

## ЦИТОГЕНОМНЫЙ ПОДХОД К СРАВНИТЕЛЬНОМУ АНАЛИЗУ КОГОРТ ДЕТЕЙ С НАРУШЕНИЕМ РАЗВИТИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Юров И.Ю.<sup>1,2,3</sup>, Ворсанова С.Г.<sup>1,2</sup>, Куринная О.С.<sup>1,2</sup>, Мендес-Розадо Л.А.<sup>4</sup>, Васин К.С.<sup>1,2</sup>,  
Юров Ю.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр психического здоровья», Москва, e-mail: ivan.iourov@gmail.com;

<sup>2</sup>Обособленное структурное подразделение «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», Москва;

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования МЗ РФ, Москва;

<sup>4</sup>Национальный центр медицинской генетики, Гавана

Хромосомные аномалии и вариации числа копий последовательности ДНК (CNV) являются наиболее частой генетической причиной заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) у детей. За последние две декады было проведено большое количество цитогеномных исследований (анализ генома на хромосомном и субхромосомном уровнях) этих форм геномных перестроек у детей с болезнями ЦНС и врожденными пороками развития в различных регионах мира. Тем не менее, сравнительный анализ когорт, исследованных в разных странах и состоящих из разных этнических групп, проводился крайне редко. Вероятно, это связано с отсутствием универсальных подходов к подобному сравнительному анализу цитогеномных данных. Сравнение результатов изучения геномных вариаций в когортах детей с заболеваниями ЦНС может предоставить ценную информацию относительно патогенности тех или иных изменений генома, механизмов возникновения патологических геномных перестроек (изучение особенностей взаимодействия окружающей среды с геномом клетки), этиологии и индивидуальной терапии болезней. Следовательно, проведение соответствующих цитогеномных исследований можно признать актуальным с точки зрения как фундаментальной, так и практической медицины. В настоящей работе посредством обзора современных данных о методической основе исследований хромосомных аномалий и CNV, включая мозаичные формы, предложен цитогеномный подход к сравнительному анализу когорт детей с нарушением развития ЦНС, включающий в себя применение цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов.

Ключевые слова: геном, хромосомы, болезни мозга, центральная нервная система, цитогенетика, вариации числа копий последовательности ДНК, международное сотрудничество, цитогеномика.

## CYTOGENOMIC APPROACH TO COMPARATIVE ANALYSIS OF COHORTS OF CHILDREN SUFFERING FROM NEURODEVELOPMENTAL DISEASES

Yurov I.Y.<sup>1,2,3</sup>, Vorsanova S.G.<sup>1,2</sup>, Kurinnaia O.S.<sup>1,2</sup>, Méndez-Rosado L.A.<sup>4</sup>, Vasin K.S.<sup>1,2</sup>,  
Yurov Y.B.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Mental Health Research Center, Moscow, Russia; e-mail: ivan.iourov@gmail.com;

<sup>2</sup>Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russian Federation, Moscow;

<sup>3</sup>Russian Medical Academy of Continuous Postgraduate Education, Moscow;

<sup>4</sup>National Center of Medical Genetics, Havana

Chromosomal abnormalities and copy number variations (CNV) are the most common genetic causes of neurodevelopmental diseases in children. During the last two decades, a large amount of cytogenomic studies of these types of genomic rearrangements in children with neurodevelopmental diseases and congenital malformations in different world parts has been performed. However, comparative analysis of these cohorts from different countries and ethnic groups is rarely done. Probably, this is the result of the lack of approaches to comparative analysis of cytogenomic data. The comparison of such results may provide information about pathogenicity of genomic variations, mechanisms form formation of these genomic rearrangements (genome-environmental interactions), etiology and personal therapy of the disease. Accordingly, these cytogenomic studies are recognized as actual in the basic and diagnostic context. Here, reviewing current methodologies for analyses of chromosome abnormalities and CNV including mosaic forms, we propose a cytogenomic approach to

**comparative analysis of cohorts of children suffering from neurodevelopmental diseases including the application of cytogenetic and molecular cytogenetic techniques.**

---

Keywords: genome, chromosomes, brain diseases, central nervous system, cytogenetics, copy number variations, international collaboration, cytogenomics.

За последние 20 лет внедрение в исследовательскую и диагностическую практику молекулярно-цитогенетических методов сканирования генома в значительной степени увеличило объем наших знаний относительно генетических причин заболеваний, связанных с нарушением развития центральной нервной системы (ЦНС) у детей [1, 2]. В основном дизайн исследований геномных вариаций, вызывающих умственную отсталость, расстройства аутистического спектра, эпилепсию (нервно-психические заболевания) и врожденные пороки развития, базируется на анализе больших когорт и определении механизмов нарушения развития ЦНС как в отдельных случаях, так и непосредственно для заболевания [3–5]. Высокая эффективность поиска генетических причин вышеуказанных форм патологии ЦНС с помощью цитогеномного анализа (анализ генома на хромосомном и молекулярном уровнях) достигается за счет применения разработок в области биологии систем или биоинформатического анализа (системная цитогеномика) [6, 7]. Неоднократно продемонстрировано, что изучение патогенности таких геномных вариаций, как хромосомные аномалии и вариации числа копий последовательности ДНК (copy number variations или CNV), с помощью биоинформатических методов дает возможность определить процессы, лежащие в основе патогенеза болезней мозга [3, 7–10]. Фактически, именно использование биоинформатического анализа массивов больших геномных данных (genome big data) позволяет идентифицировать последствия вариаций генома в виде изменений числа и структуры хромосом в половых и соматических клетках человека [11]. Это также актуально и для определения последствий изменений отдельно взятых генов (генов-кандидатов) нервно-психических заболеваний у детей [12, 13]. В целом, обоснован вывод о том, что цитогеномный анализ когорт детей с нарушением развития ЦНС (умственной отсталостью, расстройствами аутистического спектра, эпилепсией) и врожденными пороками развития с использованием методов системной геномики (биоинформатики) позволяет с высокой эффективностью определять генетические механизмы заболеваний головного мозга. Несмотря на это, остаются открытыми вопросы о степени патогенности тех или иных изменений генома у различных индивидов, а также о механизмах возникновения патологических геномных перестроек (например, за счет взаимодействия окружающей среды с геномом клетки). Вероятно, сравнение массивов цитогеномных данных, полученных при изучении когорт из различных регионов мира и состоящих из представителей разных этнических групп, может дать ответы на поставленные вопросы.

Примечательно, что в литературе имеются описания исследований особенности вариаций генома в виде CNV в зависимости от этнической принадлежности и места проживания испытуемых [14, 15]. Важно отметить, что практически все подобные исследования посвящены исключительно вопросам популяционной генетики без анализа молекулярных и/или клеточных механизмов заболеваний на основе результатов изучения межпопуляционной вариабельности генома. Таким образом, в настоящее время имеются довольно ясные представления о популяционных особенностях геномных вариаций, тогда как подобия и различия вариабельности генома в контексте нарушения развития ЦНС между когортами пациентов с болезнями мозга фактически отсутствуют. Заполнение данного пробела в наших знаниях относительно патогенетического значения соответствующих геномных перестроек в зависимости от этнического происхождения и места жительства выглядит особо ценным с учетом возможности лечения у детей заболеваний ЦНС, обусловленных хромосомной патологией (важно отметить, что хромосомные болезни считаются неизлечимыми большинством специалистов в области медицины) [16], и определения ранее не известных механизмов нарушения психики с помощью оценки функциональных последствий изменений в геноме [7, 17]. Современные биоинформатические методы, основанные на принципах системной биологии, позволяют решить разнообразные задачи при изучении массивов больших геномных данных когорт детей с нервно-психическими заболеваниями [6–8, 10, 11, 17]. Следовательно, подобные исследования должны включать не только полногеномное сканирование на предмет хромосомных аномалий и CNV (молекулярное кариотипирование), но и биоинформатический анализ функциональных последствий изменений последовательности ДНК.

Помимо проблемы отсутствия непосредственного сравнительного анализа когорт детей с нарушением развития ЦНС, межпопуляционные исследования геномных вариаций в подавляющем большинстве случаев игнорируют феномен соматического мозаицизма (наличие двух или более клеточных популяций в организме, отличающихся друг от друга в контексте вариабельности генома). Это значимый недостаток, поскольку соматический мозаицизм (мозаичные хромосомные аномалии) вносит существенный вклад в этиологию заболеваний, ассоциированных с нарушением развития ЦНС у детей [18–20]. Для решения этой проблемы рекомендуется использовать методы, основанные на флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), предоставляющей возможность визуализации специфических геномных участков в большом числе отдельно взятых клеток (интерфазных ядер) [1, 18, 20]. Более того, многие работы игнорируют также и цитогенетический анализ (визуальное сканирование генома с помощью микроскопического анализа индивидуальных клеток), несмотря на то, что они посвящены поиску хромосомных аномалий [4, 5, 9, 13–15]. Отсутствие

цитогенетического анализа также является серьезным недостатком оценки цитогеномных вариаций в когортах детей с нервно-психическими заболеваниями, поскольку без соответствующих методов нет возможности определить локализацию хромосомных аномалий в клеточном геноме, а также невозможно выявлять хромосомную нестабильность, являющуюся важным элементом патогенетического каскада болезней ЦНС [1, 3, 7, 17, 20]. Принимая во внимание необходимость цитогенетических исследований и молекулярно-цитогенетического анализа методом FISH для изучения цитогеномных вариаций, следует отметить необходимость их включения в алгоритмы поиска хромосомных аномалий и патогенных CNV в когортах детей с нарушением развития ЦНС.

Суммируя характеристики предыдущих цитогеномных исследований, можно предложить подход к анализу хромосомных аномалий и CNV у детей с нарушением развития ЦНС или нервно-психическими заболеваниями. Во-первых, требуется проведение цитогенетического анализа для характеристики хромосомных аномалий и нестабильности в отдельно взятых клетках пациентов [3, 20]. Во-вторых, необходим анализ методом FISH для оценки уровня соматического мозаицизма (определение процентного соотношения популяций клеток с хромосомными аномалиями и без таковых) [12, 17, 18, 20]. В-третьих, непосредственным методом сканирования генома на CNV служит молекулярное кариотипирование, которое также является неотъемлемой частью цитогеномного анализа детей с нервно-психическими заболеваниями [3–5, 12]. Биоинформатический анализ с помощью методов, позволяющих определять функциональные последствия CNV, позволит свести три массива полученных данных: результаты цитогенетического исследования (1), анализа методом FISH (2) и молекулярного кариотипирования (3) [6, 10–12, 16, 17]. На рисунке 1 схематически представлен полноценный цитогеномный анализ когорты детей с заболеваниями развития ЦНС и врожденными пороками развития для получения вышеуказанных массивов данных.

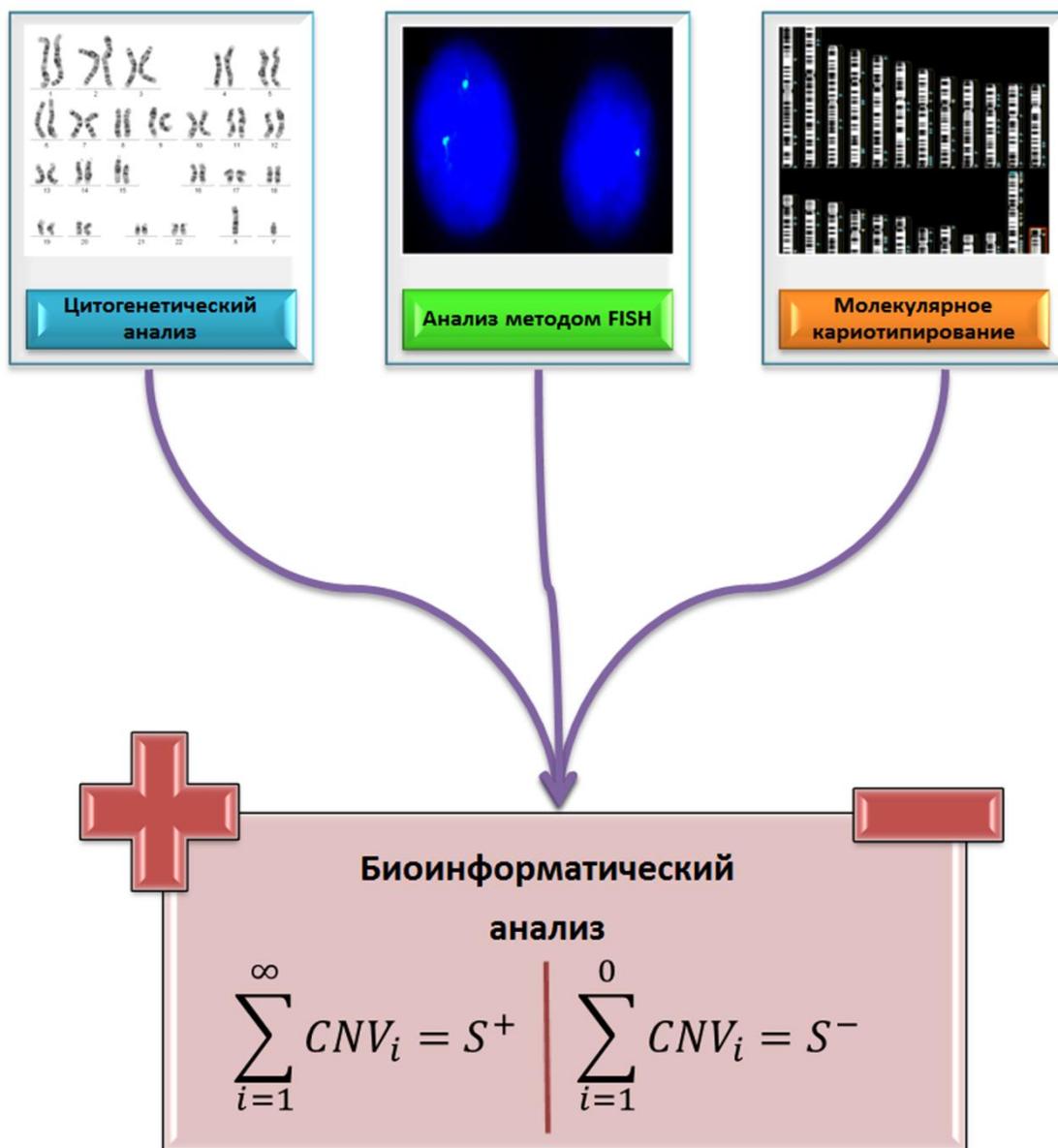


Рис. 1. Схематическое изображение цитогеномного анализа когорты детей с заболеваниями ЦНС и врожденными пороками развития для получения необходимых массивов цитогенетических и молекулярно-цитогенетических данных (включая результаты исследования соматического мозаицизма и молекулярного кариотипирования) в целях биоинформатического определения патогенетического значения цитогеномных вариаций с последующими определением механизма заболевания и возможной тактики индивидуальной терапии по совокупности патогенных (сумма слева) и непатогенных (сумма справа) CNV (в рисунке использованы части иллюстративного материала работы Iourov et al. [12], опубликованной по лицензии открытого доступа)

Методы системной биологии (системной геномики или геномной биоинформатики) продемонстрировали свою высокую эффективность при поиске причин заболеваний и лекарств, а также легли в основу принципов персонализированной медицины. Как следствие, данный подход к решению фундаментальных и диагностических биомедицинских задач стал

основой для новейшего направления в области медицины – системной медицины [21]. Примечательно, что данный комплекс методов показал исключительно положительные результаты при анализе когорт индивидуумов с различными заболеваниями, сформированных в разных регионах мира [7, 21]. Таким образом, массивы данных, полученные с помощью вышеуказанной схемы для каждой отдельной когорты детей с заболеваниями развития ЦНС и врожденными пороками развития (рис. 1), возможно сравнить на предмет различия и подобия variability генома с помощью биоинформатического анализа результатов цитогеномных исследований (рис. 2).



*Рис. 2. Сравнительный анализ когорт для определения различий и подобий variability генома при нарушениях развития ЦНС и врожденных пороках развития у детей, который осуществляется с помощью биоинформатического анализа результатов цитогеномных исследований (на основе биоинформатического анализа массивов данных, полученных с помощью методологии, обозначенной на рисунке 1, для каждой изучаемой когорты: когорты № 1, когорты № 2 ... когорты № n)*

Результаты проведенного сравнительного анализа когорт детей с нарушением развития ЦНС позволят получить знания относительно патогенности тех или иных изменений генома, механизмов возникновения патологических геномных перестроек (изучение особенностей взаимодействия окружающей среды с геномом клетки), этиологии и индивидуальной терапии болезни [4, 6–8, 16, 17]. Определенно, подобные исследования могут быть осуществлены

только в рамках масштабного международного сотрудничества коллективов с обширным опытом в области цитогенетических и молекулярно-цитогенетических исследований. Наиболее успешно такое сотрудничество может быть реализовано в рамках международных проектов, сконцентрированных на цитогеномных исследованиях заболеваний ЦНС у детей из разных этнических групп, проживающих в различных регионах (странах) мира. Компетентность исследователей, а также количество и степень этнического и регионального разнообразия соответствующих когорт, по-видимому, являются определяющими для успешной реализации подобных проектов.

### **Заключение**

В заключение следует обозначить три ключевые задачи, которые надо решить для успешной реализации сравнительного цитогеномного анализа когорт детей с нарушением развития ЦНС. Во-первых, анализ каждой когорты должен включать в себя цитогенетическое исследование для визуализации геномных вариаций и нестабильности в отдельных клетках, анализ с помощью метода FISH для точного определения уровней соматического хромосомного мозаицизма, молекулярное кариотипирование, позволяющее высокоразрешающее сканирование генома на предмет CNV (цитогеномное исследование), а также биоинформатический анализ, сводящий эти три массива данных и позволяющий оценить патогенетическое значение геномных вариаций. Во-вторых, массивы данных, полученные в ходе решения первой задачи для каждой изучаемой когорты, необходимо подвергнуть сравнительному биоинформатическому анализу для выделения общих патогенных вариаций и определения их специфического влияния на фенотип пациента(ов). В-третьих, для выполнения исследования, обозначенного при описании второй задачи, требуется международное сотрудничество ведущих национальных коллективов, имеющих реальный опыт проведения цитогенетических и молекулярно-цитогенетических исследований. Реализация проектов, предусматривающих подобное международное сотрудничество, способствует получению новых знаний относительно патогенности изменений генома, механизмов возникновения патологических геномных перестроек, а также относительно этиологии и возможности индивидуальной терапии болезней ЦНС у детей.

*Исследования в лабораториях авторов поддерживались грантом РФФИ и СІТМА (Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente de la República de Cuba) в рамках научного проекта № 18-515-34005, а также Госзадаaniem Министерства науки и высшего образования России № АААА-А19-119040490101-6 и Госзадаанием Минздрава России № 121031000238-1.*

### **Список литературы**

1. Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. Современные достижения в молекулярно-цитогенетической диагностике наследственных болезней // Клиническая Лабораторная Диагностика. 2005. № 11. С. 21-29.
2. Le Scouarnec S., Gribble S.M. Characterising chromosome rearrangements: recent technical advances in molecular cytogenetics. *Heredity*. 2012. vol.108. no. 1. P. 75-85.
3. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Куринная О.С., Воинова В.Ю., Юров Ю.Б. 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 имени С.С. Корсакова. 2013. Т. 113. № 8. С. 46-49.
4. Shoukier M., Klein N., Auber B., Wickert J., Schröder J., Zoll B., Burfeind P., Bartels I., Alsat E.A., Lingen M., Grzmil P. Array CGH in patients with developmental delay or intellectual disability: are there phenotypic clues to pathogenic copy number variants? *Clinical genetics*. 2013. vol. 83. no. 1. P. 53-65.
5. Carreira I.M., Ferreira S.I., Matoso E., Pires L.M., Ferrão J., Jardim A., Mascarenhas A., Pinto M., Lavoura N., Pais C., Paiva P. Copy number variants prioritization after array-CGH analysis—a cohort of 1000 patients. *Molecular cytogenetics*. 2015. vol. 8. no. 1. P.1-9.
6. Parikshak N.N., Gandal M.J., Geschwind D.H. Systems biology and gene networks in neurodevelopmental and neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Genetics*. 2015. vol. 16. no. 8. P. 441-458.
7. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. Systems cytogenomics: Are we ready yet? *Current Genomics*. 2021. vol. 22. Is. 2. P.75-78.
8. Sullivan P.F., Geschwind D.H. Defining the genetic, genomic, cellular, and diagnostic architectures of psychiatric disorders. *Cell*. 2019. vol. 177. no. 1. P. 162-183.
9. García-Hernández J.L., Corchete L.A., Marcos-Alcalde Í., Gómez-Puertas P., Fons C., Lazo P.A. Pathogenic convergence of CNVs in genes functionally associated to a severe neuromotor developmental delay syndrome. *Human genomics*. 2021. vol. 15. no. 1. art. 11. P. 1-11.
10. Wong A.K., Sealfon R.S., Theesfeld C.L., Troyanskaya O.G. Decoding disease: from genomes to networks to phenotypes. *Nature Reviews Genetics*. 2021. vol. 22. P. 774-790.
11. Heng H.H. New data collection priority: focusing on genome-based bioinformation. // Научные результаты биомедицинских исследований. 2020. Т. 6. № 1. С. 5-8.
12. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Voinova V.Y., Kurinnaia O.S., Zelenova M.A., Demidova I.A., Yurov Y.B. Xq28 (MECP2) microdeletions are common in mutation-negative females with Rett

syndrome and cause mild subtypes of the disease. *Molecular Cytogenetics*. 2013. vol. 6. no. 1. art. 53. P. 1-8.

13. Quintela I., Eirís J., Gómez-Lado C., Pérez-Gay L., Dacruz D., Cruz R., Castro-Gago M., Míguez L., Carracedo Á., Barros F. Copy number variation analysis of patients with intellectual disability from North-West Spain. *Gene*. 2017. vol. 626. P. 189-199.

14. White S.J., Vissers L.E., Van Kessel A.G., De Menezes R.X., Kalay E.R., Lehesjoki A.E., Giordano P.C., van de Vosse E., Breuning M.H., Brunner H.G., Den Dunnen J.T. Variation of CNV distribution in five different ethnic populations. *Cytogenetic and genome research*. 2007. vol. 118. no. 1. P. 19-30.

15. Hu X.S., Yeh F.C., Hu Y., Deng L.T., Ennos R.A., Chen X. High mutation rates explain low population genetic divergence at copy-number-variable loci in *Homo sapiens*. *Scientific reports*. 2017. vol. 7. no. 1. P. 1-3.

16. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Voinova V.Y., Yurov Y.B. 3p22.1p21.31 microdeletion identifies CCK as Asperger syndrome candidate gene and shows the way for therapeutic strategies in chromosome imbalances. *Molecular Cytogenetics*. 2015. vol. 8. art. 82. P.1-6.

17. Heng H.H., Horne S.D., Chaudhry S., Regan S.M., Liu G., Abdallah B.Y., Ye C.J. A postgenomic perspective on molecular cytogenetics. *Curr. Genomics*. 2018. vol. 19. no. 3. P. 227–239.

18. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Kutsev S.I. Ontogenetic and pathogenetic views on somatic chromosomal mosaicism. *Genes*. 2019. vol. 10. no. 5. art. 379. P. 1-25.

19. Costantino I., Nicodemus J., Chun J. Genomic mosaicism formed by somatic variation in the aging and diseased brain. *Genes*. 2021. vol. 12. no. 7. art. 1071. P.1-27.

20. Vorsanova S.G., Kolotii A.D., Kurinnaia O.S., Kravets V.S., Demidova I.A., Soloviev I.V., Yurov Y.B., Iourov I.Y. Turner's syndrome mosaicism in girls with neurodevelopmental disorders: a cohort study and hypothesis. *Molecular Cytogenetics*. 2021. vol. 14. no. 1. art. 9. P. 1-9.

21. Schleidgen S., Fernau S., Fleischer H., Schickhardt C., Winkler E.C. Applying systems biology to biomedical research and health care: a précising definition of systems medicine. *BMC Health Serv Res*. 2017. vol. 17. no. 1. art. 761. P. 1-16.