

## МЕЖЛОКУСНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ CNV В ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ФЕНОТИПОВ НАРУШЕНИЙ РАЗВИТИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

© 2022 г. Е. О. Беляева<sup>1</sup>, \*, И. Н. Лебедев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

\*e-mail: elena.belyaeva@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022 г.

После доработки 23.05.2022 г.

Принята к публикации 31.05.2022 г.

Большинство патогенетически значимых CNV, ассоциированных с нарушениями развития нервной системы, характеризуются неполной пенетрантностью и вариабельной экспрессивностью. Однако природа данных феноменов до настоящего времени остается нераскрытой. Как следствие это приводит к неопределенности прогнозов в семьях, имеющих пациентов с вариациями в числе копий ДНК, связанных с заболеванием, но унаследованных от условно здоровых родителей, что имеет принципиальное значение для медико-генетического консультирования. В данной статье обсуждаются доказательства вклада взаимодействий различных генетических вариаций в вариабельность клинических проявлений эффектов CNV при нервно-психических и интеллектуальных расстройствах.

**Ключевые слова:** нарушения развития нервной системы, неполная пенетрантность, вариабельная экспрессивность, модифицирующие факторы, взаимодействия CNV, “двухударная модель”.

**DOI:** 10.31857/S0016675822100022

Прогресс в развитии технологий анализа генома человека выявил новый тип хромосомной изменчивости – вариации в числе копий ДНК (copy number variation, CNV), открывающих неизвестные ранее закономерности гено-фенотипических корреляций [1, 2]. Оказалось, что значительная субмикроскопическая структурная вариабельность генома человека, захватывающая порядка 10% его последовательности [3], вносит существенный вклад в эволюционные процессы, межиндивидуальное разнообразие, а также в формирование большого числа заболеваний [4]. То есть CNV могут быть как фенотипически нейтральными, распространенными в популяции полиморфными вариантами, так и патогенными генетическими формами, ассоциированными с развитием патологий различных категорий: неврологических, психиатрических, онкологических, кардиометаболических, аутоиммунных [5, 6].

Большинство редких патогенных CNV, вызывающих геномные нарушения, возникают *de novo* и не повторяются. В то время как рецидивирующие CNV обуславливают высокий риск, к примеру, нервно-психических заболеваний (задержки развития, умственной отсталости, психических и поведенческих проблем). Показано, что редкие по-

вторяющиеся CNV встречаются примерно у 15% пациентов с нарушениями развития нервной системы (Neurodevelopmental disorder, NDD) [7]. К таким расстройствам относится большое число гетерогенных нозологических форм и синдромов, в основе патогенеза которых лежит нарушение нормальных процессов развития центральной нервной системы [8–10]. Причиной может стать нарушение развития мозга (нарушения образования, созревания и сокращения синапсов, роста и подвижности нейронов, передачи нервного импульса), манифестирующее психомоторными расстройствами или нарушением двигательных функций, процессов обучения, вербальной и невербальной коммуникации и поведения [11, 12].

Варианты, ассоциированные с такими нарушениями, получили название ND-CNV (Neurodevelopmental disorder-associated CNVs). Они с высокой эффективностью детектируются с помощью хромосомного микроматричного анализа, и могут быть представлены полярными изменениями копийности генов в одном и том же хромосомном регионе. В обзоре 2016 г. нами были указаны 58 локусов, в которых зарегистрированы реципрокные микроделеции и микродупликации [13]. Некоторые CNV изначально были ассоциированы со специ-

фическими нейропсихиатрическими диагнозами и названы первичными вариантами – клинически подтвержденными патогенными вариациями, связанными с риском NDD [14]. Например делеция 16p11.2 при аутизме [15, 16], делеция 3q29 при шизофрении [17], делеция 15q13.3 при эпилепсии [18]. Многие локусы ND-CNV включают дозозависимые гены, уменьшение или увеличение копийности которых обуславливает патогенность и приводит к возникновению синдромов микроделций и микродупликаций [19]. Однако в большинстве случаев нарушения развития нервной системы – это сложные полигенные состояния, возникающие в результате комбинированного действия распространенных (частота в популяции  $\geq 5\%$ ) и редких вариантов (частота в популяции  $< 1\%$ ) [20].

Формирование патологических фенотипов пациентов с ND-CNV не может быть сведено к простой сумме биологических процессов или компонентов. Более того, их проявления характеризуются высокой вариабельностью [21]. У носителей часто наблюдается широкий ряд физических, психиатрических и поведенческих симптомов, которые выходят за диагностические границы зарегистрированных синдромов [22]. Вариабельная экспрессивность и неполная пенетрантность могут наблюдаться даже в пределах одной семьи, при этом зачастую ND-CNV наследуются от условно здоровых родителей [23]. Кроме того, в общей популяции также встречаются носители ND-CNV, которые имеют менее выраженные признаки нарушений развития нервной системы и фенотипы, не соответствующие клиническим диагностическим порогам, например, сниженный коэффициент интеллекта (IQ) [8, 22, 24].

Таким образом, граница между полиморфными и патогенными изменениями копийности наследственного материала стирается. Наличие в геноме хромосомных микроделций или микродупликаций не обязательно приводит к развитию аномального фенотипа, а унаследованные от бессимптомных носителей дисбалансы могут являться причиной патологии. Главная задача клинической геномики состоит в том, чтобы предсказать, проявятся ли CNV, захватывающие один ген или несколько генов, как заболевание. Низкая пенетрантность, вариабельная экспрессивность и клинический полиморфизм затрудняют диагностику и понимание механизмов патологических состояний, ассоциированных с микроструктурными хромосомными аномалиями.

#### КЛАССИФИКАЦИЯ CNV ПО ТИПУ НАСЛЕДОВАНИЯ

Поскольку CNV часто затрагивают большое количество генов и регуляторных областей, многие из которых являются биологически активными и

включены в базу данных OMIM, было обнаружено, что патогенные CNV вызывают геномные нарушения с менделевским наследованием [25, 26] или могут быть связаны со сложными многофакторными заболеваниями [27].

В 1998 г. было дано определение понятия “геномное расстройство” – это расстройство, вызванное структурными изменениями генома человека. Такие перестройки ДНК могут привести к потере или увеличению числа копий дозозависимого гена (генов) или нарушению функций гена [28]. В то время как при большинстве моногенных заболеваний аномальный фенотип вызывается точечной мутацией, многие геномные нарушения известны как состояния, являющиеся следствием неаллельной гомологичной рекомбинации между низкокопийными повторами ДНК или сегментными дупликациями [29]. Кроме того, как и в случае крупных хромосомных аберраций, более мелкие CNV, затрагивающие только один экзон или даже меньшие участки, также связаны с развитием заболеваний у человека. Следовательно, в зависимости от размера вовлеченного геномного сегмента, его положения и геномного контекста, а также количества генов в перестроенном сегменте вместе с другими факторами риска, CNV-ассоциированные расстройства могут быть классифицированы на менделевские болезни, синдромы смежных генов, хромосомные нарушения или другие спорадические или комплексные признаки [26].

Менделевские геномные нарушения могут подразделяться на:

аутосомно-рецессивные, например, ювенильный нефронофтиз [30];

аутосомно-доминантные, такие как болезнь Шарко-Мари-Тут типа 1А или наследственная невропатия со склонностью к параличам от сдавления (оба вызваны одним из первых идентифицированных CNV, ассоциированных с заболеванием, т.е. дупликацией или делецией, соответственно, являющихся реципрокными вследствие негомологичного кроссинговера) [25];

X-сцепленные, например гемофилия А [31];

Y-сцепленные признаки, например азооспермия [32].

Стоит отметить, что болезни экспансии три-нуклеотидных повторов ДНК, как одна из форм изменчивости числа копий наследственного материала, также демонстрируют способ наследования в зависимости от хромосомной локализации вовлеченного гена. Для многих из этих расстройств характерны и некоторые немделевские проявления. Они могут включать антиципацию при миотонической дистрофии 1-го типа [33] или фенотип-модифицирующий потенциал отдельных повторяющихся аллелей в сочетании с другими патогенными вариантами, как в случае предполагаемого реципрокного взаимодействия между

премутациями миотонической дистрофии 2-го типа и врожденной миотонией, вызванной мутациями гена *CLCN1* [34].

CNV могут оказывать влияние на статус носительства и проявление рецессивного заболевания [35]. В данной работе проанализированы CNV, выявленные методом сравнительной геномной гибридизации у 21470 человек, с целью дифференцировки делеций, затрагивающих гены рецессивных заболеваний. Было идентифицировано 3212 гетерозиготных носителей делеций, затрагивающих 419 уникальных генов рецессивных заболеваний. Некоторые индивиды имели множественные CNV (307 человек), либо делеции, охватывающие более одного рецессивного гена заболевания (206 делеций). Гетерозиготные делеции, охватывающие множественные рецессивные гены заболевания, могут придавать статус носительства множественных моногенных нарушений, сложных синдромов, возникающих в результате комбинации двух или более рецессивных состояний, или потенциально могут вызывать клинические фенотипы из-за множественного гетерозиготного состояния. В дополнение были выявлены гомозиготные и гемизиготные делеции, потенциально являющиеся причиной рецессивного заболевания. Показано, что CNV вносят вклад в аллельную архитектуру как носителей, так и рецессивных мутаций, вызывающих заболевание.

Также биаллельные CNV могут вызывать заболевание, реализуя эффект как гомозиготных делеций в кровнородственных браках [36, 37], так и сложных гетерозиготных делеций [38]. В некоторых случаях распространенные перестройки ДНК, каждая из которых независимо приводит к заболеванию, могут сочетаться у одного пациента вследствие унаследованных и/или *de novo* событий [39, 40].

Таким образом, классический молекулярно-генетический анализ рассматривает гены и локусы в традиционных менделевских терминах. Однако некоторые из общепринятых представлений должны быть скорректированы при работе с вариантами числа копий ДНК. В целом среди полиморфных CNV можно выделить “менделирующие” CNV, открытие которых в настоящее время находится в экспоненциальной фазе. Они могут приводить к развитию аутосомно-рецессивных, аутосомно-доминантных, X-сцепленных и импринтированных расстройств. Установление типа наследования CNV важно для выявления сегрегации выявленных патогенетически значимых CNV в пределах родословной, что имеет существенное значение для прогноза потомства при медико-генетическом консультировании семей, имеющих детей с интеллектуальными расстройствами и унаследованными микроструктурными хромосомными перестройками.

## ГЕНО-ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ CNV

Существенную часть нарушений развития нервной системы представляют полигенные состояния, такие как расстройства аутистического спектра или шизофрения, которые формируются вследствие комбинированного действия нескольких генетических вариантов в разных локусах [41–43]. В таких случаях, наличия в геноме одной вариации числа копий ДНК, ассоциированной с NDD, недостаточно, чтобы вызвать нервно-психическое заболевание, однако она существенно повышает риск потенциального развития варибельного спектра клинических симптомов, которые остаются непредсказуемыми. Уровень риска модифицируется другими генетическими вариантами, как редкими, так и распространенными в популяции, и может быть различным у носителей одной и той же микроабберации. Этот факт указывает на роль других факторов, влияющих на фенотипическую гетерогенность носителей ND-CNV, что имеет важное значение для клинической диагностики, профилактики, медико-генетического консультирования семей, имеющих больных с нарушениями развития и идентифицированными микроструктурными перестройками.

Документально подтверждено, что примерно у 10% детей с умственной отсталостью и врожденными аномалиями имеется вторая крупная CNV, которая может способствовать более тяжелой клинической картине [44]. Недавно был описан феномен множественных CNV, возникающих *de novo*, при котором индивиды с геномными нарушениями несут множественные конституциональные CNV, которые, по-видимому, возникают в течение определенного периода времени в процессе эмбрионального развития. Формирование множественных мутаций *de novo* является предметом интенсивного изучения и предполагает участие такого механизма как хромотрипсис [45]. Этот “мутационный поток” отличается от мультилокусной вариации или мутационного груза, в то время как унаследованные, так и *de novo* CNV и однонуклеотидные структурные варианты (SNV) агрегируют в индивидуальном геноме и модифицируют фенотипическую экспрессию [46], например, вследствие взаимодействия биологических путей как в случаях цилиопатий [47, 48] и невропатий [49].

Предполагается, что конечная клиническая картина проявлений CNV может зависеть как от воздействия окружающей среды, так и от генетического фона [50–52]. Такие влияющие генетические факторы, вероятно, включают протективные гены или гены, усугубляющие заболевание, расположенные в локусе CNV или в совершенно другой области генома. К примеру, уровень образования как косвенный показатель интеллекта родителей, по-видимому, модулирует интеллектуальные на-

рушения, связанные с делецией 22q11.2 [53], что указывает на взаимодействие CNV с распространенными полиморфными вариантами. Понимание взаимодействия между генетическими факторами, а также с окружающей средой будет ключом к более ясному определению риска заболевания, опосредованного CNV. Исследования взаимодействий между CNV с оценкой полигенного риска в качестве показателя распространенных вариантов уже были начаты при таких расстройствах, как шизофрения [54–56] и синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) [57]. Таким образом, исследования носителей CNV могут помочь разобраться в эффектах сочетаний редких и распространенных вариантов в формировании риска заболеваний нервной системы.

### “ДВУХУДАРНАЯ МОДЕЛЬ” КАК МЕХАНИЗМ ВАРИАБЕЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИВНОСТИ CNV

В контекст полигенной архитектуры нарушения развития нервной системы помещают наличие любого сопутствующего варианта (или вариантов), которые изменяют риск NDD в присутствии ND-CNV или причинной вариации. В первых работах дополнительные варианты, определяемые как “совместно встречающиеся редкие CNV или CNV > 0.5 Мб у носителей ND-CNV”, были предложены в качестве объяснения фенотипической гетерогенности носителей CNV [58, 59]. Так было показано, что микроделеция 16p12.1 размером 520 тпн (NCBI Build 36, chr16: 21854025–22374785) является несиндромальной, т.е. ассоциированной с переменными фенотипами, и наследуется в 95% случаев [58]. Исследование родственников пробандов показало, что родители-носители мутации на самом деле имели субклинические проявления нейропсихического расстройства, включая депрессию, биполярное расстройство, умеренное нарушение обучаемости или судороги. Так в чем же причина подобного клинического полиморфизма? Было показано, что около 25% пробандов также являлись носителями другой более крупной делеции или дупликации. Это оказалось в 40 раз чаще по сравнению с частотой встречаемости сочетания двух и более CNV размером более 500 тпн в общей популяции. Кроме того, клинические черты у пациентов с двумя CNV отличались от тех, у кого была зарегистрирована только одна мутация. Очевидно, что две крупные CNV у одного индивида приведут к увеличению или уменьшению дозы многих генов, посредством этого создавая сенситивизированный геномный фон. Вероятно одной мутации достаточно для формирования некоторых нейропсихических отклонений, тогда как вторая мутация приводит к более тяжелому клиническому проявлению заболевания, сопровождающемуся умственной отсталостью и задержкой развития

[60]. Авторами показана сильная корреляция между долей унаследованных мутаций и частотой мутаций, возникших *de novo* ( $r = 0.87$ ,  $p > 0.01$ ). Данная зависимость отражает функцию приспособленности, где геномные нарушения, ассоциированные с тяжелыми синдромами, подвергаются действию сильного отбора и, следовательно, могут быть обусловлены исключительно событиями *de novo*. Описанные наблюдения и расчеты легли в основу так называемой “двухударной модели”, где вторым “ударом” является дополнительная вариация в том же локусе, которая изолированно может не иметь клинической значимости, но в комбинации с ND-CNV оказывает патогенный эффект.

“Двухударная модель” сначала была предложена для объяснения эффектов аллельных взаимодействий крупных CNV. По прошествии многих лет исследований становится очевидным, что вторая мутация может быть представлена совершенно другими типами генетических вариантов. К ним относятся дополнительные CNV в других областях генома, SNV и другие микроструктурные вариации. “Вторые удары” могут располагаться как в кодирующих, так и в некодирующих участках ДНК с высокими ( $\geq 5\%$ ) и низкими ( $< 1\%$ ) популяционными частотами.

### МОДИФИЦИРУЮЩАЯ РОЛЬ НЕКОДИРУЮЩИХ УЧАСТКОВ ДНК

Привлекает внимание исследование М. Servetti с соавт. по изучению нарушений развития нервной системы у пациентов со сложными фенотипами потенциальной комплексной генетической основой, включающей некодирующие участки ДНК и сочетанные CNV [61]. Обследовано 12 пациентов, со сложными фенотипами, не относящимся к известным синдромальным заболеваниям, в свете информации об экспрессии генов и особенностях организации хроматина вовлеченных геномных регионов. Четыре пациента имели в геноме CNV, вероятно оказывающие косвенное воздействие на экспрессируемые в нейронах гены, и, как следствие, на реализацию патологического фенотипа. В одном случае делеция затронула *MEF2C-AS1*, который кодирует длинную некодирующую РНК (long non-coding RNA, *lncRNA*), аннотированную как антисмысловая РНК известного ассоциированного с NDD гена *MEF2C* (OMIM 600662). *MEF2C* является фактором транскрипции и играет важную роль в миогенезе и нейрогенезе. Гаплонедостаточность *MEF2C* связана с тяжелым когнитивным дефицитом со стереотипными движениями, эпилепсией и/или пороками развития головного мозга. До настоящего времени редко сообщалось об участии антисмысловых генов в NDD. Один пример представлен *PTCHD1-AS* — антисмысловым геном ассоциированного с NDD гена *PTCHD1*. Несмотря на то, что молекулярную

функцию *PTCHD1-AS* еще предстоит четко установить, было продемонстрировано, что его нарушение снижает частоту возбуждающего постсинаптического импульса в нейронах, происходящих из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) у больных с РАС, тем самым подтверждая роль этой длинной некодирующей РНК (lncRNA) в этиологии расстройств аутистического спектра [62]. В последнее время возрос интерес к регуляторным элементам экспрессии генов, таким как lncRNA и энхансерам, с учетом применения новых инструментов для их обнаружения и сточки зрения их участия в заболеваниях головного мозга, в частности, РАС и шизофрении [63, 64].

Были исследованы удаленные, либо напротив дублированные области на предмет задеирования топологически ассоциированных доменов (TAD) или их границ с помощью метода Hi-C. Делеции и дубликации могут перекрывать границы между двумя фланкирующими топологически связанными доменами, вызывая нарушение регуляции организации хроматина и, в свою очередь, нарушение регуляции вовлеченных генов, что в конечном итоге влияет на фенотип пациента. TAD представляют собой высококонсервативные геномные сегменты, которые подразделяют геном на большие единицы с частыми внутридоменными взаимодействиями и, как таковые, являются ключевыми элементами регуляторной организации млекопитающих [65]. Они разделены топологическими пограничными областями (TBR/TDB), которые представляют собой “геномные изоляторы”, блокируя взаимодействия между соседними TAD.

До сих пор влияние CNVs на границы TAD редко исследовалось при NDD [66, 67], однако известно, что CNV в некодирующих областях, затрагивающих генов, связанных с заболеванием, могут приводить к развитию патологии. Интересно, что варибельные фенотипы могут проявляться различными CNV вокруг определенного гена, в зависимости от типа CNV и его положения [68, 69]. Например нарушения регуляторных элементов *SHH* могут приводить к голопрозэнцефалии или преаксиальной полидактилии, в зависимости от расположения перестроек в окружении гена *SHH* [70, 71]. Сходным образом нарушение *SOX9* и его регуляторной области может быть связано с кампомелической дисплазией и с синдромом Пьера Робена [72] или с реверсией пола [73, 74]. Альтернативно, близлежащие дубликации могут приводить к сходному фенотипу, как в локусе *SHOX* [75, 76].

Кроме того, домены конформации хроматина могут быть разными в разных клетках и тканях, и стоит принимать во внимание, что эффекты делеций и дубликаций, выведенные на основе данных TDB, представленных в базах данных, следует считать гипотетическими, заслуживающими даль-

нейшей экспериментальной проверки. Чтобы предварительно провести более надежный анализ данных пациентов, были рассмотрены только TDB, зарегистрированные более чем в одной ткани, предполагая, что они могут представлять особенность хроматина, общую для многих тканей, включая области мозга, вовлеченные в NDD [61]. Во всех представленных случаях CNV охватывали TDB между двумя фланкирующими топологически связанными доменами, описанными как минимум в тех тканях, которые могут играть роль в фенотипе NDD, таких как кора головного мозга [77] и нейроны – производные эмбриональных стволовых клеток (human embryonic stem cell-derived neurons) [78].

### МОДИФИЦИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ МЕЖЛОКУСНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ CNV

Доказательства модифицирующего эффекта, оказываемого дополнительными редкими событиями генетической изменчивости на исходы носительства вариаций, ассоциированных с нарушениями развития нервной системы, только появляются. Как было отмечено ранее, первым сообщением, представленным S. Girirajan с соавт. явилось наблюдение совместно присутствующих редких вариантов и/или CNV размером более 0.5 Мб примерно у 10% носителей ND-CNV с более тяжелым фенотипом (задержкой развития, умственной отсталостью, расстройствами аутистического спектра и врожденными пороками развития) [44, 58].

На сегодняшний день в четырех исследованиях целенаправленно изучались дополнительные редкие варианты у носителей ND-CNV. Такие CNV, ассоциированные с увеличением риска развития шизофрении, были обнаружены у носителей синдромальной микроделеции 22q11.2 [79]. С помощью хромосомного микроматричного анализа было обследовано 329 индивидов с микроделцией 22q11.2, разделенных на две группы: с проявлениями психических расстройств и без них. Показано статистически значимое отличие группы пациентов с шизофренией по носительству дополнительных редких микроделций и микродупликаций, которые содержали гены, ассоциированные с аномальными фенотипами нервной системы и продемонстрировавшие взаимодействие с генами области микроделеции 22q11.2. Интересно, что выявленные дополнительные редкие CNV связаны с известными (например *GRM7*, 15q13.3, 16p12.2) и новыми генами и локусами риска шизофрении.

После этого проведено еще одно небольшое исследование по изучению вклада редких “вторых ударов” в манифестацию шизофрении, задержки развития и психотических эпизодов у носителей микроделеции локуса 22q11.2 [80]. С помощью матричной сравнительной геномной гибридизации

и полноэкзомного секвенирования были выявлены *de novo* и унаследованные редкие патогенные варианты, включая вариации числа копий участков ДНК за пределами области 22q11.2. Взаимодействие выявленных “вторых ударов” с гаплонедостаточностью 22q11.2 может влиять на процессы развития нервной системы, включая пролиферацию нейронов, активность цитоскелета и модификации гистонов, нарушающихся при психозах. Большое число выявленных вариантов участвует в нейрональном развитии, а в сочетании с дополнительными молекулярными событиями влияет на сенсорное восприятие, обонятельную трансдукцию и передачу сигналов через рецепторы, связанные с G-белками, что может объяснить развитие шизофрении, ассоциированной с микроделецией 22q11.2. Однако ввиду небольшого размера выборки (одна семья из 11 человек) в проведенном исследовании не было достигнуто статистически значимости для подтверждения взаимосвязи между наличием сопутствующих вариаций и нарушениями развития нервной системы. Необходимы более масштабные исследования, чтобы продемонстрировать модифицирующие эффекты других редких вариантов на фенотипы носителей ND-CNV.

В третьей работе L. Pizzo и соавт. оценивалось влияние генетического фона на фенотипическую изменчивость среди индивидов, имеющих один и тот же патогенный вариант [14]. Обследовано 757 пробандов и 233 члена семьи, несущих первичные варианты, связанные с нарушением развития нервной системы (17 редких CNV или патогенных вариантов в 301 гене). Количество редких, вероятно патогенных вариантов (“вторых ударов”), коррелировало с экспрессией фенотипов развития нервной системы у пробандов с микроделецией 16p12.1 ( $n = 23$ ,  $p = 0.004$ ) и у пробандов с аутизмом, имеющих нарушающие работу генов варианты ( $n = 184$ ,  $p = 0.03$ ) по сравнению с членами их семей-носителей. У пробандов с микроделецией 16p12.1 и отягощенным семейным анамнезом отмечались более тяжелые клинические проявления ( $p = 0.04$ ) и более высокая частота других нарушений по сравнению с пациентами с неотягощенной наследственностью ( $p = 0.001$ ). Количество сопутствующих вариантов также коррелировало с тяжестью когнитивных нарушений у пробандов-носителей патогенных CNV ( $n = 53$ ) или *de novo* генных мутаций ( $n = 290$ ). Обнаруженные “вторые удары” были определены как потенциально патогенные варианты в функционально зависимых генах, встречающиеся одновременно с первичным вариантом у носителя, и затрагивали известные ассоциированные с нейропсихическими заболеваниями гены, такие как *SETD5*, *AUTS2*, *NRXN1*, вовлеченные в клеточные процессы и процессы раннего развития. Таким образом, сравнение генетического фона между пробандами и

родителями или братьями и сестрами показало, что при наличии одного и того же первичного варианта варибельность и тяжесть нарушений развития нервной системы коррелирует с количеством сопутствующих редких вариантов. Однако в данной работе не изучались механизмы взаимодействий “вторых ударов” и ND-CNV и формирования патологических фенотипов, оставляя вопрос, который должен решаться в будущих исследованиях.

Наконец, по результатам исследования группы под руководством M. Servetti у восьми пациентов (из 12 обследованных) обнаружено по две вариации копийности участков ДНК, перекрывающихся либо с известными генами, ассоциированными с NDD, либо с генами, потенциально играющими роль в развитии нервной системы. У трех пациентов выявлены один *de novo* и один вариант, унаследованный от матери или отца, остальные пять пациентов унаследовали по одному CNV от каждого из своих здоровых родителей [61]. В трех из восьми случаев для вовлеченных генов еще не была установлена связь с заболеванием, и исследователи представили данные в пользу их участия в нарушениях развития нервной системы. Основываясь на информации базы данных “Decipher”, в которой зарегистрированы соответствующие случаи с одним CNV, а также со вторичным CNV, включающим гены, играющие роль в развитии нервной системы, был сделан вывод, что идентифицированные сопутствующие CNV у пациентов действуют аддитивно, вызывая патологические фенотипы, в соответствии с “двухударной моделью”.

Чтобы получить представление о возможном взаимодействии между генами в составе CNV, одновременно встречающихся у одного и того же пациента, и оценить, имеют ли эти гены общие молекулярные функции или биологические процессы, были проведены анализы обогащения генов и белок-белкового взаимодействия. Также осуществлена проверка взаимодействия с другими известными генами, ассоциированными с NDD, с целью определения роли новых генов-кандидатов в процессах развития нервной системы. В одном случае два основных вовлеченных гена *CNTNAP2* и *LRRC4C* взаимодействуют друг с другом и с другими генами, связанными с NDD, через *NRXN1* и выполняют общую функцию в молекулярном пути клеточной адгезии KEGG. Во всех других случаях гены, затрагиваемые сопутствующими CNV, по видимому не взаимодействуют напрямую, однако они играют роль в различных важных биологических процессах, которые совместно способствуют правильному развитию мозга. Так, у двух пациентов выявлены гены, участвующие в одном и том же пути либо биологическом процессе, и один дополнительный ген, связанный с другим биологическим процессом. В частности, оба пациента имеют по одной CNV с генами с общей функцией в сплайсинге мРНК, и у каждого из двух пациентов

есть дополнительная CNV, включающая другой ген, участвующий в адгезии синаптической мембраны и в передаче сигналов через рецептор, связанный с G-белками. Таким образом, выдвинуто предположение, что во всех описанных случаях механизм “двойных ударов”, воздействуя на два пути или биологических процесса, в конечном итоге определяет нарушение нервно-психического развития.

Отмечено, что сопутствующие вторичные CNV, затрагивающие гены NDD, обнаруживаются и у пациентов с синдромальными или рекуррентными потенциально патогенными CNV, которые могли модулировать пенетрантность и/или тяжесть заболевания. Это явление хорошо иллюстрируется двумя случаями сибсов, которые имеют две общих CNV, затрагивающих известные гены NDD, включая известную микроделецию 15q11.2 со сниженной пенетрантностью [81]. В дополнение к этим двум CNV одна пациентка имела микроделецию хромосомы 16, включающую известный ген NDD *RBFOX1*, также характеризующийся сниженной пенетрантностью [82]. Эта пациентка, являющаяся носителем в общей сложности трех CNV, демонстрировала более сложный фенотип по сравнению с ее братом.

В целом, в данном исследовании сделан вывод о некоторых синергетических и сложных механизмах, которые могли вызвать нарушение развития нервной системы у обследованных пациентов. Тем не менее, новые гены-кандидаты и гены, затронутые сопутствующими CNV, хотя и индивидуально связаны с биологическими процессами NDD, требуют дальнейшего функционального анализа для понимания их потенциальных взаимодействий и, в конечном итоге, для уточнения их модифицирующего эффекта и вклада в формирование патологических фенотипов пациентов.

#### ВОЗМОЖНОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВ МЕЖЛОКУСНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ CNV

Высокая вариабельность и сложность генетических компонентов затрудняют функциональную проверку генов и патогенных механизмов нарушений развития нервной системы. Проверка гипотезы о механистической структуре у одного пациента может представлять собой отдельный исследовательский проект. К примеру, в приведенной выше работе можно рассмотреть различные уровни дообследования, начиная с проверки влияния CNV на экспрессию соответствующих генов в нейронах, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) пациентов. С помощью такого подхода возможно оценить влияние делеций антисмысловых транскриптом или генов микроРНК на экспрессию их специфических мишеней или CNV, включающих границы

TAD на вовлеченных генах. Дальнейший этап исследования может заключаться в анализе морфологии и связей в нейронах, полученных из ИПСК, с целью выявления нарушений молекул клеточной адгезии. Нейроны, полученные из ИПСК, можно использовать для оценки дефектов сплайсинга РНК. Для изучения влияния более сложных генетических механизмов на развитие мозга и поведение, дальнейший уровень проверки может быть представлен исследованиями на животных моделях. Поскольку могут быть получены мыши с двойными/множественными гетерозиготными вариантами [83], также можно оценить синергетические эффекты нескольких вариантов. С этой точки зрения, а также, поскольку доступны мышиные модели для генов *LRRC4C* и *CNTNAP2*, может быть интересно получить линию мышей, несущих гетерозиготные мутации с потерей функции в обоих генах.

Обращает на себя внимание, что в новых исследованиях “двухударная гипотеза” выходит за рамки объяснения взаимодействий двух герминативных вариантов, наблюдаемых, к примеру, у пациентов с тяжелой задержкой развития. Она подтверждается наличием дополнительного соматического генетического варианта, присутствующего только в нарушенных отделах головного мозга и возникающего во время клеточного деления, когда быстрая пролиферация клеток-предшественников нейронов обеспечивает идеальную среду для накопления мозаичных соматических вариантов. Данная модель “двух ударов” со сниженной пенетрантностью, когда герминативные варианты создают риск и в сочетании со вторым, постзиготическим генетическим нарушением, вызывают порок развития, была подтверждена недавними наблюдениями. Так, были описаны две мутации в одном и том же гене *TSC2* у двух пациентов с гемимегалэнцефалией [84], и в *DEPDC5* у шести пациентов с фокальной корковой дисплазией [85, 86]. У всех шести пациентов герминативный вариант был обнаружен в ДНК, выделенной из крови, а второй соматический вариант с низкой аллельной фракцией в том же гене был обнаружен только в ДНК, полученной из тканей головного мозга. Еще в одном исследовании варианты в разных генах были зарегистрированы в двух случаях: один пациент страдал эпилепсией и был носителем мутации гена *TSC2* в сочетании с соматической вариацией гена *DEPDC5* [87], а у другого была гемимегалэнцефалия и фармакорезистентная эпилепсия и идентифицированы соматические варианты в генах *MTOR* и *RPS6* [88]. Наконец, в работе текущего года предполагается кумулятивный эффект вариантов в двух генах рапамицинового (mTOR) пути, вовлеченного в формирование нескольких пороков развития коры головного мозга. У двух братьев, страдающих структурной фокальной лекарственно-резистентной эпилепсией, обусловленной фо-

кальной кортикальной дисплазией (ФКД), идентифицированы патогенные герминативные варианты mTOR-пути (*NPRL3*). И у одного из sibсов верифицирован соматический вариант (*WNT2*) в пересекающемся сигнальном пути WNT, потенциально вовлекающий ген *WNT2* в развитие ФКД и поддерживая тем самым “двухударную модель” [89]. Однако, учитывая, что соматические варианты часто присутствуют с очень низкой долей аллелей (например, в <5% молекул ДНК), их сложно обнаружить без целенаправленного глубокого секвенирования, что означает, что такие варианты обнаруживаются редко. Тем не менее, будучи ограниченными тканями мозга, патогенные варианты вносят свой вклад в “скрытую генетику” ряда неврологических заболеваний [90].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном обзоре приведены результаты исследований, подтверждающих гипотезу о том, что механизмы “двойных ударов”, включающие унаследованные и *de novo* CNV, могут посредством синергетического взаимодействия формировать или модулировать фенотип нарушений развития нервной системы. Поскольку варианты, вызывающие нервно-психические расстройства, могут быть представлены как CNV, так и однонуклеотидными вариантами (SNV), изолированными или комбинированными, подход к молекулярно-генетической диагностике нарушений нейропсихического развития вероятно должен учитывать методы, способные обнаруживать оба типа генетической изменчивости. Недавно опубликованные данные показывают, что при NDD полноэкзомное секвенирование имеет диагностический выход порядка 36%, тогда как хромосомный микроматричный анализ – менее 20% [91, 92]. Кроме того, целесообразно практиковать интегрированную структуру исследования сочетанных CNV на основе общедоступных ресурсов геномных аннотаций и биоинформационного анализа для приоритизации генов-кандидатов и биологических путей. Таким образом, идентификация комбинаций патогенных вариантов представляется более эффективной при последовательном применении хромосомного микроматричного анализа и секвенирования экзона, что подчеркивает важность детекции генетического фона для уточнения пенетрантности клинически значимой вариации [14].

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-75-00112, <https://rscf.ru/project/21-75-00112/>.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0686-8>
2. Pös O., Radvanszky J., Buglyó G. et al. DNA copy number variation: Main characteristics, evolutionary significance, and pathological aspects // *Biomed. J.* 2021. V. 44. № 5. P. 548–559. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2021.02.003>
3. Hovhannisyán G., Harutyunyan T., Aroutiounian R. et al. DNA copy number variations as markers of mutagenic impact // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 19. P. 4723. <https://doi.org/10.3390/ijms20194723>
4. Yang X., Lee W.P., Ye K., Lee C. One reference genome is not enough // *Genome Biol.* 2019. V. 20. № 1. P. 104. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1717-0>
5. Li Y.R., Glessner J.T., Coe B.P. et al. Rare copy number variants in over 100000 European ancestry subjects reveal multiple disease associations // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. № 1. P. 255. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13624-1>
6. Niarchou M., Chawner S.J.R.A., Doherty J.L. et al. Psychiatric disorders in children with 16p11.2 deletion and duplication // *Transl. Psychiatry.* 2019. V. 9. № 1. P. 8. <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0339-8>
7. Wilfert A.B., Sulovari A., Turner T.N. et al. Recurrent *de novo* mutations in neurodevelopmental disorders: Properties and clinical implications // *Genome Med.* 2017. V. 9. № 1. P. 101. <https://doi.org/10.1186/s13073-017-0498-x>
8. Owen D., Bracher-Smith M., Kendall K.M. et al. Effects of pathogenic CNVs on physical traits in participants of the UK Biobank // *BMC Genomics.* 2018. V. 19. № 1. P. 867. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5292-7>
9. Cardoso A.R., Lopes-Marques M., Silva R.M. et al. Essential genetic findings in neurodevelopmental disorders // *Hum. Genomics.* 2019. V. 13. № 1. P. 31. <https://doi.org/10.1186/s40246-019-0216-4>
10. 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. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2020.22.1>
11. Ismail F.Y., Shapiro B.K. What are neurodevelopmental disorders? // *Curr. Opin. Neurol.* 2019. V. 32. № 4. P. 611–616. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000710>
12. D’haene E., Vergult S. Interpreting the impact of non-coding structural variation in neurodevelopmental dis-

- orders // *Genet. Med.* 2021. V. 1. № 34. P. 34–46.  
<https://doi.org/10.1038/s41436-020-00974-1>
13. *Кашеварова А.А., Лебедев И.Н.* Геномная архитектура хромосомных болезней человека // *Генетика*. 2016. Т. 52. № 5. С. 511–528.  
<https://doi.org/10.7868/S0016675816040068>
  14. *Pizzo L., Jensen M., Polyak A. et al.* Rare variants in the genetic background modulate cognitive and developmental phenotypes in individuals carrying disease-associated variants // *Genet. Med.* 2019. V. 21. № 4. P. 816–825.  
<https://doi.org/10.1038/s41436-018-0266-3>
  15. *Weiss L.A., Shen Y., Korn J.M. et al.* Association between microdeletion and microduplication at 16p11.2 and autism // *N. Engl. J. Med.* 2008. V. 358. № 7. P. 667–675.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa075974>
  16. *Zufferey F., Sherr E.H., Beckmann N.D. et al.* A 600 kb deletion syndrome at 16p11.2 leads to energy imbalance and neuropsychiatric disorders // *J. Medical Genetics*. 2012. V. 49. № 10. P. 660–668.  
<https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101203>
  17. *Mulle J.G.* The 3q29 deletion confers >40-fold increase in risk for schizophrenia // *Mol. Psychiatry*. 2015. V. 20. № 9. P. 1028–1029.  
<https://doi.org/10.1038/mp.2015.76>
  18. *Helbig I., Mefford H.C., Sharp A.J. et al.* 15q13.3 microdeletions increase risk of idiopathic generalized epilepsy // *Nat. Genet.* 2009. V. 41. № 2. P. 160–162.  
<https://doi.org/10.1038/ng.292>
  19. *Rice A.M., McLysaght A.* Dosage sensitivity is a major determinant of human copy number variant pathogenicity // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. P. 14366.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms14366>
  20. *Geschwind D.H., Flint J.* Genetics and genomics of psychiatric disease // *Science*. 2015. V. 349. № 6255. P. 1489–1494.  
<https://doi.org/10.1126/science.aaa8954>
  21. *Falk A., Heine V.M., Harwood A.J. et al.* Modeling psychiatric disorders: from genomic findings to cellular phenotypes // *Mol. Psychiatry*. 2016. V. 9. P. 1167–1179.  
<https://doi.org/10.1038/mp.2016.89>
  22. *Crawford K., Bracher-Smith M., Owen D. et al.* Medical consequences of pathogenic CNVs in adults: analysis of the UK Biobank // *J. Med. Genet.* 2019. V. 56. № 3. P. 131–138.  
<https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105477>
  23. *Woodbury-Smith M., Nicolson R., Zarrei M. et al.* Variable phenotype expression in a family segregating microdeletions of the *NRXN1* and *MBD5* autism spectrum disorder susceptibility genes // *NPJ Genom. Med.* 2017. V. 2. P. 17.  
<https://doi.org/10.1038/s41525-017-0020-9>
  24. *Kendall K.M., Bracher-Smith M., Fitzpatrick H. et al.* Cognitive performance and functional outcomes of carriers of pathogenic copy number variants: Analysis of the UK Biobank // *Br. J. Psychiatry*. 2019. V. 214. № 5. P. 297–304.  
<https://doi.org/10.1192/bjp.2018.301>
  25. *Lupski J.R., de Oca-Luna R.M., Slaugenhaupt S. et al.* DNA duplication associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A // *Cell*. 1991. V. 66. № 2. P. 219–232.  
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90613-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90613-4)
  26. *Stankiewicz P., Lupski J.R.* Genome architecture, rearrangements and genomic disorders // *Trends Genet.* 2002. V. 18. № 2. P. 74–82.  
[https://doi.org/10.1016/s0168-9525\(02\)02592-1](https://doi.org/10.1016/s0168-9525(02)02592-1)
  27. *Fellermann K., Stange D.E., Schaeffeler E. et al.* A chromosome 8 gene-cluster polymorphism with low human beta-defensin 2 gene copy number Predisposes to Crohn disease of the colon // *Am. J. Hum. Genet.* 2006. V. 79. № 3. P. 439–448.  
<https://doi.org/10.1086/505915>
  28. *Lupski J.R.* Genomic disorders: Structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits // *Trends Genet.* 1998. V. 14. № 10. P. 417–422.  
[https://doi.org/10.1016/s0168-9525\(98\)01555-8](https://doi.org/10.1016/s0168-9525(98)01555-8)
  29. *Shaffer L.G., Lupski J.R.* Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans // *Annu. Rev. Genet.* 2000. V. 34. P. 297–329.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.genet.34.1.297>
  30. *Konrad M., Saunier S., Heidet L. et al.* Large homozygous deletions of the 2q13 region are a major cause of juvenile nephronophthisis // *Hum. Mol. Genet.* 1996. V. 5. № 3. P. 367–371.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/5.3.367>
  31. *Gitschier J., Wood W.I., Tuddenham E.G. et al.* Detection and sequence of mutations in the factor VIII gene of haemophiliacs // *Nature*. 1985. V. 315. № 6018. P. 427–430.  
<https://doi.org/10.1038/315427a0>
  32. *Kuroda-Kawaguchi T., Skaletsky H., Brown L.G. et al.* The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men // *Nat. Genet.* 2001. V. 29. № 3. P. 279–286.  
<https://doi.org/10.1038/ng757>
  33. *Brook J.D., McCurrach M.E., Harley H.G. et al.* Molecular basis of myotonic dystrophy: Expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member // *Cell*. 1992. V. 68. № 4. P. 799–808.  
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90154-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90154-5)
  34. *Radvanszky J., Surovy M., Polak E., Kadasi L.* Uninterrupted CCTG tracts in the myotonic dystrophy type 2 associated locus // *Neuromuscul. Disord.* 2013. V. 23. № 7. P. 591–598.  
<https://doi.org/10.1016/j.nmd.2013.02.013>
  35. *Boone P.M., Campbell I.M., Baggett B.C. et al.* Deletions of recessive disease genes: CNV contribution to carrier states and disease-causing alleles // *Genome Res.* 2013. V. 23. № 9. P. 1383–1394.  
<https://doi.org/10.1101/gr.156075.113>
  36. *Chen D.H., Naydenov A., Blankman J.L. et al.* Two novel mutations in *ABHD12*: Expansion of the mutation spectrum in *PHARC* and assessment of their functional effects // *Hum. Mutat.* 2013. V. 34. № 12. P. 1672–1678.  
<https://doi.org/10.1002/humu.22437>
  37. *Parvari R., Brodyansky I., Elpeleg O. et al.* A recessive contiguous gene deletion of chromosome 2p16 associ-

- ated with cystinuria and a mitochondrial disease // *Am. J. Hum. Genet.* 2001. V. 69. № 4. P. 869–875.  
<https://doi.org/10.1086/323624>
38. Harel T., Yoon W.H., Garone C. et al. Recurrent *de novo* and biallelic variation of *ATAD3A*, encoding a mitochondrial membrane protein, results in distinct neurological syndromes // *Am. J. Hum. Genet.* 2016. V. 99. № 4. P. 831–845.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.08.007>
  39. Potocki L., Chen K.S., Koeuth T. et al. DNA rearrangements on both homologues of chromosome 17 in a mildly delayed individual with a family history of autosomal dominant carpal tunnel syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* 1999. V. 64. № 2. P. 471–478.  
<https://doi.org/10.1086/302240>
  40. Bi W., Probst F.J., Wiszniewska J. et al. Co-occurrence of recurrent duplications of the DiGeorge syndrome region on both chromosome 22 homologues due to inherited and *de novo* events // *J. Med. Genet.* 2012. V. 49. № 11. P. 681–688.  
<https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101002>
  41. Pardiñas A.F., Holmans P., Pocklington A.J. et al. Common schizophrenia alleles are enriched in mutation-intolerant genes and in regions under strong background selection // *Nat. Genet.* 2018. V. 50. № 3. P. 381–389.  
<https://doi.org/10.1038/s41588-018-0059-2>
  42. Grove J., Ripke S., Als T.D. et al. Identification of common genetic risk variants for autism spectrum disorder // *Nat. Genet.* 2019. V. 51. № 3. P. 431–444.  
<https://doi.org/10.1038/s41588-019-0344-8>
  43. Satterstrom F.K., Kosmicki J.A., Wang J. et al. Large-scale exome sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism // *Cell.* 2020. V. 180. № 3. P. 568–584. e23.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.12.036>
  44. 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.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200395>
  45. Brás A., Rodrigues A.S., Rueff J. Copy number variations and constitutional chromothripsis (Review) // *Biomed. Rep.* 2020. V. 13. № 3. P. 11.  
<https://doi.org/10.3892/br.2020.1318>
  46. Pebrel-Richard C., Debost-Legrand A., Eymard-Pierre E. et al. An unusual clinical severity of 16p11.2 deletion syndrome caused by unmasked recessive mutation of *CLN3* // *Eur. J. Hum. Genet.* 2014. V. 22. № 3. P. 369–373.  
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.141>
  47. Lindstrand A., Davis E.E., Carvalho C.M. et al. Recurrent CNVs and SNVs at the *NPHP1* locus contribute pathogenic alleles to Bardet-Biedl syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* 2014. V. 94. № 5. P. 745–754.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.03.017>
  48. Lindstrand A., Frangakis S., Carvalho C.M. et al. Copy-number variation contributes to the mutational load of Bardet-Biedl syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* 2016. V. 99. № 2. P. 318–336.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.04.023>
  49. Gonzaga-Jauregui C., Harel T., Gambin T. et al. Exome sequence analysis suggests that genetic burden contributes to phenotypic variability and complex neuropathy // *Cell. Rep.* 2015. V. 12. № 7. P. 1169–1183.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.07.023>
  50. Kirov G., Rees E., Walters J.T.R. The penetrance of copy number variations for schizophrenia and developmental delay // *Biol. Psychiatry.* 2014. V. 75. № 5. P. 378–385.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.07.022>
  51. Huguet G., Schramm C., Douard E. et al. Measuring and estimating the effect sizes of copy number variants on general intelligence in community-based samples // *JAMA Psychiatry.* 2018. V. 75. № 5. P. 447–457.  
<https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2018.0039>
  52. Cleynen I., Engchuan W., Hestand M.S. et al. Genetic contributors to risk of schizophrenia in the presence of a 22q11.2 deletion // *Mol. Psychiatry.* 2021. V. 26. № 8. P. 4496–4510.  
<https://doi.org/10.1038/s41380-020-0654-3>
  53. Klaassen P., Duijff S., Swanenburg de Veye H. et al. Explaining the variable penetrance of CNVs: Parental intelligence modulates expression of intellectual impairment caused by the 22q11.2 deletion // *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 2016. V. 171. № 6. P. 790–796.  
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32441>
  54. Tansey K.E., Rees E., Linden D.E. et al. Common alleles contribute to schizophrenia in CNV carriers // *Mol. Psychiatry.* 2016. V. 21. № 8. P. 1085–1089.  
<https://doi.org/10.1038/mp.2015.143>
  55. Bergen S.E., Ploner A., Howrigan D. et al. Joint contributions of rare copy number variants and common SNPs to risk for schizophrenia // *Am. J. Psychiatry.* 2018. V. 176. № 1. P. 29–35.  
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2018.17040467>
  56. Davies R.W., Fiksinski A.M., Breetvelt E.J. et al. Using common genetic variation to examine phenotypic expression and risk prediction in 22q11.2 deletion syndrome // *Nature Medicine.* 2020. V. 26. № 12. P. 1912–1918.  
<https://doi.org/10.1038/s41591-020-1103-1>
  57. Martin J., O'Donovan M.C., Thapar A. et al. The relative contribution of common and rare genetic variants to *ADHD* // *Transl. Psychiatry.* 2015. V. 5. № 2. P. e506.  
<https://doi.org/10.1038/tp.2015.5>
  58. Girirajan S., Rosenfeld J.A., Cooper G.M. et al. A recurrent 16p12.1 microdeletion supports a two-hit model for severe developmental delay // *Nat. Genet.* 2010. V. 42. № 3. P. 203–209.  
<https://doi.org/10.1038/ng.534>
  59. Kirov G., Pocklington A.J., Holmans P. et al. *De novo* CNV analysis implicates specific abnormalities of post-synaptic signalling complexes in the pathogenesis of schizophrenia // *Mol. Psychiatry.* 2012. V. 17. № 2. P. 142–153.  
<https://doi.org/10.1038/mp.2011.154>
  60. Girirajan S., Eichler E.E. Phenotypic variability and genetic susceptibility to genomic disorders // *Hum. Mol. Genet.* 2010. V. 19. № R2. P. 176–187.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddq366>
  61. 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. P. 732002.  
<https://doi.org/10.3389/fgene.2021.732002>
62. Ross P.J., Zhang W.B., Mok R.S.F. et al. Synaptic dysfunction in human neurons with autism-associated deletions in *PTCHD1-AS* // *Biol. Psychiatry.* 2020. V. 87. № 2. P. 139–149.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.07.014>
  63. Piluso G., Monteleone P., Galderisi S. et al. Assessment of *de novo* copy-number variations in Italian patients with schizophrenia: Detection of putative mutations involving regulatory enhancer elements // *World J. Biol. Psychiatry.* 2019. V. 20. № 2. P. 126–136.  
<https://doi.org/10.1080/15622975.2017.1395072>
  64. Alinejad-Rokny H., Heng J.I.T., Forrest A.R.R. Brain-enriched coding and long non-coding RNA genes are overrepresented in recurrent neurodevelopmental disorder CNVs // *Cell Rep.* 2020. V. 33. № 4. P. 108307.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108307>
  65. Lupiáñez D.G., Kraft K., Heinrich V. et al. Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions // *Cell.* 2015. V. 161. № 5. P. 1012–1025.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.04.004>
  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.  
<https://doi.org/10.1111/cge.13009>
  67. Melo U.S., Schöpflin R., Acuna-Hidalgo R. et al. Hi-C identifies complex genomic rearrangements and TAD-Shuffling in developmental diseases // *Am. J. Hum. Genet.* 2020. V. 106. № 6. P. 872–884.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2020.04.016>
  68. Ordulu Z., Kammin T., Brand H. et al. Structural chromosomal rearrangements require nucleotide-level resolution: Lessons from next-generation sequencing in prenatal diagnosis // *Am. J. Hum. Genet.* 2016. V. 99. № 5. P. 1015–1033.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.08.022>
  69. Zhang F., Lupski J.R. Non-coding genetic variants in human disease // *Hum. Mol. Genet.* 2015. V. 24. № R1. P. R102–R110.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddv259>
  70. Fernandez B.A., Siegel-Bartelt J., Herbrick J.A. et al. Holoprosencephaly and cleidocranial dysplasia in a patient due to two position-effect mutations: case report and review of the literature // *Clin. Genet.* 2005. V. 68. № 4. P. 349–359.  
<https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2005.00498.x>
  71. Petit F., Jourdain A.S., Holder-Espinasse M. et al. The disruption of a novel limb cis-regulatory element of *SHH* is associated with autosomal dominant preaxial polydactyly-hypertrichosis // *Eur. J. Hum. Genet.* 2016. V. 24. № 1. P. 37–43.  
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2015.53>
  72. Benko S., Fantès J.A., Amiel J. et al. Highly conserved non-coding elements on either side of *SOX9* associated with Pierre Robin sequence // *Nat. Genet.* 2009. V. 41. № 3. P. 359–364.  
<https://doi.org/10.1038/ng.329>
  73. Cox J.J., Willatt L., Homfray T., Woods C.G. A *SOX9* duplication and familial 46,XX developmental testicular disorder // *N. Engl. J. Med.* 2011. V. 364. № 1. P. 91–93.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMc1010311>
  74. Pop R., Conz C., Lindenberg K.S. et al. Screening of the 1 Mb *SOX9* 5' control region by array CGH identifies a large deletion in a case of campomelic dysplasia with XY sex reversal // *J. Med. Genet.* 2004. V. 41. № 4. P. e47.  
<https://doi.org/10.1136/jmg.2003.013185>
  75. Fukami M., Naiki Y., Muroya K. et al. Rare pseudoautosomal copy-number variations involving *SHOX* and/or its flanking regions in individuals with and without short stature // *J. Hum. Genet.* 2015. V. 60. № 9. P. 553–556.  
<https://doi.org/10.1038/jhg.2015.53>
  76. Bunyan D.J., Baffico M., Capone L. et al. Duplications upstream and downstream of *SHOX* identified as novel causes of Leri–Weill dyschondrosteosis or idiopathic short stature // *Am. J. Med. Genet. A.* 2016. V. 170. № 4. P. 949–957.
  77. Schmitt A.D., Hu M., Ren B. Genome-wide mapping and analysis of chromosome architecture // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2016. V. 17. № 12. P. 743–755.  
<https://doi.org/10.1038/nrm.2016.104>
  78. Dixon J.R., Jung I., Selvaraj S. et al. Chromatin architecture reorganization during stem cell differentiation // *Nature.* 2015. V. 518. № 7539. P. 331–336.  
<https://doi.org/10.1038/nature14222>
  79. Bassett A.S., Lowther C., Merico D. et al. International 22q11.2DS brain and behavior consortium. Rare genome-wide copy number variation and expression of schizophrenia in 22q11.2 deletion syndrome // *Am. J. Psychiatry.* 2017. V. 174. № 11. P. 1054–1063.  
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2017.16121417>
  80. Michaelovsky E., Carmel M., Frisch A. et al. Risk gene-set and pathways in 22q11.2 deletion-related schizophrenia: A genealogical molecular approach // *Transl. Psychiatry.* 2019. V. 9. № 1. P. 15.  
<https://doi.org/10.1038/s41398-018-0354-9>
  81. Cox D.M., Butler M.G. The 15q11.2 BP1-BP2 microdeletion syndrome: A review // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. V. 16. № 2. P. 4068–4082.  
<https://doi.org/10.3390/ijms16024068>
  82. Lal D., Trucks H., Möller R.S. et al. Rare exonic deletions of the *RBFOX1* gene increase risk of idiopathic generalized epilepsy // *Epilepsia.* 2013. V. 54. № 2. P. 265–271.  
<https://doi.org/10.1111/epi.12084>
  83. Bossi S., Musante I., Bonfiglio T. et al. Genetic inactivation of mGlu5 receptor improves motor coordination in the *Grm1crv4* mouse model of *SCAR13* ataxia // *Neurobiol. Dis.* 2018. V. 109 (Pt A). P. 44–53.  
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.10.001>
  84. Lim J.S., Gopalappa R., Kim S.H. et al. Somatic mutations in *TSC1* and *TSC2* cause focal cortical dysplasia // *Am. J. Hum. Genet.* 2017. V. 100. № 3. P. 454–472.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.01.030>
  85. Lee W.S., Stephenson S.E.M., Howell K.B. et al. Second-hit *DEPDC5* mutation is limited to dysmorphic neurons in cortical dysplasia type IIA // *Ann. Clin.*

- Transl. Neurol. 2019. V. 6. № 7. P. 1338–1344.  
<https://doi.org/10.1002/acn3.50815>
86. *Baldassari S., Ribierre T., Marsan E. et al.* Dissecting the genetic basis of focal cortical dysplasia: A large cohort study // *Acta. Neuropathol.* 2019. V. 138. № 6. P. 885–900.  
<https://doi.org/10.1007/s00401-019-02061-5>
87. *Sim N.S., Ko A., Kim W.K. et al.* Precise detection of low-level somatic mutation in resected epilepsy brain tissue // *Acta. Neuropathol.* 2019. V. 138. № 6. P. 901–912.  
<https://doi.org/10.1007/s00401-019-02052-6>
88. *Pelorosso C., Watrin F., Conti V. et al.* Somatic double-hit in *MTOR* and *RPS6* in hemimegalencephaly with intractable epilepsy // *Hum. Mol. Genet.* 2019. V. 28. № 22. P. 3755–3765.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddz194>
89. *Bennett M.F., Hildebrand M.S., Kayumi S. et al.* Evidence for a dual-pathway, 2-hit genetic model for focal cortical dysplasia and epilepsy // *Neurol. Genet.* 2022. V. 8. № 1. P. e652.  
<https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000652>
90. *Ye Z., McQuillan L., Poduri A. et al.* Somatic mutation: The hidden genetics of brain malformations and focal epilepsies // *Epilepsy Res.* 2019. V. 155. P. 106161.  
<https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2019.106161>
91. *Srivastava S., Love-Nichols J.A., Love-Nichols J.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.  
<https://doi.org/10.1038/s41436-019-0554-6>
92. *Savatt J.M., Myers S.M.* Genetic testing in neurodevelopmental disorders // *Front. Pediatr.* 2021. V. 19. № 9. P. 526779.  
<https://doi.org/10.3389/fped.2021.526779>

## Interloci CNV Interactions in Variability of the Neurodevelopmental Disorders Phenotypes

E. O. Belyaeva<sup>a,\*</sup> and I. N. Lebedev<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia*

<sup>\*</sup>*e-mail: elena.belyaeva@medgenetics.ru*

Most of pathogenetically significant copy number variations (CNV) are associated with neurodevelopmental phenotypes and characterized by incomplete penetrance and variable expressivity. However, the nature of these phenomena has not yet been disclosed. As a result, this leads to the uncertainty of prognosis in families with affected children having genetic variant associated with the disease, but inherited from apparently healthy parents that is a problem for genetic counseling in medicine. This review discusses the evidence for the contribution of interloci interaction between different CNV to variability of clinical manifestations of neuro-psychiatric and intellectual disorders.

**Keywords:** neurodevelopmental disorders, incomplete penetrance, variable expressivity, modifying factors, CNV interactions, “two-hit model”.