

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2023.10.3-47>

Рекомендации Российского общества медицинских генетиков по хромосомному микроматричному анализу

Лебедев И.Н.¹, Шилова Н.В.², Юров И.Ю.^{3,4}, Малышева О.В.⁵, Твеленева А.А.⁶, Миньженкова М.Е.², Маркова Ж.Г.², Толмачева Е.Н.¹, Кашеварова А.А.¹

- 1 – Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, 634050, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, д. 10
- 2 – Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова 115522, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1
- 3 – Научный центр психического здоровья 115522, г. Москва, Россия, Каширское шоссе, д. 34
- 4 – РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, НИКИ педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева 125412, г. Москва, ул. Талдомская, д. 2
- 5 – НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта 199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3
- 6 – Центр Генетики и Репродуктивной Медицины «ГЕНЕТИКО» 119333, г. Москва, ул. Губкина, д. 3, корп.1

Хромосомный микроматричный анализ представляет наиболее динамично развиваемую область современной клинической цитогенетики, обеспечивая эффективную и высокоразрешающую диагностику несбалансированных микроструктурных хромосомных перестроек. Настоящие рекомендации определяют показания к назначению хромосомного микроматричного анализа для постнатальной и пренатальной диагностики конститутивных хромосомных аномалий, а также рассматривают вопросы интерпретации клинической значимости выявляемых хромосомных вариантов, и медико-генетического консультирования семей пациентов с хромосомными болезнями. Делаются акценты на приоритетности экспертного мнения и необходимости диалога молекулярного цитогенетика и врача-генетика в оценке патогенетической значимости хромосомных вариантов и тактики дальнейшего лабораторного обследования пациента.

Ключевые слова: хромосомный микроматричный анализ (ХМА), матричная сравнительная геномная гибридизация (array-CGH), молекулярное кариотипирование, вариации числа копий участков ДНК (CNV), хромосомный мозаицизм, пренатальная диагностика, медико-генетическое консультирование

Для цитирования: Лебедев И.Н., Шилова Н.В., Юров И.Ю., Малышева О.В., Твеленева А.А., Миньженкова М.Е., Маркова Ж.Г., Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А. Рекомендации Российского общества медицинских генетиков по хромосомному микроматричному анализу. Медицинская генетика 2023; 22(10): 3-47

Автор для корреспонденции: Лебедев И.Н.; e-mail: igor.lebedev@medgenetics.ru

Финансирование: Разработка рекомендаций поддержана грантом РФФИ № 21-65-000177, <https://rscf.ru/project/21-65-00017/> (генетические исследования)

Конфликт интересов: Нет

Поступила: 3.10.2023

Guidelines of the Russian Society of Medical Geneticists for Chromosomal Microarray Analysis

Lebedev I.N.¹, Shilova N.V.², Iourov I.Yu.^{3,4}, Malysheva O.V.⁵, Tveleneva A.A.⁶,
Minzhenkova M.E.², Markova Zh.G.², Tolmacheva E.N.¹, Kashevarova A.A.¹

- 1 – Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Genetics
10, Naberejnaya Ushaiki, Tomsk, 634050, Russian Federation
- 2 – Research Center for Medical Genetics
1, Moskvorechie st., Moscow, 115522, Russian Federation
- 3 – Mental Health Research Center
34, Kashirskoe shosse, Moscow, 115522, Russian Federation
- 4 – Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery of the Pirogov Russian National Research Medical University
2 Taldomskaya st., Moscow, 125412, Russian Federation
- 5 – D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology
3, Mendeleevskaya line, Saint Petersburg, 199034, Russian Federation
- 6 – Center of Genetics and Reproductive Medicine “Genetico”
3, bldg.1, Gubkina st., Moscow, 119333, Russian Federation

Chromosomal microarray analysis is the state-of-the-art of clinical cytogenetics, providing efficient and high-resolution diagnostics of unbalanced chromosomal rearrangements. Current recommendations define the indications for chromosomal microarray analysis in postnatal and prenatal diagnostics of constitutive chromosomal anomalies. Approaches to interpretation of the clinical significance of detected chromosomal variants, as well as genetic counseling for families of patients with chromosomal diseases are discussed. Emphasis is given to the priority of expert opinion and collaboration between molecular cytogeneticist and clinical geneticist in assessing the pathogenetic significance of chromosomal variants and the strategy for subsequent laboratory examination of the patient.

Keywords: chromosomal microarray analysis (CMA), array-based comparative genomic hybridization (array-CGH), molecular karyotyping, copy number variations (CNV), chromosomal mosaicism, prenatal diagnosis, genetic counselling

For citation: Lebedev I.N., Shilova N.V., Iourov I.Yu., Malysheva O.V., Tveleneva A.A., Minzhenkova M.E., Markova Zh.G., Tolmacheva E.N., Kashevarova A.A. Guidelines of the Russian Society of Medical Geneticists for Chromosomal Microarray Analysis. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2023; 22(10): 3-47 (In Russ.)

Corresponding author: Lebedev I.N.; **e-mail:** igor.lebedev@medgenetics.ru

Funding: Russian Science Foundation, № 21-65-00017, <https://rscf.ru/en/project/21-65-00017/>

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 3.10.2023

Введение

Цитогенетический анализ — один из основополагающих инструментов диагностики хромосомных болезней. С момента определения в 1956 году хромосомного набора человека методы цитогенетического исследования прошли несколько этапов своего развития, каждый из которых привнес новые возможности в идентификации хромосомных перестроек.

Более 35 лет исследование дифференциально окрашенных хромосом (GTG-окраска) являлось «золотым стандартом» в клинической цитогенетике. При разрешающей способности этого метода выявлять несбалансированные хромосомные аномалии размером 8-10 млн.п.н. и более, в крайне редких случаях можно диагностировать геномный дисбаланс размером 3 млн.п.н. В то же время, и, наоборот, можно не выявить хромосомную aberrацию на уровне разрешающей способности метода, в зависимости от геномного района,

вовлекаемого в перестройку. За исключением диагностики случаев трисомии по хромосоме 21, стандартное кариотипирование при дифференциальном окрашивании хромосом позволяет идентифицировать хромосомные аномалиями у пациентов с умственной отсталостью в 3-10% случаев [1, 2]. Кроме того, возможности кариотипирования ограничиваются субъективностью оценки хромосомного дисбаланса и в большой степени зависят от профессионального уровня исследователя.

Одним из поворотных моментов в развитии диагностики хромосомных болезней стало появление в 1992 году сравнительной геномной гибридизации (comparative genomic hybridization, CGH), обеспечившей возможность скрининга всего хромосомного набора на предмет числовых и несбалансированных структурных хромосомных aberrаций без приготовления препаратов метафазных хромосом [3]. В основу метода был положен принцип конкурентной гибридиза-

ции *in situ* двух геномных ДНК-библиотек, полученных из анализируемого и референсного образца и меченных разными флуорохромами, на нормальных метафазных пластинках здорового индивида. Появившись в области цитогенетики солидных новообразований, сталкивающейся с существенными проблемами в получении качественных препаратов хромосом из опухолевых клеток, метод CGH стремительно оказался востребованным и другими разделами цитогенетики, включая постнатальную, пренатальную и преимплантационную генетическую диагностику.

С преодолением проблемы невысокого уровня разрешения классического варианта CGH, проводившегося на метафазных хромосомах, и появлением ДНК-микрочипов, хромосомный микроматричный анализ (ХМА, или в англоязычной литературе – chromosomal microarray analysis, CMA, array-based comparative genomic hybridization, array-CGH, aCGH) занял лидирующие позиции в современной лабораторной цитогенетической практике. Обеспечив беспрецедентный уровень разрешения в детекции субмикроскопических микроделений и микродупликаций хромосом, технология ХМА стремительно в некоторых странах и лабораториях стала тестом первой линии, заместив собой стандартный цитогенетический анализ дифференциально окрашенных хромосом, что однако не всегда оказалось оправданным, с точки зрения описания структуры хромосомного дисбаланса, выявляемого с помощью ХМА.

На фоне такого прогресса в 2005 году был предложен термин «молекулярное кариотипирование» для описания полногеномного поиска несбалансированных хромосомных aberrаций с использованием ХМА [4]. Принимая во внимание очевидные ограничения «молекулярного кариотипирования» по сравнению с классическим метафазным анализом в невозможности прямой визуализации хромосом, метод, тем не менее, оказался востребованным в молекулярно-цитогенетической практике, главным образом благодаря высокому уровню разрешения, скорости получения результатов, возможности стандартизации и автоматизации отдельных технологических процессов. Его широкое внедрение в клиническую цитогенетику позволило на 20–25% повысить эффективность выявления клинически значимого геномного дисбаланса у пациентов с нарушением интеллектуального развития, множественными врожденными пороками и/или аномалиями развития [5, 6].

Вместе с тем, с повышением уровня разрешения молекулярного кариотипирования стала активно на-

капливаться информация о разнообразии вариаций в числе копий участков хромосом размером от 1000 п.н. и более (до нескольких десятков млн.п.н.) (Copy Number Variation, CNV) в геноме человека. Некоторые из таких вариаций затрагивали области известных микроделеционных синдромов, что способствовало улучшению их диагностики. В то же время стало очевидным, что в одних и тех же хромосомных регионах, вследствие особенностей их структурной организации, связанной с наличием блоков сегментных дупликаций и возможностью неаллельной гомологичной рекомбинации между ними, кроме микроделений могут регистрироваться и ранее не диагностируемые (вследствие отсутствия надежных методов количественного молекулярно-цитогенетического анализа) увеличения числа копий хромосом – микродупликации, микротрипликации и т.д. Со временем некоторые из таких вариантов были признаны этиологической основой новых микродупликационных синдромов [7–10]. В то же время, клиническая значимость существенной доли хромосомных микродупликаций по-прежнему остается предметом научных дискуссий, затрагивающих в том числе и вопросы медико-генетического консультирования при наличии CNV.

Однако не только хромосомные микродупликации обозначили проблему интерпретации клинической значимости CNV. С увеличением уровня разрешения хромосомных микроматриц (а позднее и с появлением технологий массового параллельного секвенирования), с ростом числа сообщений о проведенных исследованиях с использованием ХМА, с развитием специализированных баз данных, с продолжающимся уточнением сведений об организации генома человека и появлении его новых сборок, стала очевидной колоссальная нормальная вариабельность генома на субхромосомном уровне. Разнообразие детектируемых CNV и уникальность большинства из них, сообщенных в редких, а порой и в единственных случаях, обострило проблему интерпретации клинической значимости CNV. По существу, данная проблема стала центральной в современной практике молекулярно-цитогенетической диагностики и медико-генетического консультирования семей с хромосомной патологией. Ряд рекомендаций международных профессиональных сообществ в последнее десятилетие рассматривал эту проблему, предлагал и развивал подходы, как к классификации CNV по их клинической значимости, так и к сообщению результатов ХМА [1, 11–23].

Настоящие рекомендации, выпускаемые под эгидой Российского общества медицинских генетиков

(РОМГ) при участии Ассоциации медицинских генетиков (АМГ), впервые обобщают опыт ведущих отечественных научных и медицинских организаций в использовании технологии ХМА в клинической практике с учетом отмеченного выше международного опыта. Документ применим для использования как в постнатальной, так и в пренатальной диагностике хромосомных болезней. Настоящие рекомендации не рассматривают сферу преимплантационного генетического тестирования анеуплоидий (PGT-A) и структурных перестроек хромосом (PGT-SR), а также молекулярного кариотипирования злокачественных солидных новообразований. Рекомендации разработаны рабочей группой РОМГ и обсуждены на серии конференций российского и международного уровня, прошедших в 2021-2023 гг под эгидой РОМГ, АМГ и Ассоциации специалистов в области молекулярной медицины, медицинской и лабораторной генетики имени Е.И. Шварца (IX Съезд Российского общества медицинских генетиков, 30 июня—2 июля 2021 г., Москва; Научно-практическая конференция РОМГ «Новые технологии в диагностике и лечении наследственных болезней», 7—8 декабря 2022 г., Москва; международная конференция «Медицинская генетика и геномика: мультидисциплинарные аспекты», памяти профессора, доктора биологических наук, заслуженного деятеля науки РФ С.Г. Ворсановой, 21—24 марта 2023 г., г. Санкт-Петербург). Рекомендации были утверждены в рамках Круглого стола на VI Научно-практической конференции РОМГ «Новые технологии в диагностике и лечении наследственных болезней» (18—19 октября 2023 г., Москва).

Раздел 1. Показания для назначения ХМА

Показания для ХМА в постнатальной диагностике конститутивных хромосомных аномалий

Одним из необходимых условий адекватности клинической интерпретации результатов ХМА является соблюдение строгих требований для назначения молекулярного кариотипирования. Направление на такое исследование выдается исключительно врачом-генетиком на основании отмеченных ниже показаний, с учетом возможностей и ограничений ХМА. Несмотря на то, что многие лаборатории считают ХМА исследованием первой линии, рекомендуется проводить стандартное цитогенетическое исследование пациенту/ семье для исключения видимых изменений в кариоти-

пе перед назначением ХМА. **Не допускается проведение ХМА без сопутствующей информации о клинических показаниях, определяющих назначение данного теста пациенту, поскольку наличие такой информации определяет возможность корректной интерпретации результатов молекулярно-цитогенетического исследования.**

Основными клиническими показаниями для назначения молекулярного кариотипирования *в постнатальной молекулярно-цитогенетической диагностике конститутивных хромосомных нарушений* являются:

1. Аномальный клинический фенотип:

- внутриутробная задержка роста
- задержка психо-речевого развития
- задержка психомоторного развития
- нарушения интеллектуального развития, включая умственную отсталость и расстройства аутистического спектра
- черепно-лицевые дисморфии, в т.ч. изолированная микроцефалия и макроцефалия
- множественные врожденные аномалии развития
- один или несколько врожденных пороков развития органов и систем
- мышечная гипотония
- судороги, эпилепсия

2. Уточнение результатов цитогенетических исследований:

- установление локализации и генного состава несбалансированных структурных перестроек хромосом
- идентификация происхождения малых сверхчисленных маркерных хромосом (мСМХ) у пациентов с аномальным фенотипом
- идентификация «скрытого» дисбаланса при «по-видимому» сбалансированных хромосомных перестройках (унаследованных или *de novo*) при аномальном клиническом фенотипе.

Перед проведением ХМА необходимо получить информированное согласие пациента (родителей). Кроме того, перед проведением исследования рекомендуется:

- консультация врача-генетика с уточнением жалоб;
- сбор родового и родового анамнеза;
- анализ семейного анамнеза заболевания, включающего родословную трех поколений или более, если таковой имеется;
- комплексное обследование физического и неврологического статуса пациента;
- анализ результатов предшествующих лабораторных исследований (МРТ, УЗИ, КТ и др.)

Пациенты должны быть проинформированы об объеме, принципе, разрешающей способности

и ограничениях метода ХМА, о возможных дополнительных, в том числе подтверждающих исследованиях, и сроках их проведения. Заранее стоит обсудить возможность случайной находки при анализе результатов ХМА (хромосомные варианты, не связанные с вопросом обращения, но, тем не менее, имеющие значение для прогноза/здоровья человека в будущем; носительство клинически значимых хромосомных вариантов в кариотипе супругов и родственников, выявленных при дополнительных исследованиях; наличие нескольких протяженных регионов гомозиготности на разных хромосомах, суммарной протяженностью превышающих 10% от размера генома, выявляемых при использовании SNP-чипов, которые могут указывать на брак между супругами определенной степени родства), а также неинформативных или неопределенных результатов исследования. Повторная медико-генетическая консультация является обязательной после получения результатов ХМА. Результаты молекулярного кариотипирования могут быть интерпретированы и сообщены пациенту либо его семье только врачом-генетиком.

Показания для молекулярного кариотипирования в пренатальной диагностике

Основным преимуществом ХМА перед стандартным кариотипированием является его способность детектировать хромосомный дисбаланс в любом уникальном участке генома с высокой разрешающей способностью. В то время как при кариотипировании пренатальных образцов разрешающая способность в большинстве случаев составляет 10–20 млн.п.н. [24], ХМА способен выявлять гораздо более мелкие изменения числа копий. Разрешающая способность ХМА зависит от используемой микроматрицы, и, как правило, она не ниже 1 млн.п.н. Нарушения числа копий также могут быть выявлены при проведении полногеномного или полноэкзомного секвенирования (в том числе и при неинвазивном пренатальном тестировании, НИПТ), однако диагностические способности этих методов при стандартном использовании в настоящее время уступают другим методам по показателям чувствительности и специфичности. Метод FISH позволяет проводить диагностику небольших делеций и дупликаций (от 100–200 т.п.н.), но для правильного выбора используемых ДНК-зондов необходима детальная клиническая информация, что не всегда может быть адекватно выполнено при пренатальной диагностике. ХМА также способен выявлять все виды

анеуплоидий (в том числе и мозаичные, с долей аномального клона не менее 15–20%) и, в отличие от стандартного кариотипирования, не нуждается в наличии в образце делящихся клеток, поэтому его можно использовать для быстрого проведения инвазивной пренатальной диагностики (ИПД) на образцах амниотической жидкости (без культивирования амниоцитов) или плаценты во втором триместре беременности при отсутствии митотической активности клеток.

ХМА может быть использован (и используется в некоторых странах) в качестве теста первой линии при ИПД, поскольку этот подход, также, как и стандартное кариотипирование, способен практически со 100% точностью обнаруживать анеуплоидии, составляющие подавляющее большинство хромосомных аномалий, выявляемых при патологии беременности. Однако большинство типов хромосомных нарушений легко может быть выявлено при проведении существенно более дешевого и распространенного стандартного кариотипирования, и при отсутствии показаний диагностические преимущества ХМА не столь велики. По данным многочисленных исследований и мета-анализов, в группе пациенток с нормальным кариотипом, не имеющих выявленных на УЗИ аномалий развития плода (в основном это женщины старшего материнского возраста и обеспокоенные состоянием здоровья плода) клинически значимые патогенные CNV выявляются в 1,7% случаев [25], при этом при проведении ХМА теряется информация о сбалансированных перестройках хромосом (частота 0,9%), а при использовании некоторых платформ и о полиплоидии (частота 0,4%). Таким образом, при отсутствии специфических показаний для ИПД использование ХМА не дает существенного увеличения числа находок.

Диагностическая ценность ХМА значительно повышается при проведении такой диагностики в группе плодов с врожденными аномалиями. По данным литературы, не менее 6–7% плодов с нормальным кариотипом и пороками развития имеют микроструктурные хромосомные аномалии, выявляемые при проведении ХМА [26, 27]. Именно поэтому в ряде стран ХМА рекомендован как исследование первой линии для плодов с врожденными аномалиями [18]. Наиболее часто патогенные CNV могут быть выявлены при пороках развития сердца, почек, мочеполовой, скелетной системы и ЦНС [24]. Частота находок ХМА при изолированных пороках почек достигает 15%, а при изолированных пороках сердца составляет 10,6%, в том числе патогенные CNV выявляются в 7,3% случаев дефектов межжелудочковой перегородки. При наличии

сочетанных пороков в нескольких системах органов вероятность выявления микроструктурных хромосомных аномалий также возрастает, достигая 12-13,5% [28]. Так, при изолированных аномалиях мозолистого тела частота патогенных CNV составляет 6,9%, а при сочетании с другими ВПР – 11,1% [29]. Частота находок ХМА при разных типах ВПР подробно описана в литературе [30, 31]. Таким образом, наличие выявленных при УЗИ ВПР плода, в том числе изолированных, является основанием для назначения исследования методом ХМА, которое может быть выполнено как до, так и после кариотипирования (в последнем случае – при нормальном кариотипе плода).

Дискуссионным вопросом остается назначение ХМА при подозрении на хромосомную патологию плода по результатам неинвазивного пренатального тестирования (НИПТ). Методом выбора в данном случае могут быть тесты, обеспечивающие быструю детекцию анеуплоидии в некультивированных клетках: интерфазная флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH), количественная флуоресцентная ПЦР (КФ-ПЦР), мультиплексная лигаз-зависимая реакция (MLPA). В то же время следует принимать во внимание, что высокий риск некоторых редких мозаичных анеуплоидий (например, по хромосомам 7, 11, 15 и ряду других) сопровождается вероятностью формирования однородительской дисомии, которую следует исключать с помощью специальных методов исследования.

С осторожностью следует подходить к назначению ХМА и при подозрении на хромосомный мозаицизм у плода по результатам других предварительных пренатальных тестов. Необходимо учитывать, что вероятность детекции хромосомного мозаицизма определяется как биологическими факторами (тканеспецифичная локализация клеток с мозаичными вариантами хромосомного набора, частота клеток с аномалиями кариотипа при хромосомном мозаицизме, различная способность клеток с хромосомной аномалией и нормальным кариотипом к делению, пролиферации и дифференцировке), так и разрешающими возможностями микроматриц в детекции минорных клеточных клонов с аномальным кариотипом.

В случае проведения полногеномного НИПТ и наличии данных в пользу несбалансированных микроструктурных перестроек хромосом, применение ХМА в инвазивной пренатальной диагностике представляется целесообразным. Действительно, некоторые варианты НИПТ дополнительно способны анализировать риски распространенных микроделеционных синдромов. Наиболее часто в диагностические панели входят син-

дромы кошачьего крика, Ди Джорджи, Прадера-Вилли, Энгельмана, Вольфа-Хиршхорна и ряд других. Точность диагностики микроделеционных синдромов с использованием расширенных панелей НИПТ ниже, чем для анеуплоидий, и полученные находки обязательно должны быть верифицированы при проведении ИПД с использованием ХМА, FISH или MLPA. Во всех случаях преимуществом ХМА (а также других молекулярных методов исследования) является возможность проведения быстрой диагностики в середине второго триместра беременности на материале плодного происхождения.

Кроме того, при проведении полногеномного НИПТ могут быть получены сведения о других видах хромосомного дисбаланса (например, о результате аномальной сегрегации родительской сбалансированной транслокации или хромосомной мутации, возникшей *de novo*). В этом случае методом подтверждающей диагностики при проведении ИПД также может выступать ХМА.

В случае выявления в кариотипе плода малой сверхчисленной маркерной хромосомы (мСМХ) с неясным клиническим значением и прогнозом, при назначении ХМА необходимо учитывать нечувствительность метода к изменениям в числе копий участков ДНК в центромерных и гетерохроматиновых участках хромосом, а также ограниченные возможности ХМА в детекции минорных клеточных клонов при хромосомном мозаицизме. В таких случаях, для идентификации и установления структуры мСМХ целесообразно рассмотреть возможность использования комплексных алгоритмов, включающих, наряду с ХМА, применение других взаимодополняющих методов (FISH, mFISH, SKY, хромосомная микродиссекция, NGS и т.п.) [32]. Учитывая, что большинство из отмеченных технологий носит, как правило, научно-исследовательский характер и доступны они в небольшом числе федеральных исследовательских центров, при выборе дополнительных методов пренатальной молекулярной диагностики следует взвешенно подходить к возможности получения информативного для принятия решения результата в ограниченном временном диапазоне.

Высокий семейный риск рождения ребенка с хромосомной аномалией также является показанием для проведения ИПД с использованием ХМА. Такому риску подвержены прежде всего пары, в которых один или оба родителя являются носителями сбалансированных хромосомных перестроек, в т.ч. сбалансированной транслокации, инверсии, инсерции, а также кольцевой хромосомы или мСМХ, содержащей эухро-

матиновые районы. Риск повышен в семьях с выявленными случаями рождения детей с хромосомными аномалиями, а также МВПР и случаями мертворождения.

Наконец, в ряде случаев проведение ХМА необходимо для уточнения результатов ИПД, проведенной другими методами. Например, при выявлении представляющей сбалансированной реципрокной транслокации *de novo* риск наличия микроструктурных хромосомных аномалий составляет примерно 7% [24], и все подобные случаи следует верифицировать дополнительно.

Таким образом, **показаниями для проведения ХМА в пренатальной диагностике** являются:

1. высокий риск хромосомной патологии плода по данным ультразвукового, биохимического скрининга в первом и втором триместре беременности, включая наличие изолированных и сочетанных врожденных пороков развития, в том числе при нормальном кариотипе плода, установленным с помощью стандартного цитогенетического исследования в ходе инвазивной пренатальной диагностики;
2. наличие хромосомной аномалии в кариотипе родителей (в т.ч. сбалансированной транслокации, инверсии, инсерции, а также кольцевой хромосомы или МСМХ, содержащей эухроматиновые районы);
3. рождение в семье ребенка с хромосомным заболелением или случай мертворождения;
4. наличие в кариотипе плода хромосомной аномалии, в том числе МСМХ, требующей идентификации и описания с применением молекулярно-цитогенетических методов исследования.

Наконец, следует отметить еще одну область применения молекулярного кариотипирования в репродуктивной медицине. Речь идет о хромосомном микроматричном анализе абортивного материала при спонтанном прерывании беременности [33]. Преимущества молекулярного кариотипирования в данном случае перед стандартным цитогенетическим исследованием определяются, прежде всего, состоянием и качеством биологического материала, поступающего в цитогенетическую лабораторию после прерывания беременности. Часто мацерированные ткани эмбрионального или внезародышевого происхождения демонстрируют низкую пролиферативную активность, не позволяя провести качественный цитогенетический анализ. В этом случае технологии молекулярного кариотипирования имеют несомненное преимущество, обеспечивая диагностику наиболее характерных

хромосомных аномалий у спонтанных абортусов — аутосомных трисомий и анеуплоидий по половым хромосомам. Микроматричный анализ позволяет выявить и несбалансированные хромосомные перестройки, которые могут указывать на наличие в кариотипе одного из супругов сбалансированной хромосомной аномалии. В этом случае, супружеской паре могут быть предложены вспомогательные репродуктивные технологии с преимплантационным генетическим тестированием. Ограничением молекулярного кариотипирования является невозможность детекции триплоидии (за исключением SNP-чипов) и тетраплоидии — относительно частых геномных мутаций у спонтанных абортусов. Диагностика этих аномалий при наличии сбалансированного кариотипа по результатам молекулярного кариотипирования возможна альтернативными методами, в частности интерфазным FISH-анализом. Еще одним ограничением молекулярного кариотипирования спонтанных абортусов является невысокая чувствительность хромосомного микроматричного анализа к мозаицизму низкого уровня. Что касается показаний к назначению хромосомного микроматричного анализа абортивного материала, то он может быть рекомендован как при первом случае спонтанной потери беременности, так и при привычном невынашивании. Учитывая спектр геномных и хромосомных мутаций, выявляемых в клетках спонтанных абортусов, а также многообразие механизмов их возникновения, хромосомный микроматричный анализ может быть информативен для установления причины спонтанной потери беременности у супружеских пар в любом возрастном диапазоне.

Раздел 2. Возможности и ограничения ХМА

Возможность полногеномного сканирования и достаточно высокая эффективность выявления субмикроскопических CNV методом ХМА поднимают вопрос о роли и месте стандартного кариотипирования и FISH в диагностике хромосомных аномалий у пациентов с нарушением интеллектуального развития, задержкой психомоторного развития и множественными врожденными аномалиями.

Кариотипирование и ХМА представляют два различных, но комплементарных подхода к полногеномной идентификации патогенетически значимых CNV в геноме пациентов. ХМА, обладая высокой разрешающей способностью, является эффективным методом выявления клинически значимых CNV, позволяя определить тип хромосомного дисбаланса (дупликации,

трипликации или делеции), его размер, генный состав и локализацию в геноме, однако метод не может предоставить информацию о числе и структуре хромосом, вовлеченных в перестройку, а также не позволяет установить механизм, приводящий к определенному хромосомному дисбалансу. Определить структуру хромосомного дисбаланса позволяет кариотипирование метафазных хромосом в комбинации, если необходимо, с FISH-анализом. Одним из существенных недостатков метода ХМА является невозможность детекции сбалансированных хромосомных перестроек, в частности робертсоновских, реципрокных транслокаций, инверсий и инсерций. Традиционный цитогенетический анализ, и, при необходимости, молекулярно-цитогенетическое исследование родителей при обнаружении у ребенка субмикроскопических клинически значимых CNV позволяют выявлять носительство сбалансированных хромосомных перестроек у родителей и членов семьи. Идентификация механизма формирования и происхождения хромосомного дисбаланса крайне важны для оценки повторного риска рождения ребенка с хромосомной патологией, планирования тактики пренатальной диагностики при последующих беременностях и, если необходимо, преимплантационного генетического тестирования анеуплоидий (PGT-A) и структурных перестроек хромосом (PGT-SR). В ряде случаев, решить проблему происхождения хромосомного дисбаланса позволяют методы на основе комбинации ХМА и анализа родительских гаплотипов – например, «*copymapping*» [34] или «*haplarithmisis*» [35].

Хромосомные аномалии, которые могут быть детектированы при ХМА:

- анеуплоидии
- делеции
- дупликации
- трипликации
- триплоидии (SNP-array)
- одnorodительские дисомии хромосом (SNP-array, изодисомия) При подозрении на ОРД для исключения гетеродисомии может быть проведено дополнительное исследование, например семейный анализ наследования полиморфных микросателлитных повторов ДНК в области критического хромосомного региона

Хромосомные аномалии, в отношении которых ХМА не информативен:

- все сбалансированные хромосомные перестройки, включая:
 - инверсии
 - инсерции
 - реципрокные транслокации

- робертсоновские транслокации
- комплексные хромосомные перестройки
- хромосомные перестройки с вовлечением гетерохроматиновых районов хромосом, в том числе гетерохроматиновые малые сверхчисленные маркерные хромосомы
- мозаичные хромосомные аномалии с уровнем аномального клона менее 20%
- мозаичные состояния с отсутствием нормального клеточного клона
- мозаичные состояния с отсутствием суммарного дисбаланса хромосомного дисбаланса (например, мозаичные варианты кариотипа 45,X/47,XXX/46,XX с равными долями клеточных клонов 45,X и 47,XXX)

– тетраплоидии

Преимущества ХМА:

- использование любого биологического материала, из которого возможно выделить ДНК достаточного качества и количества
- относительно точная локализация и идентификация генного состава хромосомного дисбаланса (делеций и дупликаций), в зависимости от уровня разрешения используемых микроматриц, в отличие от анализа кариотипа, где точки разрывов варьируют в пределах нескольких млн.п.н.
- обнаружение регионов гомозиготности (РОН) и регионов потерь гетерозиготности (ЛОН) при использовании SNP-микроматриц
- идентификация криптических изменений копийности ДНК, которые не визуализируются при стандартном анализе хромосом
- уточняющая характеристика хромосомной аномалии, обнаруженной при стандартном цитогенетическом исследовании

Ограничения ХМА:

- невозможность детекции сбалансированных хромосомных аномалий и полиплоидии
- невозможность детекции уровня мозаицизма ниже заявленного производителем микроматрицы
- невозможность детекции изменения числа копий участков ДНК в немаркированных на микроматрицах геномных областях
- невозможность детекции изменения числа копий участков ДНК ниже заявленного производителем уровня разрешающей способности микроматрицы (однонуклеотидные варианты (SNP) или вставки/делеции (indels))

Раздел 3. Требования к биоматериалу для ХМА: источники биоматериала, условия забора, транспортировки и хранения

Источником геномной ДНК человека для ХМА могут служить как клетки периферической крови, так и любые другие ядросодержащие клетки различных тканей организма.

Забор венозной крови осуществляется в пробирку с антикоагулянтом (ЭДТА).

Применяемые методы выделения и очистки ДНК должны обеспечивать получение высокого выхода геномной ДНК надлежащего качества.

Основные требования к геномной ДНК для молекулярного кариотипирования:

- ДНК должна быть двухцепочечной
- ДНК не должна содержать ингибиторов ПЦР (высокие концентрации гемоглобина, хелатирующих агентов (например, ЭДТА, солей)
- ДНК не должна быть загрязнена другими источниками геномной ДНК человека или геномной ДНК других организмов
- Присутствие РНК и свободных нуклеотидов может ограничивать использование методов количественной оценки ДНК
- ДНК не должна подвергаться деградации

Высококачественная геномная ДНК при электрофорезе в 1% агарозном геле должна детектироваться в виде основной полосы размером примерно 10–20 т.п.н.

Раздел 4. Сроки проведения ХМА

Согласно Европейским рекомендациям по конституциональным цитогеномным исследованиям 2019 го-

да [19], сроки проведения ХМА образцов, поступивших в лабораторию, должны определяться рационально с учетом показаний и уровня срочности диагностического исследования. Однако Европейские рекомендации не универсальны и допускают использование Национальных стандартов при их наличии. В такой ситуации, рациональным и обоснованным выглядит учет еще двух важных факторов, влияющих на сроки проведения диагностического исследования. Во-первых, необходимо учитывать режим работы лаборатории, принимая во внимание тот факт, что в Российской Федерации ХМА в настоящее время доступен пациентам на базе научно-исследовательских и клиничко-диагностических лабораторий в научных институтах и национальных исследовательских центрах, а также в коммерческих организациях, существенно отличающихся по объемам проводимых диагностических исследований, загрузке оборудования и, соответственно, себестоимости анализа. Во-вторых, ключевым элементом, определяющим сроки выдачи заключения, является интерпретация клинической значимости выявленных хромосомных вариантов, которая является результатом экспертного мнения, основанного на профессиональном опыте, анализе научной и медицинской литературы, актуальных баз данных, сопоставлении клинических особенностей пациента с аналогичными опубликованными сообщениями. Принимая во внимание отмеченные выше ограничения молекулярного кариотипирования и тот факт, что результаты хромосомного микроматричного анализа, как правило, требуют верификации альтернативными методами исследования, необходимо учитывать, что выдаваемое заключение о структуре хромосомного дисбаланса, выявленного у пациента, носит *предварительный характер (табл. 1)*. Перечень необходимых дополни-

Таблица 1. Рекомендованные сроки сообщения предварительных результатов ХМА с даты поступления биологического материала в молекулярно-цитогенетическую лабораторию, с учетом времени на интерпретацию клинической значимости хромосомных вариантов

Table 1. Recommended reporting time for preliminary results of CMA from the entry date of biological material to the molecular cytogenetic laboratory, including time for interpreting the clinical significance of chromosomal variants

№	Вид исследования	Рекомендованный временной интервал сообщения предварительных результатов, в календарных днях
1	Пренатальная диагностика (пуповинная кровь)	7-10 дней
2	Пренатальная диагностика (биопсия ворсин хориона, амниоцентез)	10-14 дней
3	Постнатальная диагностика (лимфоциты периферической крови)	28-56 дней
4	Диагностика материала спонтанных абортос после прерывания беременности (ткани плодного мешка, кожа плода)	28-56 дней

тельных исследований для пациента и членов его семьи, а также сроки их проведения определяет врач-генетик в ходе обязательного послетестового медико-генетического консультирования.

Раздел 5. Интерпретация результатов ХМА

Рекомендации по технической интерпретации и верификации результатов ХМА. Анализ происхождения и наследования CNV

Поскольку ХМА – скрининговый тест, его результаты требуют обязательного подтверждения альтернативными методами. В качестве таких методов могут быть использованы стандартное кариотипирование, количественная ПЦР в реальном времени, FISH, MLPA. Каждый из методов имеет свои преимущества и ограничения. Выбор метода зависит от результатов молекулярного кариотипирования и возможностей молекулярно-цитогенетической лаборатории.

Стандартное кариотипирование

Стандартный метафазный анализ стоит выбирать для верификации хромосомных аномалий, когда у пробада при ХМА обнаружены делеция и/или дупликация размером более 10 млн.п.н. В таком случае стандартное кариотипирование необходимо рекомендовать как пациенту, так и его родителям для выяснения происхождения и структуры хромосомной аномалии. Преимуществом стандартного кариотипирования является возможность обнаружения сбалансированных перестроек хромосом и транслокаций. Ограничения метода обусловлены размером aberrантного фрагмента – от 8-10 млн.п.н.

Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH)

FISH-анализ целесообразно выбирать для верификации делеций регионов известных микроделеционных синдромов, аннотированных в OMIM, в том случае, если в лаборатории есть ДНК-зонды на кандидатные гены, обуславливающие основные симптомы заболевания. FISH-анализ является не информативным при подтверждении амплификаций, а также для делеций размером менее 100 т.п.н. Также проведение FISH целесообразно для верификации заподозренных при ХМА случаев мозаицизма. В этом случае следует проводить интерфазный FISH с исследованием большого количества (не менее 100) ядер некультивированных клеток.

Мультиплексная лигазная цепная реакция (MLPA)

MLPA обеспечивает возможность быстрого анализа хромосомного дисбаланса в регионах известных микроделеционных и микродупликационных синдромов [36]. В то же время, MLPA требует накопления большого количества образцов для запуска, не давая возможности оперативно при необходимости исследовать одну CNV в конкретной семье.

Количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени (qPCR)

Полимеразная цепная реакция в реальном времени позволяет регистрировать накопление ДНК непосредственно в ходе реакции амплификации. Данный подход позволяет оперативно подобрать и синтезировать праймеры на исследуемый регион, провести анализ для одной конкретной семьи/индивида, если это необходимо срочно (не накапливая материал), не требует большого количества ДНК.

Рекомендуется подбирать как минимум по одной паре праймеров на гены, локализованные во фланкирующих областях внутри CNV, как можно ближе к точкам разрывов. В случае, когда это невозможно, праймеры подбираются на любые гены внутри aberrации, по возможности максимально удаленные друг от друга.

Сложности с интерпретацией результатов qPCR возникают, если CNV имеет непротяженный размер, затрагивает только интрон, либо затрагивает ген из многочисленного семейства, распределенного по разным хромосомам [37].

При выполнении большого количества aCGH-анализов продолжительное время в лаборатории накапливается обширная база CNV, в том числе аномально частые варианты, на первый взгляд, оцениваемые как патогенные, но проявляющиеся, при накоплении достаточного числа наблюдений, разнообразной клинической картиной. Кроме того, в лаборатории может накапливаться информация о вариантах, не подтверждаемых с помощью альтернативных методов (например, ПЦР в реальном времени). Частые CNV, пересекающиеся с регионами известных микроделеционных/микродупликационных синдромов, вероятнее всего являются полиморфизмами. Варианты, не подтверждаемые с помощью ПЦР в реальном времени, могут представлять собой артефакты. Либо такие варианты локализованы в регионах, обогащенных повторяющимися последовательностями, псевдогенами или многокопийными генами, что затрудняет проведение количественного анализа. Если лаборатория только включилась в выполнение aCGH-ис-

следований и не обладает достаточной информацией о подобных вариантах, то они могут быть ошибочно вынесены в заключение, что приведет к ложноположительной диагностике. В табл. 2 представлены частые CNV, пересекающиеся с регионами известных синдромов. В табл. 3 представлены некоторые CNV, не подтверждаемые методом ПЦР в реальном времени. Для однозначного решения относительно того, являются ли данные варианты артефактами, необходима их верификация с помощью третьего метода (возможно, MLPA).

Цитогенетическая и молекулярно-цитогенетическая интерпретация клинически значимых CNV

Наиболее вероятные варианты CNV или их комбинации, которые могут быть выявлены при ХМА у пациентов с аномальным клиническим фенотипом, хромосомные перестройки, приводящие к возникновению таких CNV, механизмы их формирования, а также тактика обследования родителей пациента и других членов семьи для установления происхождения хромосомного дисбаланса представлены в **Приложении 1**.

Двухсегментный хромосомный дисбаланс, представленный одновременным присутствием CNV в виде терминальной делеции и дупликации негомологичных хромосом, а также терминальной делецией/дупликацией плеч одной хромосомы, как правило, является следствием патологической мейотической сегрегации родительской реципрокной транслокации или перичентрической инверсии, соответственно, что определяет обязательное обследование родителей пациента

для выявления носителя сбалансированной хромосомной аномалии. При верификации CNV и обследовании родителей выбор метода исследования зависит от вида выявленного хромосомного дисбаланса, его размера и локализации в геноме. При достаточно крупных CNV, размером более 10 млн.п.н., это может быть стандартное кариотипирование с использованием GTG-дифференциального окрашивания хромосом на уровне 550 бэндов. Если необходимо, проводят комплексное молекулярно-цитогенетическое исследование (FISH) с коммерческими локус-специфичными, субтеломерными, центромеро-специфичными, пэйтинговыми (цельнохромосомными или частично окрашивающими хромосому) ДНК-зондами, с использованием многоцветных технологий FISH. В случаях, когда CNV не ассоциированы с хорошо известными микроделеционными (микродупликационными) синдромами и не существует коммерческих локус-специфичных ДНК-зондов, для подтверждающей молекулярно-цитогенетической диагностики следует использовать специфичные ДНК-зонды на основе клонированных фрагментов ДНК или ДНК-зонды собственного производства (homemade). Следует отметить, что для верификации результатов ХМА могут быть использованы любые таргетные методы исследования, такие как количественная флуоресцентная ПЦР и MLPA.

Определенный паттерн двухсегментного хромосомного дисбаланса характерен и для таких структурных перестроек как кольцевая хромосома и инвертированная дупликация со смежной делецией (inv dup del). Как правило, такие структурные хромосомные перестройки являются спорадическими и не требуют до-

Таблица 2. Распространенные CNV, пересекающиеся с регионами микроделеционных/микродупликационных синдромов

Table 2. Frequent CNVs overlapping with microdeletion/microduplication syndromes regions

Координаты, по ISCN 2020 [38]	Размер	Гены	Микроматрица
arr[GRCh37] 11p11.2(44282436_44606275)×3 (синдром микроделеции 11p11.2, синдром Потоки-Шаффер, OMIM 601224)	323,8 т.п.н.	<i>ALX4, CD82</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] 16p11.2(30003192_30014492)×3 (синдром микродупликации 16p11.2, OMIM 614671)	11,3 т.п.н.	<i>TAOK2, HIRIP3, INO80E</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] 17q21.31(44210763_44345038)×3 (синдром микродупликации 17q21.31, OMIM 613533)	134,3 т.п.н.	<i>KANSL1</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] 22q11.22(22283292_22504070)×3 arr[GRCh37] 22q11.22(22283292_22569881)×3 (синдром дистальной микроделеции 22q11.2, OMIM 611867)	220,8 т.п.н. 286,6 т.п.н.	<i>PPM1F, LOC100286925, TOP3B, PRAMENP</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)

Примечание. Жирным шрифтом выделены патогенетически значимые гены.

полнительного обследования родителей. Вместе с тем, для правильной интерпретации хромосомного дисбаланса в таких случаях рекомендуется проведение стандартного кариотипирования.

Наибольшую настороженность в плане интерпретации вызывает односегментный хромосомный дисбаланс, когда при ХМА у пациента выявляют клинически значимые CNV в виде либо делеции, либо дупликации, либо трипликации. Зачастую при обнаружении такого хромосомного дисбаланса делается заключение

об этиологической значимости выявленного дисбаланса и консультирование семьи проводится исходя из общепринятого мнения, что случаи терминальных и интерстициальных делеций являются спорадическими, что, в свою очередь, определяет крайне низкий (близкий к общепопуляционному) повторный риск рождения ребенка с аналогичной хромосомной аномалией. Однако следует помнить, что предоставляемая при проведении ХМА информация отражает лишь число копий хромосом или их отдельных районов, но ни в ко-

Таблица 3. CNV, не подтверждаемые методом ПЦР в реальном времени

Table 3. Non-confirmed by the Quantitative Real-Time PCR CNVs

Координаты, по ISCN 2020 [38]	Размер	Гены	Микроматрица
arr[GRCh37] 4q31.23(149133323_149284619)×3	151,3 т.п.н.	<i>NR3C2</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] 5p13.2p13.1(38435253_38812557)×3	377,3 т.п.н.	<i>LIFR, EGFLAM, LIFR-AS1, MIR3650, LINC01265</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] 7p12.3(47276534_47915820)×3	639,3 т.п.н.	<i>TNS3, LINC01447, C7orf65, LINC00525, PKD1L1, C7orf69</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] 11q25(131267471_133173311)×3 arr[GRCh37] 11q24.3q25(130777412_133715345)×3 arr[GRCh37] 11q24.3q25(130703906_133715345)×3	1,906 млн.п.н. 2,938 млн.п.н. 3,011 млн.п.н.	<i>NTM, NTM-IT, OPCML, SNX19, NTM, NTM-IT, OPCML, SPATA19</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] 11q13.1(65421076_65688272)×3	267,2 т.п.н.	<i>RELA, KAT5, RNASEH2C, AP5B1, OVOL1, CFL1, MUS81, EFEMP2, CTSW, FIBP, CCDC85B, FOSL1, DRAP1, MIR1234, OVOL1-AS1, SNX32, C11orf68</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] 14q22.3(55480201_56084750)×1	604,6 т.п.н.	<i>WDHD1, SOCS4, MAPK11P1L, LGALS3, DLGAP5, FBXO34, ATG14, TBPL2, KTN1-AS1</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] 14q31.1(80672550_80736720)×3	64,17 т.п.н.	<i>DIO2, DIO2-AS1</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] 15q23(71796767_72036251)×1	239,5 т.п.н.	<i>THSD4</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] 16p13.3p13.2(5791665_8168269)×3	2,377 млн.п.н.	<i>RBFOX1</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] 16q21(60942833_65022158)×3	4,079 млн.п.н.	<i>CDH8, CDH11, MIR442</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)
arr[GRCh37] Xp11.22(53558116_53611199)×2 (синдром микродупликации Xp11.22, OMIM 300705)	53,08 т.п.н.	<i>HUWEI, MIR98, MIR-LET7F2</i>	SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)

Примечание. Жирным шрифтом выделены патогенетически значимые гены.

ем случае не дает представления о структуре хромосом, на которых локализованы CNV. Помимо спорадических, *de novo* возникающих, случаев делеций и дупликаций, такие вариации числа копий ДНК могут быть следствием патологической мейотической сегрегации родительской межхромосомной и внутривнутрихромосомной инсерции. Кроме того, особенность геномного покрытия, определяющаяся отсутствием на микроматрице фрагментов гетерохроматиновых районов хромосом, не позволяет выявлять перестройки, затрагивающие эти районы. И хотя геномный дисбаланс по гетерохроматиновым районам хромосом не ассоциирован с аномалиями фенотипа, необходимо оценивать его участие в структуре дисбаланса, поскольку при выявлении CNV в виде делеции или дупликации такой односегментный дисбаланс может быть также следствием патологической мейотической сегрегации родительской аутосомной реципрокной транслокации с вовлечением гетерохроматиновых и теломерных районов хромосом. Поэтому при каждом случае выявления у ребенка CNV в виде односегментного хромосомного дисбаланса рекомендуется обследовать родителей для выявления носительства сбалансированных хромосомных перестроек. Известно, что при некоторых структурных хромосомных перестройках, например, инсерциях, отмечается крайне высокий риск (до 50%) рождения ребенка с хромосомным дисбалансом в отличие от спорадических случаев терминальной делеции (дупликации). Схема рекомендуемого дальнейшего обследования после проведения ХМА, представлена на **рисунке 1**.

Следует отметить, что в **Приложении 1** представлены наиболее общие механизмы формирования односегментного и двухсегментного хромосомного дисбаланса, обусловленные особенностями мейотического возникновения и сегрегации различных хромосомных аномалий, и не рассматриваются более редкие ситуации комплексных хромосомных перестроек, когда имеет место делеция и/или дупликация по меньшей мере трех сегментов трех негомологичных хромосом, а также изменения копийности на уровне целых хромосом.

Мозаичные CNV

Понятием «хромосомный мозаицизм» обозначается наличие в одном организме, развившемся из одной зиготы, двух или более клеточных линий, различающихся по хромосомной конституции. Мозаицизм возникает постзиготически как результат нарушений митоза. Аномальный клон может быть представлен как анеуплоидными клетками, так и клетками, содержащи-

ми структурные хромосомные мутации (дериватные и маркерные хромосомы, делеции, дупликации и другие структурные перестройки хромосом). Кроме того, хромосомный мозаицизм может возникнуть в результате соматической мутации, появившейся в клетках зиготы или эмбриона с изначально нормальным набором хромосом, или как результат спонтанной коррекции аномального (преимущественно анеуплоидного) варианта. Представленность аномального клона в организме зависит от трех обстоятельств: а) нормальный или аномальный хромосомный набор в зиготе; б) на какой стадии онтогенеза возникла хромосомная мутация; в) сравнительная пролиферативная активность и жизнеспособность нормального и аномального клона. Небольшое количество клеток, содержащих хромосомные варианты, может быть выявлено практически у любого здорового человека. У пациентов с проявлениями наследственных заболеваний доля аномального клона может варьировать в очень широких пределах, кроме того, представленность клеток с разным хромосомным набором в разных тканях может существенно отличаться. Эти обстоятельства значительно затрудняют диагностику хромосомного мозаицизма. Золотым стандартом при диагностике уровня мозаицизма является интерфазный FISH, проводимый на некультивируемых клетках с подсчетом большого количества проанализированных ядер (не менее 100). Однако мозаичный хромосомный набор может быть выявлен и при стандартном кариотипировании, а некоторых случаях и при проведении ХМА.

Как известно, результаты сравнительной геномной гибридизации, лежащей в основе ХМА, формируются в виде графика, который отражает в логарифмическом масштабе соотношение интенсивности сигнала флуорофоров от тестовой и контрольной ДНК в каждой точке микроматрицы. Значение этого показателя зависит от количества копий ДНК в сравниваемых тестовом и контрольном образцах. Соотношение количества ДНК в норме и при хромосомном мозаицизме приведено в таблице 4, а ожидаемые значения LogRatio (логарифм по основанию 2 от соотношения флуоресценции тестовой и контрольной ДНК) – в таблице 4. Подсчет производится следующим образом. Предположим, что в исследуемом образце имеется хромосомный мозаицизм по дупликации соответствующего локуса, с долей аномального клона 50%. Если мы рассмотрим представленность ДНК этого локуса в 100 клетках тестовой и контрольной ДНК, мы получим следующие результаты: в контрольном образце – 200 копий (2 ко-

пии в каждой клетке); в тестовой ДНК в 50 клетках представлено по три копии данного локуса, и еще в 50 клетках – две копии, всего 250 копий. Таким образом, при 50% мозаицизме соотношение коли-

чества ДНК для аномального локуса $250:200=1,25$ (табл. 4). Значение $\log_2 1,25=0,32$ (табл. 5).

Данный алгоритм позволяет выявлять мозаицизм с долей аномального клона от 15-20% при анализе мо-

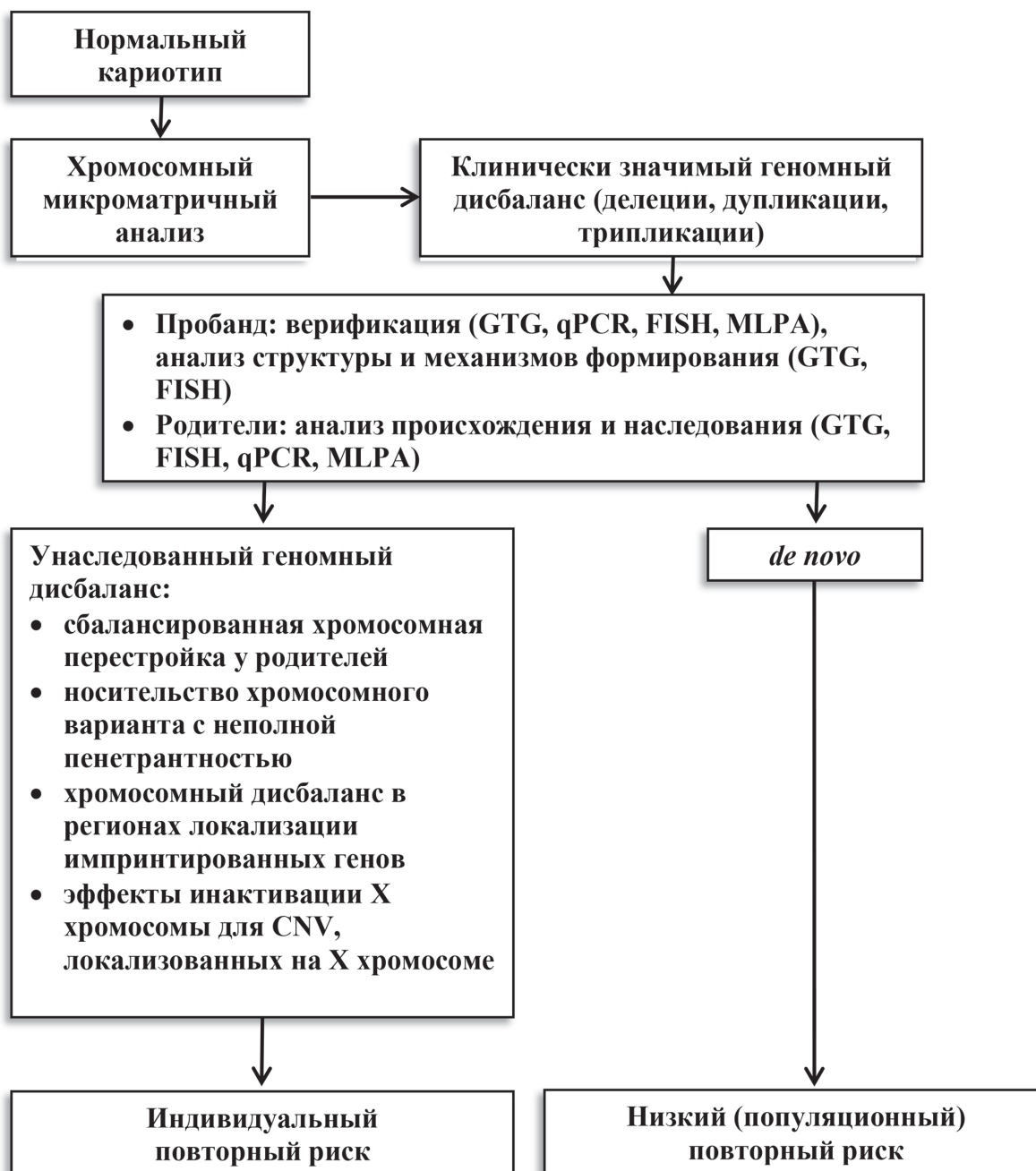


Рисунок 1. Алгоритм обследования при выявлении клинически значимых CNV

Figure 1. Examination algorithm for detecting of clinically significant CNVs).

заичных анеуплоидий и от 30-40% при анализе сегментных CNV [39]. Разрешающая способность метода варьирует в зависимости от длины участка с аномальным числом копий, типа матрицы, применяемого алгоритма обработки данных и качества анализа [40, 41]. Таким образом, значения LogRatio от 0,138 до 0,485 (соответствующие мозаицизму с долей аномального клона от 20% до 80%) весьма достоверно указывают на мозаичную трисомию, а значения от -0,737 до -0,152 – на мозаичную моносомию по целым хромосомам. Точность выявления сегментных мозаичных CNV ниже, но для участков протяженностью от 1 млн п.н. значения LogRatio от 0,263 до 0,485 (соответствующие доле аномального клона от 40 до 60%) и от -0,322 до -0,515 также могут свидетельствовать в пользу мозаичной частичной трисомии или частичной моносомии по данным локусам, соответственно. Следует, однако, отметить, что результаты ХМА, полученные для предполагаемых мозаичных вариантов, обязательно должны быть верифицированы другими количественными методами (например, FISH) с целью исключения гипердиагностики.

Интерпретация клинической значимости CNV

Один из ключевых этапов молекулярного кариотипирования – составление заключения на основе интерпретации клинической значимости CNV. Подходы к такой интерпретации активно разрабатываются в последние годы с ростом информации как о спектре CNV в геноме человека, так и о клинических особенностях их манифестации. При этом только отно-

сительно небольшая доля известных на сегодняшний день CNV проявляются довольно строго очерченным фенотипом, составляя этиологическую основу микроделеционных и микродупликационных синдромов [7-10]. Часто такие CNV возникают в областях сегментных дупликаций генома по механизму неаллельной гомологичной рекомбинации (NAHR), затрагивая строго определенное число генов, локализованных между блоками низкокопийных повторов ДНК. Согласно данным последней актуальной сборки генома человека T2T-CHM13, опубликованной в 2022 году, число идентифицированных в геноме сегментных дупликаций достигло 41528 [42]. Соответственно, вполне можно прогнозировать дальнейший рост информации как о хромосомных вариантах, «запрограммированных» в своем возникновении особенностями структурной организации генома, так и об их клинической значимости. Вместе с тем, подавляющее число CNV в настоящий момент являются уникальными, описанными в небольшом числе публикаций, либо вовсе не охарактеризованными с клинической точки зрения. Все это представляет нетривиальную задачу для интерпретации патогенетической значимости редкого или впервые обнаруженного в диагностической практике хромосомного варианта. Данная задача многократно усложняется в пренатальной диагностике, как вследствие еще меньшей доступности информации об особенностях фенотипической манифестации хромосомного дисбаланса в эмбриональном и плодном периодах развития, так и в условиях экстремального дефицита времени для принятия ди-

Таблица 4. Количество ДНК при хромосомном мозаицизме с разной долей аномального клона по отношению к контрольной ДНК

Table 4. The amount of DNA in chromosomal mosaicism with a different proportion of the abnormal cell clone in relation to the control DNA

	100% (не мозаичный)	75%	50%	25%
дупликация	1,5	1,375	1,25	1,125
делеция	0,5	0,625	0,75	0,875

Таблица 5. Ожидаемые значения LogRatio для аномально представленных локусов при хромосомном мозаицизме с разной долей аномального клона

Table 5. Expected LogRatio for Abnormal Loci in Chromosomal Mosaicism with Different Percentage of Abnormal Cell Clone

	100% (не мозаичный)	75%	50%	25%
дупликация	0,58	0,46	0,32	0,17
делеция	-1,0	-0,68	-0,42	-0,19

агностического решения. Именно поэтому, консенсус в подходах к интерпретации и классификации CNV крайне необходим. Существующие на сегодняшний день подходы к интерпретации в большинстве своем обеспечивают возможность интерпретации CNV с определенными допущениями. Обозначить в рамках настоящих рекомендаций какой-либо универсальный алгоритм интерпретации представляется преждевременным. Тем не менее, обзор существующих подходов к классификации CNV по их клинической значимости, видится важным для принятия диагностических решений.

С целью межлабораторной унификации классификации CNV возможно использование полуколичественной балльной системы критериев, определенных в 2020 году Американской коллегией по медицинской генетике и геномике (ACMG – American College of Medical Genetics and Genomics) и проектом “Клинический геномный ресурс” (ClinGen – Clinical Genome Resource) [20]. Рабочей группой ACMG и ClinGen установлены категории доказательств, включающие тип изменения копийности генетического варианта, прогнозирование его чувствительности к дозе, ожидаемое функциональное действие, совпадение клинической картины пациентов с описанной в медицинской литературе, доказательства, взятые из баз данных для пациентов и контрольных групп, а также наследование CNV. Критерии разработаны отдельно для вариантов с уменьшением количества копий (делеции) и вариантов с увеличением количества копий (дупликации) (**Приложение 2**).

Все категории маркируются в зависимости от используемого критерия (1A, 1B, и т.д.), при этом каждой из них присваивается определенный балл. Баллы, присваиваемые каждому доказательству, приблизительно соответствуют их силе и значимости в рамках интерпретации CNV, однако статистически они не обоснованы. В целом, доказательство, получившее 0,90 или более баллов, считается «очень сильным»; 0,45 баллов — «сильным»; 0,30 баллов — «средним»; а 0,15 баллов и ниже рассматривается в качестве подтверждающего доказательства. Оценки для каждого доказательства как в подтверждение (положительные значения), так и для опровержения (отрицательные значения) патогенности суммируются. Вариант количества копий ДНК с итоговым количеством баллов $\geq 0,99$ считается **патогенным**, в то время как количество баллов в интервале между 0,90 и 0,98 оценивает вариант как **вероятно патогенный**. CNV с **неопределенным клиническим значе-**

нием встречаются чаще всего и соответствуют баллам от $-0,89$ до $0,89$. Варианты, которым присвоены баллы в интервале между $-0,90$ и $-0,98$ или $\leq -0,99$, расцениваются как **вероятно доброкачественные** и **доброкачественные**, соответственно.

Патогенные CNV (P)

Патогенными (P – Pathogenic) следует классифицировать CNV, оценка для которых составляет 0,99 баллов или выше с использованием полуколичественной системы критериев доказательства. Несмотря на то, что полный клинический эффект CNV для фенотипа пациента может быть неизвестным, патогенность CNV не должна подвергаться сомнению.

Патогенными являются:

1. CNV, ассоциированные с соответствующими клиническими фенотипами и описанные в разных рецензируемых публикациях, с хорошо изученной пенетрантностью и экспрессивностью генов, даже в случае их вариабельности;

2. CNV, которые полностью покрывают участок с чувствительным к дозе геном;

3. мультигенные CNV, для которых известно, что, по меньшей мере, один ген является чувствительным к дозе, даже если значимость остальных генов точно не известна.

Вероятно патогенные CNV (LP)

Вероятно патогенными (LP – Likely pathogenic) являются CNV с оценкой в интервале между 0,90 и 0,98 баллов при использовании критериев доказательства. В целом, данные варианты имеют высокие показатели критериев доказательства, свидетельствующее о том, что они вызывают заболевание, но этого доказательства недостаточно для окончательного подтверждения патогенности.

К вероятно патогенным CNV можно отнести:

1. делеции, охватывающие 5'-конец (плюс дополнительную кодирующую последовательность) генов с установленной гаплонедостаточностью (ГН) в случаях, где отсутствуют какие-либо альтернативные рамки считывания (категория 2C-1, критерии для классификации делеций);

2. делеции, охватывающие несколько экзонов (включая 3'-конец гена) в гене с установленной ГН (категория 2D-4);

3. делеции или дупликации, охватывающие гены при наличии нескольких публикаций, в которых упоминаются соответствующие высокоспецифичные фенотипы.

Варианты с неопределенной клинической значимостью (VOUS или VUS)

К вариантам с неопределенной значимостью (VOUS – Variants of uncertain significance) относятся те, оценка для которых находится в интервале между $-0,89$ и $0,89$ баллов при использовании критериев доказательств. Эти варианты представляют собой самую обширную категорию и могут включать варианты, для которых патогенность или доброкачественность подтверждается (либо может быть подтверждена) позднее при использовании дополнительных доказательств. Некоторые CNV в данной категории могут иметь больше доказательств, чем другие, что указывает на то, что их эффект в формировании клинической картины и вероятность появления дополнительных доказательств в опубликованной литературе могут быть выше. В целом, если на момент составления заключения для анализируемого варианта имеется недостаточное количество доказательств для уверенного определения его классификации, при этом CNV соответствует критериям включения в заключение, установленные в лаборатории, такой вариант должен описываться как вариант с неопределенной клинической значимостью.

К вариантам с неопределенной клинической значимостью можно отнести:

1. CNV, для которой превышен установленный лабораторией порог для включения в отчет, но отсутствуют гены в затронутом интервале (категория 1B);

2. CNV, описанная в небольшом числе случаев во всей популяции, но не с достаточной частотой для того, чтобы считаться полиморфизмом ($>1\%$) (категория 4O со сниженной оценкой вследствие частоты);

3. CNV, содержащая небольшое количество генов, но при этом неизвестно, являются ли гены, локализованные в границах данного варианта, чувствительными к дозе (категория 3A);

4. CNV, описанная в нескольких противоречащих друг другу публикациях и/или базах данных, при отсутствии однозначных выводов относительно клинической значимости (несколько категорий);

5. CNV в пределах одного гена (категория 2E, критерий для классификации делеции, и 2I – для дупликаций) при отсутствии данных о влиянии на рамку считывания транскрипта.

Вероятно доброкачественные CNV (LB)

Вероятно доброкачественными (LB – Likely benign) являются CNV с оценкой в интервале между $-0,90$ и $-0,98$ баллов при использовании критериев доказательств. В целом, данные варианты имеют сильное до-

казательство, свидетельствующее о том, что они, вероятно, не являются причинными для заболевания, но этого доказательства недостаточно для того, чтобы считать его окончательным.

Вероятно доброкачественными CNV могут являться:

1. варианты с отсутствием статистически значимых различий между наблюдениями случай-контроль (категория 4N);

2. варианты, наблюдаемые часто в популяции (хотя и с частотой ниже 1% как стандартного порога для обычного популяционного полиморфизма [категория 4O]).

Доброкачественные (полиморфные) CNV (B)

Доброкачественными (B – Benign) являются CNV с оценкой $-0,99$ и менее баллов при использовании критериев доказательств. Данные CNV обычно упоминаются в нескольких рецензируемых публикациях или отмечаются в базах данных как доброкачественные варианты, особенно в том случае, если природа таких вариантов числа копий ДНК хорошо охарактеризована (например, CNV гена амилазы слюны) и/или CNV отображает обычный полиморфизм. Для классификации в качестве полиморфизма вариант должен быть распространен более чем у 1% популяции. Особенно важно учитывать дозу CNV, описанных как доброкачественные, принимая во внимание, например, что дупликации отдельных участков могут носить доброкачественный характер, в то время как делеции тех же самых областей могут иметь клиническое значение.

Характеристика и рекомендации по использованию критериев оценки патогенности CNV

Оценка геномного состава CNV

Первоначально рекомендуется оценить геномный состав обнаруженной CNV. Вероятно, клинически значимые CNV могут содержать или перекрываться не только с кодирующими белки генами, но и с другими известными функционально значимыми элементами. Примерами таких элементов являются: энхансер гена *SHOX*, расположенный дистальнее гена на 160 т.п.н., зона регуляторной последовательности *ZRS*, расположенная в пределах 5 интрона гена *LMBR1*, но при этом влияющая на активность гена *SHH* и др. Помимо этого лаборатории могут проводить оценку геномного состава в максимальном интервале CNV, учитывая, что точки разрыва CNV точно не локализованы

из-за наличия некоторого расстояния между зондами на микроматрице. Это может быть отображено в дополнительном списке с рекомендацией оценить количество их копий другими методами.

Оценка CNV на наличие генов (пересечения с генами/регионами) с установленным эффектом гаплонедостаточности или триплочувствительности

Важным критерием оценки патогенности CNV является наличие в ней генов (или пересечение с регионами или генами), для которых четко установлена чувствительность к дозе. Значимые CNV наиболее вероятно будут содержать дозозависимые гены, приводящие к формированию аномального фенотипа за счёт увеличения или уменьшения количества их белкового продукта. Если одной копии гена и, как следствие, пониженного уровня белка недостаточно для обеспечения его нормальной функции, то такой эффект принято называть «эффект гаплонедостаточности» (ГН). При увеличении количества копий отдельных генов/регионов, количество белка, продуцируемого с них, также будет увеличиваться, что приведет к усилению функции гена, опосредуя «эффект триплочувствительности» (ТЧ).

Те CNV, которые полностью содержат установленные чувствительные к дозе гены или области генома, классифицируются как патогенные. Если оцениваемая CNV частично перекрывает регион, для которого установлен дозозависимый эффект, то, необходима дальнейшая оценка, чтобы определить, известен ли причинный ген или критическая область для установленного региона. Если критический ген/регион еще не был установлен, необходимы дополнительные данные для определения клинической значимости CNV. Например, несмотря на то, что клиническая значимость делеции 1p36 (OMIM#607872) была установлена давно, до сих пор не существует причинного гена или критической региона данной делеции. Делеции, частично покрывающие данный регион, но не полностью его охватывающие, потребуют дополнительных доказательств для определения их клинической значимости и классификации. Если CNV частично перекрывает ген с ГН или ТЧ, требуется дополнительная оценка для определения потенциального функционального эффекта с учетом анализа точек разрыва, участия кодирующей последовательности (для частичной делеции/дупликации гена) и данных из литературы.

Аналогичная логика применяется, когда CNV включает ген или хромосомный регион с маловероят-

ной чувствительностью к дозе, согласно базе данных ClinGen. Как правило, это CNV, которые встречаются в общей популяции с частотой 1% или выше. Когда оцениваемая CNV полностью содержится в одном из таких регионов, её можно считать «доброкачественной». Если оцениваемая CNV полностью перекрывает установленный доброкачественный ген/регион, но при этом содержит дополнительный генетический материал, она может содержать клинически значимые гены или функционально важные элементы, такие как регуляторные области для соседних генов с установленной ГН. В таких случаях рекомендуется оценка геномного состава дополнительного генетического материала в анализируемой CNV.

Для определения генов/регионов, для которых определен эффект ГН или ТЧ, разработан ресурс Dosage Sensitivity (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/dbvar/clingen/>), где выставление метрики основано на литературных (клинических) данных и исследованиях случай-контроль. Согласно данному ресурсу, чувствительные к дозе гены/регионы имеют балл 3 (score=3). Гены/регионы с меньшим количеством доказательств получают соответственно более низкие баллы: «2» означает постепенное накопление данных о дозозависимом эффекте, «1» соответствует малому количеству доказательств, а «0» означает, что не сообщалось о доказательствах, подтверждающих чувствительность к дозировке. Балл «40» присваивается генам/регионам, которые не чувствительны к дозировке, что означает существование доказательств абсолютно четко опровергающих его дозозависимый эффект. При этом разработчиками данного ресурса была определена возможность условного соотношения данных баллов и классификации CNV (табл. 6).

В клинической базе данных DECIPHER также установлен возможность оценивать гены на предмет их чувствительности к дозе. Метрики rHaplo отображают вероятность эффекта гаплонедостаточности, а rTriplo – вероятность эффекта триплочувствительности [43]. Показатели rHaplo $\geq 0,86$ и rTriplo $\geq 0,94$ указывают на то, что эффект от делеции и дупликации, соответственно, данного гена или региона, который входит в CNV, столь же силен, как и эффект от вариантов, опосредующих потерю функции данного гена, которые ограничены вариантами, приводящими к укорочению белка (отношение шансов $\geq 2,7$). Показатели rHaplo $\geq 0,55$ и rTriplo $\geq 0,68$ указывают на отношение шансов ≥ 2 . Метрика rTriplo наиболее актуальна для дупликаций, захватывающих целые гены. Если точка разрыва на-

ходится внутри гена, считается, что функция этого гена нарушена и необходимо использовать иные метрики оценки.

В рамках анализа CNV, нарушающих структуру гена (моногенные CNV), для определения чувствительности затронутого гена к вариантам с потерей функции и, как следствие, оценки чувствительности к дозе, могут использоваться метрики pLI и LOEUF, информация о которых представлена в базах данных gnomAD, DECIPHER, ClinGen.

pLI – метрика, отображающая непереносимость вариантов с потерей функции (Loss of function variant – LOF), а именно вариантов, изменяющих рамку считывания, нонсенс вариантов и вариантов сплайсинга. Подсчет данной метрики основан на определении отношения наблюдаемых и ожидаемых количеств LOF-вариантов при анализе 125748 экзомных данных в gnomAD v2.1.1. Считается, что ген обладает эффектом гаплонедостаточности, если в нем определяется <10% ожидаемых LOF-вариантов. Значения данной метрики варьируют от 0 до 1. Чем ближе значение к 1, тем более чувствителен ген к LOF-вариантам: гены с высокими показателями pLI ($pLI \geq 0,9$) крайне чувствительны к LOF-вариантам, тогда как гены с низкими показателями pLI ($pLI \leq 0,1$) толерантны к LOF.

LOEUF, в отличие от pLI, отображает верхнюю границу доверительного интервала (0,9), установленную относительно отношения наблюдаемое/ожидаемое. Поскольку gnomAD является общепопуляционной базой данных, то в ней может не в полной мере отображаться истинное накопление вариантов с потерей функции, поэтому для этой оценки была установлена верхняя граница, чтобы сделать ее более консервативной. Считается, что гены с низкими показателями LOEUF достоверно не толерантны для LOF-вариантов и, как следствие, способны опосре-

довать эффект гаплонедостаточности. Тогда как гены с высокими показателями LOEUF представляют собой совокупность генов, толерантных к LOF и генов, которые слишком малы, чтобы получить точную оценку наблюдаемого/ожидаемого отношения. При использовании метрик pLI и LOEUF необходимо учитывать, что их значение может сильно зависеть от транскрипта гена и может отличаться в базах данных DECIPHER и gnomAD.

Для вариантов, аннотированных в базе данных DECIPHER, определена чувствительность к дозе с использованием предсказательных алгоритмов. Поэтому для любой обнаруживаемой CNV у пациента можно оценить варианты с близкими координатами в данной базе данных, определить среди них CNV с одним и тем же генным составом и косвенно оценить чувствительность к дозе для выявленного у пациента варианта.

Для каждой аннотированной CNV в базе данных DECIPHER определено два показателя: Метрика чувствительности к дозе (Dosage sensitivity score) и Вероятность выборки (вероятность включения) (Sampling probability).

Метрика чувствительности к дозе отображает показатель логарифмических шансов (LOD), основанный на прогнозируемой гаплонедостаточности (pHaplo) отдельных генов в пределах делеции или триплочувствительности (pTriplo) отдельных генов в пределах дупликации, т.е. определяет отношение вероятности того, что ни один из генов в пределах варианта не является чувствительным к дозировке, и вероятности того, что по крайней мере один из пораженных генов является чувствительным к дозировке. Высокий положительный показатель данной метрики указывает на то, что вариант с большей вероятностью является патогенным, чем вариант с более низким положительным или отрицательным показателем. Для данной метрики не опреде-

Таблица 6. Классификация CNV на основе метрик чувствительности к дозе, установленных ресурсом Dosage Sensitivity

Table 6. CNV classification based on dose sensitivity metrics set by the Dosage Sensitivity resource

Балл ГН/ТЧ	Классификация CNV
3	Патогенный вариант
2	Вероятно патогенный вариант
1	Вариант неизвестной клинической значимости
0	Вариант неизвестной клинической значимости или Вероятно доброкачественный вариант
40	Доброкачественный вариант

лены верхняя или нижняя границы показателей чувствительности к дозе, но на практике DECIPHER ограничивает эти оценки от -10 до 25.

Показатель Вероятность выборки описывает вероятность распространенности оцениваемой CNV с определенным показателем r_{Haplo} и r_{Triplo} в совокупности всех CNV, для которых определены данные метрики в общей популяции по данным WTCCC (The Wellcome Trust Case Control Consortium). Чем меньше данный показатель, тем ниже вероятность того, что такая CNV будет описана в общей популяции и, следовательно, вероятно может быть рассмотрена в качестве причины описанного состояния у обследуемого пациента.

Подводя итог, в качестве референсной базы по оценке чувствительности к дозе рекомендуется использовать ресурс ClinGen Dosage Sensitivity, где выставление метрики в основном основано на литературных (клинических) данных и исследованиях случай-контроль. Все иные метрики чувствительности к дозе (r_{LI} , LOEUF, r_{Haplo} , r_{Triplo}) основаны на предсказательных алгоритмах и являются продуктом машинного обучения. Такие метрики могут использоваться как вспомогательная оценка, но при отсутствии накопленных клинических данных и данных исследований случай-контроль их применение в качестве самостоятельной и полноценной оценки чувствительности к дозе должно происходить с осторожностью. Варианты, чувствительность к дозе которых оценена только на основании дополнительных метрик, вероятно не должны однозначно классифицироваться как патогенные и вероятно-патогенные варианты, даже если все дополнительные метрики свидетельствуют в пользу чувствительности к дозе и клиническая картина пациента соответствует данному эффекту.

Оценка числа генов, затрагиваемых CNV

Количество генов в составе CNV традиционно используется в качестве одного из основных критериев патогенности, исходя из того, что при наличии в границах CNV большого количества генов выше вероятность того, что потеря или увеличение их количества приведет к некоторым очевидным клиническим последствиям. Однако часто встречаются исключения из этого правила. Некоторые CNV, которые являются очень протяженными, включая цитогенетически видимые дисбалансы, могут быть доброкачественными, в то время как очень мелкие CNV, затрагивающие единственный ген, либо даже его отдельные экзоны или регуляторные последовательности, вполне могут

оказаться патогенными по причине чувствительности гена к дозе (*подробнее см раздел по интерпретации моноклоновых CNV*).

Помимо этого, следует проявлять осторожность в тех случаях, когда CNV включает кластеры генов или семейства генов, особенно те, которые не являются кодирующими или не имеют какой-либо известной клинической ассоциации. Рекомендуется считать каждый кластер/семью как один ген. Исключения составляют семейства генов, в которых известно, что отдельные гены связаны с заболеванием (например, область кластера генов *SCN* в 2q24.3); в этих случаях гены, ассоциированные с отдельными заболеваниями, могут учитываться индивидуально.

Оценка CNV с использованием источников литературы и баз данных

При классификации CNV рекомендуется использование различных источников данных, таких как опубликованная литература, общедоступные базы данных и/или внутренние лабораторные данные. При использовании литературных источников важно искать данные уровня случай-контроль, которые подтверждают или опровергают клиническую значимость оцениваемой области генома. Основные общедоступные базы данных для классификации CNV приведены в табл. 7.

Разграничение понятий классификации CNV и её клинической значимости

Разграничение классификации варианта (P, LP и т.д.) и клинической значимости в контексте диагноза отдельного пациента играет ключевую роль в объективной и согласующейся интерпретации вариантов генома. Несмотря на то, что фенотип пробанда обязательно учитывается при оценке доказательств, подтверждающих патогенность CNV, классификация варианта не должна проводиться исключительно в рамках рассматриваемого пациента.

Например, в литературе имеется убедительное доказательство того, что делеция отдельного гена приводит к заболеванию X, при этом лабораторная оценка делеции данного гена может достигать 0,99 баллов с использованием критериев доказательств. В таком случае лаборатория не должна игнорировать все собранные ранее доказательства и классифицировать такой вариант как вариант неизвестного клинического значения только по причине того, что у пациента не проявляются признаки заболевания X. В связи с этим вариант должен получать одну и ту же класси-

фикацию (P, LP и т.д.) независимо от ее клинической значимости для каждого пациента, которая при этом может отличаться.

Например, имеется весомое доказательство, подтверждающее тот факт, что отдельно взятый ген на X-хромосоме является причиной заболевания через потерю функции. Принимая во внимание совокупность доказательств, делеции, включающие этот ген, должны классифицироваться как патогенные каждый раз, когда они отмечаются независимо от того, наблюдаются ли они у гемизиготных мужчин или гетерозиготных женщин. В отчете лаборатория должна пояснить потенциальные последствия такой делеции для исследуемого пациента: для мужчины такой вариант может отображать диагностический результат; для женщины – может указывать на носительство. Поэтому каждое описание CNV должно включать четкую формулировку его классификации и доказательство, подтверждающее ее, как изложено в данных рекомендациях, а также клиническую значимость данного варианта для исследуемого пациента.

Несмотря на то, что рекомендации, основанные на полуколичественной системе оценки классификации CNV, стремятся полностью объединить наиболее распространенные ресурсы и процессы, очень важно учитывать, что нельзя применить уникальный алгоритм для всех возможных сценариев, возникающих при классификации CNV. Подразумевается, что полуколичественная система оценки служит только в качестве ориентира. **При оценке доказательств, связанных с конкретным хромосомным вариантом, и определении его клинической значимости ведущим остается экспертное мнение.**

Клинически значимые варианты, не связанные с причиной направления

В редких случаях возможно выявление CNV, не связанных с непосредственной причиной направления пациента на обследование, но указывающих на предсимптоматическую стадию заболевания с поздней манифестацией или текущую клинически не распознанную патологию. Такие CNV являются **случайной находкой** при исследовании. Это, например, делеции, которые охватывают гены-супрессоры опухоли [44], мужское бесплодие вследствие делеций, затрагивающих область AZF Y-хромосомы [45], делеции, затрагивающие ген наследственной параплегии (*SPG4*) у детей, направленных на диагностику аутизма [46], и т.д. Практически невозможно предоставить предварительно определенный перечень всех возможных подобных состояний, чтобы пациент согласился на поиск и внесение в заключение каждого заболевания. Поэтому врачи, направляющие на данное исследование, должны четко осознавать вероятность таких находок, а пациенты/семьи должны быть надлежащим образом проинформированы до направления на обследование, желают они или нет получить информацию о «случайных находках» и готовы ли они ее получить.

Рекомендуется сообщать о патогенных или вероятно патогенных CNV, указывающих на предсимптоматическую стадию заболевания, чтобы облегчить получение надлежащей и своевременной медицинской помощи пациентом. Отдельные лаборатории могут придерживаться политики неразглашения относительно конкретных заболеваний и приводить их перечень в своих клинических отчетах. Настоятельно рекомен-

Таблица 7. Популяционные и клинические базы данных для интерпретации CNV

Table 7. Population and clinical databases for CNV interpretation

База данных	Ссылка
Популяционные базы данных	
DGV (Database of Genomic Variants) – База данных геномных вариантов	http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home
gnomAD (Genome Aggregation Database) – База данных геномов и экзомов	https://gnomad.broadinstitute.org/
Клинические базы данных	
DECIPHER (Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans) – База данных хромосомных дисбалансов и патологий у человека	https://www.deciphergenomics.org/
ClinGen (Clinical Genome Resource) – Клинический геномный ресурс	https://www.clinicalgenome.org/
ClinVar – база данных, отображающая клиническую значимость вариантов в геноме	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/
OMIM (An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders «Online Mendelian Inheritance in Man») – Онлайн-версия каталога наследственных болезней «Менделевское наследование у человека»	https://www.omim.org/

дуется отображать позицию лаборатории по использованию и вынесению информации о «случайных находках» в информированном согласии.

Рабочая группа ACMG по «случайным находкам» была создана для выявления генов, «ассоциированных с высоко пенетрантными заболеваниями, для которых определен спектр мер, направленных на значительное снижение заболеваемости и смертности» [47]. При оценке CNV, включающих такие гены, важно помнить о механизме развития ассоциированного с ними заболевания. Если эффект гаплонедостаточности или триплочувствительности не указан в качестве механизма, опосредующего развитие заболевание для конкретного гена, то делеция или дупликация, вероятно, не является клинически значимой. Если механизм заболевания связан с эффектом гаплонедостаточности или триплочувствительности, данную CNV необходимо включить в отчет.

При классификации вариантов, на первый взгляд не связанных с причиной направления на исследование, важно разделять классификацию вариантов и клиническую корреляцию. Исторически сложилось так, что причина направления влияла на процесс интерпретации CNV, поэтому варианты с убедительным доказательством патогенности классифицировались как VOUS, поскольку они не «объясняли» указанную причину направления пациента. Причины для направления, предоставленные лабораториям, не всегда могут отражать полную картину фенотипических особенностей пациента, а предположения относительно того, присутствует ли у пациента характерная особенность, не являются целесообразными без соответствующей консультации с направляющим врачом. **Тесное взаимодействие между лабораторией и направляющим врачом имеет решающее значение для проведения клинической корреляции.** Необходимо использовать имеющуюся информацию о фенотипе конкретного пациента в качестве доказательства значимости варианта. Например, доказательством патогенности выявленного варианта может служить наличие у пациента аномалий фенотипа, соответствующих описанию таковых для наблюдаемой CNV,

В случаях, если аналогичная CNV была выявлена у пациентов с отличающейся клинической картиной, нецелесообразно присваивать им различную классификацию. Например, имеются убедительные доказательства, что варианты в гене X приводят к потере слуха. Если лаборатория обнаруживает делецию данного гена у пациента, направленного на обследование по причине потери слуха, и ту же самую делецию у другого па-

циента, направленного в связи с задержкой развития речи, то эти делеции не должны интерпретироваться как вариации P и VOUS в первом и втором случае, соответственно. Такой вариант должен классифицироваться как P в обоих примерах. Очевидно, что в данном случае обнаруженный вариант непосредственно связан с причиной направления у пациента с потерей слуха, но может отображать случайную находку или недиагностированную/невключенную особенность фенотипа в клиническую информацию у второго. Причина направления на ХМА сама по себе не должна использоваться для обоснования различной классификации одной и той же CNV у разных пациентов.

CNV, опосредующие статус носительства

Выявление некоторых CNV, особенно делеций, указывает на статус носительства для генов с аутосомно-рецессивным и X-сцепленным типом наследования. Если лаборатория включает в заключение варианты, отвечающие за носительство, то в таких заключениях должны четко разделяться CNV, связанные с причиной направления, и варианты со статусом носительства. Если носительство CNV, затрагивающих гены с рецессивным типом наследования, не оценивается, то в заключении это должно быть указано. При этом консультирующий врач при наличии клинических данных, позволяющих подозревать наличие рецессивного заболевания, может обратиться в выдавшую заключение лабораторию для проведения повторного анализа.

Существуют некоторые ситуации, при которых рекомендуется вынесение в заключение статуса «носительство»:

1. Хорошо изученные заболевания, при которых установленным патогенным механизмом является потеря функции гена(ов). В подобных случаях сообщение о носительстве может быть правомерным, обеспечивая возможность для репродуктивного консультирования семьи и дополнительного обследования пробанда, особенно если частота носительства достаточно высока и/или для данного заболевания широко распространен скрининг (например, муковисцидоз).

2. Заболевания с клиническими признаками, соответствующими причине направления пациента на обследование. Лаборатория может рекомендовать дополнительное молекулярно-генетическое исследование на данное заболевание с целью выявления второго патогенного аллеля. В таком заключении должна быть четко охарактеризована рецессивная природа заболевания, а также то, что обнаруженная CNV не является

основанием для постановки диагноза без подтверждения наличия второго патогенного варианта.

3. CNV, включающие чувствительные к дозе гены в X хромосоме у женщин. Принимая во внимание существенный репродуктивный риск при носительстве женщиной сцепленного с X хромосомой заболевания, рекомендуется включать в заключение такие варианты, поскольку это обеспечивает возможность пациентке и членам ее семьи при необходимости провести дополнительные исследования и получить консультации врача. Кроме того, у женщин могут проявляться симптомы многих X-сцепленных заболеваний.

Для прояснения таких нюансов лабораториям, составляющим заключение, рекомендуется разбить отчет на разделы, описывающие отдельно первичные находки, которые рассматриваются в качестве связанных с причиной направления, и вторичные находки или носительство. При этом лаборатории могут самостоятельно решать, нужны ли такие дополнительные подкатегории.

Интерпретация патогенетической значимости моногенных CNV

С повышением разрешающих возможностей молекулярно-генетических методов исследования границы между вариантами нуклеотидной последовательности (single nucleotide variant, SNV) и вариациями числа копий участков ДНК (copy number variation, CNV) начинают стираться. Делеции/дупликации на уровне отдельных экзонов могут быть идентифицированы с помощью одного теста (NGS), а, следовательно, формируется мнение, что поддерживать различия в интерпретации между разными типами вариантов (SNV и CNV) нет необходимости. В 2015 году совместно с Американской коллегией по медицинской генетике и геномике (ACMG) и Ассоциацией молекулярной патологии (AMP) изданы стандарты и рекомендации по интерпретации вариантов нуклеотидной последовательности [48]. В 2020 году Brandt с коллегами модифицировали эти рекомендации для интерпретации патогенетической значимости моногенных CNV, с учетом их некоторых особенностей [21]. Среди проблем интерпретации CNV можно выделить следующие:

1) использование для интерпретации их патогенетической значимости специализированных ресурсов — баз данных DGV, DECIPHER, имеющих свои ограничения; база DGV на данный момент (21-08-2023) содержит информацию о более 7 млн. вариаций, выявленных у условно здоровых индивидов, но больше не обновляется; в базе DECIPHER представлены варианты всех

интерпретационных категорий, включая доброкачественные, но часто без классификации или с классификацией автора, добавляющего информацию о пациенте; клиническая картина у пациентов DECIPHER описана скудно или совсем не представлена;

2) необходимость создания собственных внутрилабораторных баз данных; если одна и та же CNV, затрагивающая патогенетически значимый ген, встречается три и более раза во внутрилабораторной выборке, а тем более, у нескольких пациентов на одном микрочипе или на нескольких микрочипах из одной партии, вероятно, имеет место популяционный полиморфизм или технический артефакт, соответственно;

3) сложность сравнения CNV пробанда с опубликованными CNV в том же регионе из-за неопределенности точек разрывов, возникающей в результате использования различных технологий и микроматриц;

4) неизвестность местоположения и ориентации дупликации. Показано, что лишь 78-83% дупликаций тандемные и прямые [49, 50]. В отличие от тандемных дупликаций, затрагивающих весь ген или любой его конец, тандемные внутригенные дупликации, вероятно, будут изменять продукт гена. Дупликация интерпретируется как патогенная, если лежит в основе механизма известного заболевания. Например, внутригенная дупликация *DMD* является хорошо описанным механизмом развития дистрофинопатий [51, 52];

5) если делеция выявлена методом, не дающим точной локализации точек разрывов (например, aCGH), то сложно предсказать ее влияние на рамку считывания и нонсенс-опосредованный распад мРНК (nonsense-mediated decay, NMD), а, следовательно, проблематично предположить механизм заболевания.

Для интерпретации патогенетической значимости моногенных CNV, выявленных с помощью aCGH, с учетом рекомендаций, опубликованных Американской коллегией по медицинской генетике и геномике [21], предлагается использование алгоритма, изложенного в Приложении 3. Поясним некоторые пункты, представленные в таблице. При работе с базой DGV принято считать, что анализируемая CNV с большей вероятностью является доброкачественной, если регион перекрывается на 50% и более с представленными однонаправленными по копияности вариантами в трех и более сообщениях в DGV [53]. При использовании базы DECIPHER стоит принимать во внимание информацию о том, обнаружена ли анализируемая CNV у пациентов со схожей клинической картиной, сколько таких пациентов и каков размер перекрывающегося региона. Сравнение

не всегда будет корректным, если анализируемая CNV затрагивает один ген, а регион в DECIPHER – несколько. Необходимо помнить об ограничениях базы DECIPHER: могут встречаться доброкачественные варианты, не все варианты классифицированы, не всегда описана клиническая картина у пациента. В базе DECIPHER представлена информация о том, является ли ген гаплонедостаточным или триплочувствительным. Однозначный положительный ответ на все пункты в той или иной ячейке таблицы не является обязательным. Решение о классификации CNV может быть принято, даже если 1-2 характеристики не удовлетворяют классификационной группе. Вместе с тем, стоит обратить внимание, что информация о происхождении моногенной CNV (*de novo* или унаследованный вариант) является одной из основополагающей для ее клинической интерпретации. Описанные в **Приложении 3** характеристика и классификация моногенных CNV на данный момент являются полными, но не окончательными. При появлении новых сведений алгоритм интерпретации может уточняться.

Особенности интерпретации CNV на X хромосоме

При классификации CNV, локализованных на X хромосоме, необходимо учитывать несколько факторов:

1. Особенность сегрегации CNV (в случае унаследованных вариантов). У пациентов мужского пола вариант всегда будет наследоваться от матери, тогда как у девочки X хромосома с CNV может передаваться как от матери, так и от отца.

2. За исключением псевдоаутосомных регионов, структурная перестройка на X хромосоме у пациента мужского пола всегда находится в гемизиготном состоянии, а в случае микроделеции у пациента будет наблюдаться нуллисомия.

3. У пациентов мужского пола чаще наблюдаются более тяжелые клинические проявления CNV на X хромосоме, чем у женщин, у которых CNV может либо проявляться в более мягкой форме, либо не проявляться совсем.

4. Часто проявление клинических признаков CNV у женщин зависит от характера инактивации X хромосомы. Поэтому анализ статуса инактивации необходим для любой носительницы CNV на X хромосоме: облигатной либо больной. Это особенно актуально в случае идентификации у пациента CNV с неясной клинической значимостью. Если у матери пациента мужского пола будет выявлена асимметричная инактивация X хромосомы (skewed X chromosome inactivation, sXCI), то это будет являться свидетельством патогенности перестройки. В случае анализа X-инактивации в паре «здоровая мать – пораженная дочь» патогенными могут считаться варианты:

- Мать имеет асимметричную X-инактивацию, а у дочери выявляется равновероятная инактивация (у матери инактивируется X хромосома с патогенетически значимым вариантом)
- Мать имеет равновероятную инактивацию, тогда как у дочери выявляется асимметричная инактивация X хромосомы (у дочери инактивируется X хромосома дикого типа).

Все CNV, локализованные на X хромосоме, необходимо анализировать с помощью баз данных – DGV (Database of Genomic Variants), OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man), DECIPHER (v11.12: Mapping the clinical genome), PubMed NCBI, а также отдельных публикаций.

Адекватная интерпретация клинической значимости микродупликаций на X хромосоме не всегда однозначна. Локализация в области дупликации генов, ассоциированных с X-сцепленной умственной отста-

Таблица 8. Микродупликации на X хромосоме с неизвестной клинической значимостью или доброкачественные

Table 8. Benign or unknown clinical significance microduplications on the X chromosome

Регион X хромосомы	Результаты XMA по ISCN 2020 [38]]	Гены в перестройке	Пол	Инактивация X хромосомы у матери
dupXp22.3	arr[GRCh38] Xp22.31(6634671_8147112)×2	<i>PUDP, STS, VCX, PNPLA4, MIR4767, MIR651</i>	муж	
dupXp11.4	arr[GRCh38] Xp11.4(38632286_38688697)×2	<i>TSPAN7</i>	муж	Равновероятная
dupXq28	arr[GRCh38] Xq28(149569657_149646971)×2	<i>MAGEA11, MAGEA9B, MAGEA9, LINC00850, LINC00894, MAGEA8, MAGEA8-AS1, HSFX2, HSFX1, HSFX4, MIR2114, TNEM185A, CXorf40B, CXorf40A</i>	муж	Равновероятная

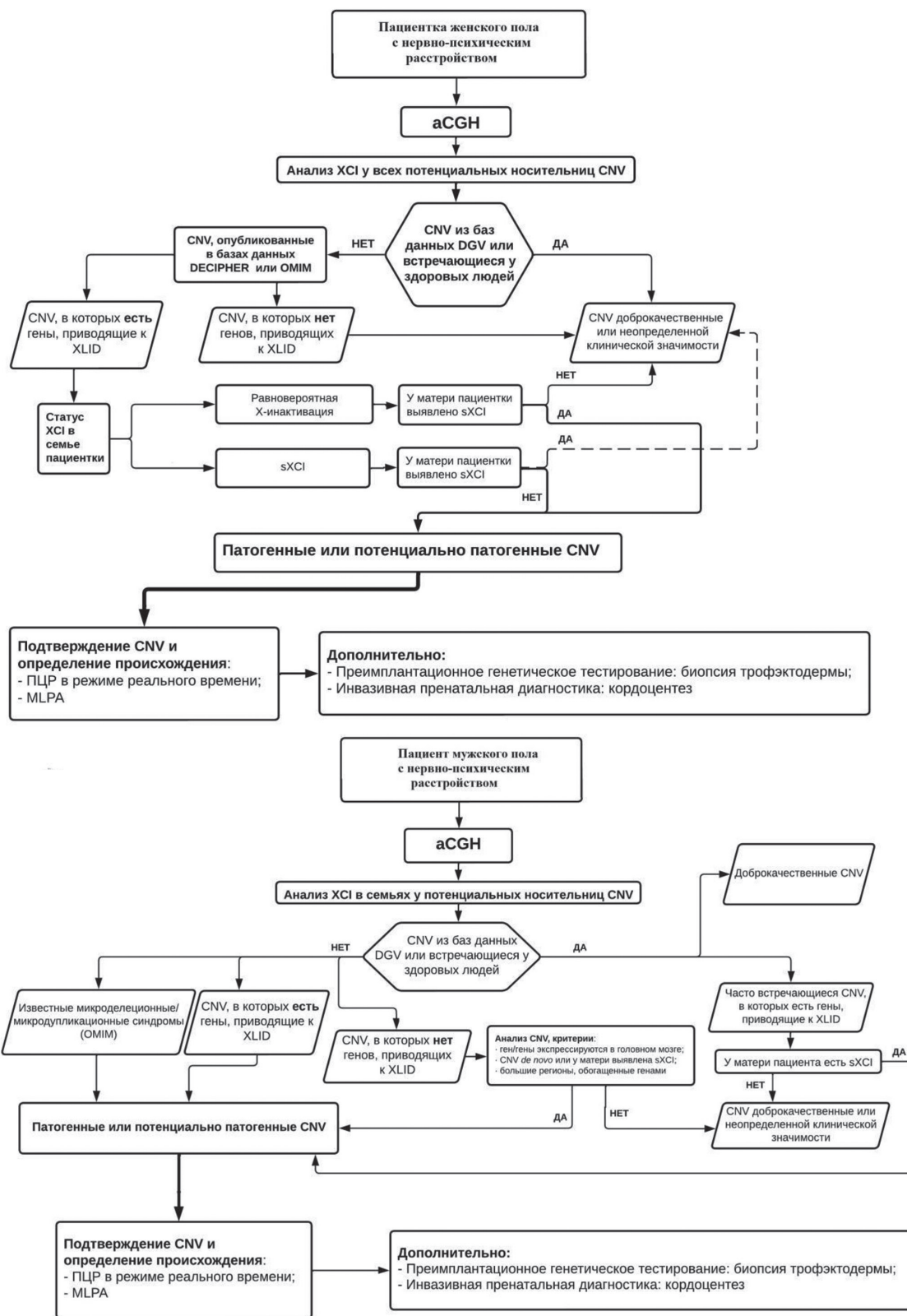


Рисунок 2. Алгоритм диагностики при наличии X-сцепленных CNV
Figure 2. Diagnostic algorithm for CNVs on the X chromosome).

лостью, не всегда означает, что дупликация является патогенетически значимой. Некоторые примеры микродупликаций, интерпретация клинической значимости которых до настоящего времени остается проблематичной, приведены в табл. 8.

Алгоритм диагностики CNV, локализованных на X хромосоме, для пациентов женского и мужского пола (на примере нервно-психических расстройств) приведен на рис. 2.

Интерпретация CNV в пренатальной диагностике

Обязательным условием при проведении ХМА в ПД является необходимость медико-генетического консультирования до и после выполнения исследования с разъяснением преимуществ и ограничений метода, а также интерпретацией полученных данных. Консультирование до проведения ХМА должно включать информацию о таких возможных результатах как обнаружение у плода CNV неопределенной клинической значимости, CNV, ассоциированных с заболеваниями с поздней манифестацией (например, дупликация 17p12 при болезни Шарко-Мари-Тута IA типа), выявление ложного отцовства и кровного родства при использовании микроматриц с возможностью SNP-анализа.

При проведении пренатальной диагностики с использованием ХМА могут быть выявлены CNV всех возможных вариантов – от «доброкачественных» до «патогенных». Наличие у пациента CNV неизвестного клинического значения является достаточно серьезной проблемой при проведении всех видов диагностики методом ХМА, но при ИПД эта проблема стоит наиболее остро и не имеет однозначного решения. Частота выявления вариантов VOUS зависит от используемой микроматрицы (как правило, чем выше разрешающая способность, тем выше вероятность выявления таких вариантов) и от используемых критериев оценки CNV. По данным литературы, в среднем варианты неизвестного клинического значения могут быть выявлены у 1-3% плодов. Во многих случаях оценить значимость выявленного варианта можно, проведя дополнительное обследование родителей, но это может быть связано с дополнительными финансовыми и временными затратами. Кроме того, факт вариабельности экспрессии и неполной пенетрантности отдельных генов, локализованных в CNV, определяет невозможность их достоверной интерпретации. **В конечном итоге, в заключение рекомендуется выносить только патогенные хромосомные варианты с доказанной клинической значимостью.**

Раздел 6. Заключение о результатах молекулярного кариотипирования

Заключение должно быть составлено с расчетом на то, что оно будет прочитано и интерпретировано врачом-генетиком. Об этом делается обязательная соответствующая запись в конце заключения:

«Результат может быть интерпретирован правильно только врачом-генетиком».

Заключение должно включать:

– Демографические данные пациента, как и в других, например, цитогенетических отчетах (ФИО, дата рождения).

– Дату проведения исследования и дату интерпретации результатов исследования

– Действующую версию номенклатуры ISCN, используемую для записи результатов ХМА.

– Геномные координаты с указанием версии сборки генома и размер CNV с информацией о содержании генов в составе CNV. Сведения о количестве известных генов, а также указание на наличие клинически значимых генов (например, индексированных в OMIM, Morbid Map Genes) должны быть включены в заключение.

– Доброкачественные и вероятно доброкачественные CNV не рекомендуется включать в итоговое заключение.

– Варианты неясного клинического значения могут быть указаны в заключении с информацией об их текущем статусе. Следует рассматривать возможность указания на необходимость реанализа данных для вариантов неясного клинического значения, а также для вероятно патогенных вариантов, поскольку их статус со временем, с накоплением научных и медицинских данных, может измениться. Необходимость и периодичность такого реанализа устанавливается лабораторией на основе экспертного мнения.

– При наличии делеции или нарушении структуры генов, ассоциированных с известными аутосомно-рецессивными заболеваниями, следует сообщать о таких вариантах и рекомендовать проведение секвенирования второго интактного аллеля.

– При использовании микроматрицы, включающей возможность SNP-анализа, в заключении должны быть отражены следующие сведения для регионов отсутствия (потери) гетерозиготности (Absence Of Heterozygosity/Loss Of Heterozygosity – АОН/ЛОН или Regions of Homozygosity, ROH):

Множественные геномные участки АОН/РОН на разных хромосомах, обусловленные кровным родством:

Лаборатория должна установить критерии для включения областей АОН/РОН в Заключение (например, доля гомозиготного аутосомного генома $\geq 2-3\%$, в случае пренатальной диагностики $> 5\%$), а также минимальный порог по размеру областей АОН/РОН (например, $\geq 3-5$ млн.п.н.) [22].

Хромосомы с участками АОН/РОН часто встречаются у нормальных здоровых индивидуумов и, как правило, связаны с отдаленным в определенной степени родительским кровным родством или происхождением от изолированной популяции. Этот результат не является диагнозом, но повышает вероятность рецессивного заболевания из-за гомозиготной мутации в области АОН/РОН.

АОН/РОН на одной хромосоме при отсутствии кровного родства:

Лаборатория должна установить минимальный размер АОН/РОН на хромосоме, о которой известно, что она ассоциирована с болезнями импринтинга (хромосомы 6, 7, 11, 14, 15 и 20) – обычно более 8-10 млн.п.н. При подозрении на однородительскую дисомию хромосом (ОРД) следует указать на необходимость проведения стандартного молекулярного тестирования на ОРД (например, анализ полиморфных ДНК-маркеров (STR) у пробанда и родителей/исследование метилирования), если клинические признаки у пациента согласуются с таковыми при соответствующих болезнях импринтинга

– При необходимости, в заключении могут быть сформулированы последующие рекомендации, касающиеся дополнительных исследований по верификации, определению происхождения и структуры патогенных CNV.

– Информацию об ограничениях молекулярно-цитогенетической диагностики с использованием микрочипов, например, уровень выявляемого мозаицизма, невозможность детекции сбалансированных перестроек хромосом и т. д.

АОН/РОН, затрагивающие участки геномного импринтинга:

Целесообразно отмечать наличие или отсутствие АОН/РОН, затрагивающих участки геномного импринтинга (в частности, 11p15.5p15.4, 15q11.2), поскольку они ассоциированы с болезнями развития центральной нервной системы, а также атипичными формами синдромов Беквита-Видеманна, Ангельмана и Прадера-Вилли [54, 55].

Некоторые образцы заключений представлены в **Приложении 4**. Основные принципы международной цитогеномной номенклатуры, ISCN 2020 [38], в отношении записи результатов хромосомного микроматричного анализа, изложены в **Приложении 5**.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю признательность и благодарность всем коллегам, принявшим активное участие в обсуждении настоящих рекомендаций, внесших ценные предложения и комментарии – Баркову И.Ю. (НМИЦ акушерства гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова, г. Москва), Куринной О.С. (РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, НИКИ педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева, г. Москва, Научный центр психического здоровья, г. Москва), Скрябину Н.А., Лопаткиной М.Е., Беляевой Е.О. (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, г. Томск), Канивцу И.В. (Медико-генетический центр «Геномед», г. Москва), Масленникову А.Б. (ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 1», г. Новосибирск), Васину К.С. (Научный центр психического здоровья, г. Москва, ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, НИКИ педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева, г. Москва), Харченко Т.В. (Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург), Демиковой Н.С. (Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, г. Москва), Рубцову Н.Б. (ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН», г. Новосибирск), Ижевской В.Л. (Председатель РОМГ, Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова, г. Москва), а также Ворсановой С.Г. (Научный центр психического здоровья, г. Москва, РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, НИКИ педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева, г. Москва).

Литература

1. 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;86(5):749-764.
2. Bi W., Borgan C., Pursley A. et al. Comparison of chromosome analysis and chromosomal microarray analysis: what is the value of chromosomal analysis in today's genomic array era? *Genetics in Medicine.* 2013;15:450-457.
3. Kallioniemi A., Kallioniemi O.P., Sudar D. et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science.* 1992;258(5083):818-821.
4. Vermeesch J.R., Melotte C., Froyen G. et al. Molecular karyotyping: Array CGH quality criteria for constitutional genetic diagnosis. *J Histochem Cytochem.* 2005;53(3):413-422.
5. Bélanger S.A., Caron J. Evaluation of the child with global developmental delay and intellectual disability. *Pediatr. Child Heal.* 2018;23(6):403-410.

6. Jang W., Kim Y., Han E. et al. Chromosomal microarray analysis as a first-tier clinical diagnostic test in patients with developmental delay/intellectual disability, autism spectrum disorders, and multiple congenital anomalies: a prospective multicenter study in Korea. *Ann Lab Med.* 2019;39(3):299-310.
7. Koolen D.A., de Vries B.B.A. Newly recognized mental retardation microdeletion/duplication syndromes. *Monogr Hum Genet. Basel, Karger,* 2010;18:101-113.
8. Vissers E.L.M.L., Stankiewicz P. Microdeletion and microduplication syndromes. Lars Feuk (ed.). *Genomic Structural Variants: Methods and Protocols. Methods Mol Biol.* 2012;238:29-75.
9. Nevado J., Mergener R., Palomares-Bralo M. et al. New microdeletion and microduplication syndromes: A comprehensive review. *Genet Mol Biol.* 2014;37(1 suppl):210-219.
10. Goldenberg P. An update on common chromosome microdeletion and microduplication syndromes. *Pediatr Ann.* 2018;47(5):e198-e203.
11. Manning M., Hudgins L., Professional Practice and Guidelines Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med.* 2010;12(11):742-745.
12. Kearney H.M., South S.T., Wolff D.J. et al., American College of Medical Genetics recommendations for the design and performance expectations for clinical genomic copy number microarrays intended for use in the postnatal setting for detection of constitutional abnormalities. *Genet Med.* 2011;13(7):676-679.
13. Kearney H.M., Thorland E.C., Brown K.K. et al. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med.* 2011;13(7):680-685.
14. Hastings R., Howell R., Bricarelli F.D. et al. Specific constitutional cytogenetic guidelines. A common European framework for quality assessment for constitutional, acquired and molecular cytogenetic investigations. *European Cytogeneticists Association Newsletter.* No 30. Jul 2012: 11-19.
15. South S.T., Lee C., Lamb A.N. et al. ACMG Standards and Guidelines for constitutional cytogenomic microarray analysis, including postnatal and prenatal applications: revision 2013. *Genet Med.* 2013;15(11):901-909.
16. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 446: Array comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol.* 2009;114(5):1161-1163.
17. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No 581: The use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol.* 2013;122(6):1374-1377.
18. Committee on Genetics and the Society for Maternal-Fetal Medicine. Committee Opinion No 682: Microarrays and next-generation sequencing technology: the use of advanced genetic diagnostic tools in obstetrics and gynecology. *Obstet Gynecol.* 2016;128(6):e262-e268.
19. Silva M., de Leeuw N., Mann K. et al. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *Eur J Hum Genet.* 2019;27(1):1-16.
20. 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;22(2):245-257.
21. 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;22(2):336-344.
22. Gonzales P.R., Andersen E.F., Brown T.R. et al. Interpretation and reporting of large regions of homozygosity and suspected consanguinity/uniparental disomy, 2021 revision: A technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet. Med.* 2022;24(2):255-261.
23. Deans Z.C., Ahn J.W., Carreira I.M. et al. Recommendations for reporting results of diagnostic genomic testing. *Eur J Hum Genet.* 2022;30(9):1011-1016.
24. Levy B., Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis. *Fertil Steril.* 2018;109(2):201-212.
25. Wapner R.J., Martin C.L., Levy B. et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med.* 2012;367(23):2175-2184.
26. 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; 32(10):976-985.
27. Srebnik M.I., Diderich K.E., Joosten M. et al. Prenatal SNP array testing in 1000 fetuses with ultrasound anomalies: causative, unexpected and susceptibility CNVs. *Eur J Hum Genet.* 2016; 24(5):645-651.
28. Donnelly J.C., Platt L.D., Rebarber A. et al. Association of copy number variants with specific ultrasonographically detected fetal anomalies. *Obstet Gynecol.* 2014;124(1):83-90.
29. Greenbaum L., Maya I., Sagi-Dain L. et al. Chromosomal microarray analysis in pregnancies with corpus callosum and posterior fossa anomalies. *Neurol Genet.* 2021;7(3):e585.
30. Hilger A.C., Dworschak G.C., Reutter H.M. Lessons learned from CNV analysis of major birth defects. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(21):8247.
31. Mastromoro G., Guadagnolo D., Khaleghi Hashemian N. et al. Molecular approaches in fetal malformations, dynamic anomalies and soft markers: diagnostic rates and challenges – systematic review of the literature and meta-analysis. *Diagnostics (Basel).* 2022;12(3):575.
32. Lebedev I.N., Karamysheva T.V., Elisaphenko E.A. et al. Prenatal diagnosis of small supernumerary marker chromosome 10 by array-based comparative genomic hybridization and microdissected chromosome sequencing. *Biomedicines.* 2021;9(8):1030.
33. 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 series of pregnancy losses. *Mol Genet Genomic Med.* 2023;11(8):e2181.
34. Handyside A.H., Harton G.L., Mariani B. et al. Karyomapping: a universal method for genome wide analysis of genetic diseases based on mapping crossovers between parental haplotypes. *J Med Genet.* 2010;47(10):651-8.
35. Zamani Esteki M., Dimitriadou E., Mateiu L. et al. Concurrent whole-genome haplotyping and copy-number profiling of single cells. *Am J Hum Genet.* 2015;96(6):894-912.
36. Stuppia L., Antonucci I., Palka G., Gatta V. Use of the MLPA assay in the molecular diagnosis of gene copy number alterations in human genetic diseases. *Int J Mol Sci.* 2012;13(3):3245-76.
37. Кашеварова А.А., Лопаткина М.Е., Беляева Е.О. и др. Распространенность и спектр моногенных CNV у пациентов с нарушениями интеллектуального развития. *Медицинская генетика.* 2021;20(10):44-46.
38. An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2020) Ed. McGovan-Jordan J., Hastings R.J., Moore S. Karger. 2020. Reprint from *Cytogenet Genome Res.* 2020;160:341-503.
39. Scott S.A., Cohen N., Brandt T. et al. Detection of low-level mosaicism and placental mosaicism by oligonucleotide array comparative genomic hybridization. *Genet Med.* 2010;12(2):85-92.

40. Pham J., Shaw C., Pursley A. et al. Somatic mosaicism detected by exon-targeted, high-resolution aCGH in 10,362 consecutive cases. *Eur J Hum Genet.* 2014;22(8):969-978.
41. Happe S., Shen X., Truong N., Maran V., Agilent Technologies, Inc. High-Performance aberration detection from low DNA input and mosaic samples with the Agilent SureTag Labeling Kit and CGH Microarray. <https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-low-dna-input-mosaic-samples-surtag-cgh-microarrays-5994-2722en-agilent.pdf?elqTrackId=58f21e7c88344aa2829f4bf886ca3a94&elqaid=4951&elqat=2>
42. Nurk S., Koren S., Rhie A. et al. A complete sequence of a human genome. *Science.* 2022;376(6588):44-53.
43. Collins R.L., Glessner J.T., Porcu E. et al. A cross-disorder dosage sensitivity map of the human genome. *Cell.* 2022;185(16):3041-3055.e25.
44. Adam M.P., Justice A.N., Schelley S. et al. Clinical utility of array comparative genomic hybridization: uncovering tumor susceptibility in individuals with developmental delay. *J Pediatr.* 2009;154(1):143-146.
45. Vogt P.H. Genomic heterogeneity and instability of the AZF locus on the human Y chromosome. *Mol Cell Endocrinol.* 2004;224(1-2):1-9.
46. Boone P.M., Soens Z.T., Campbell I.M. et al. Incidental copy-number variants identified by routine genome testing in a clinical population. *Genet Med.* 2013;15(1):45-54.
47. Kalia S.S., Adelman K., Bale S.J. et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2017;19(2):249-255.
48. Richards S., Aziz N., Bale S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation on the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-424.
49. Newman S., Hermetz K.E., Weckselblatt 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;96:208-220.
50. Richardson M.E., Chong H., Mu W. et al. DNA breakpoint assay reveals a majority of gross duplications occur in tandem reducing VUS classifications in breast cancer predisposition genes. *Genet Med.* 2018;21:683-693.
51. MacDonald J.R., Ziman R., Yuen R.K. et al. The database of genomic variants: a curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(D1):D986-92.
52. Juan-Mateau J., Gonzalez-Quereda L., Rodriguez M.J. et al. DMD mutations in 576 dystrophinopathy families: a step forward in genotype-phenotype correlations. *PLoS One.* 2015;10:e0135189.
53. Gijsbers A.C., Schoumans J., Ruivenkamp . Interpretation of array comparative genome hybridization data: a major challenge. *Cytogenet Genome Res.* 2011;135(3-4):222-227.
54. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Korostelev S.A. et al. Long contiguous stretches of homozygosity spanning shortly the imprinted loci are associated with intellectual disability, autism and/or epilepsy. *Mol Cytogenet.* 2015;8:77.
55. Kurinnaia O.S., Vasin K.S., Zelenova M.A. et al. Outcomes of ROHs (runs of homozygosity)/LCSHs (long contiguous stretches of homozygosity) spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15 among children with neurodevelopmental disorders. *Res Results Biomed.* 2023;9(3):312-321.
56. Шилова Н.В., Миньженкова М.Е. Интерпретация клинически значимых вариаций числа копий ДНК. *Медицинская генетика.* 2018;10:40-44.
57. Миньженкова М.Е., Антоненко В.Г., Шилова Н.В. Международная система цитогеномной номенклатуры человека (ISCN 2020): Дополнения и изменения записи результатов флуоресцентной in situ гибридизации и хромосомного микроматричного анализа при конститутивных нарушениях. *Медицинская генетика.* 2023;22(4):11-16.

References

1. 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;86(5):749-764.
2. Bi W., Borgan C., Pursley A. et al. Comparison of chromosome analysis and chromosomal microarray analysis: what is the value of chromosomal analysis in today's genomic array era? *Genetics in Medicine.* 2013;15:450-457.
3. Kallioniemi A., Kallioniemi O.P., Sudar D. et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science.* 1992;258(5083):818-821.
4. Vermeesch J.R., Melotte C., Froyen G. et al. Molecular karyotyping: Array CGH quality criteria for constitutional genetic diagnosis. *J Histochem Cytochem.* 2005;53(3):413-422.
5. Bélanger S.A., Caron J. Evaluation of the child with global developmental delay and intellectual disability. *Pediatr. Child Heal.* 2018;23(6):403-410.
6. Jang W., Kim Y., Han E. et al. Chromosomal microarray analysis as a first-tier clinical diagnostic test in patients with developmental delay/intellectual disability, autism spectrum disorders, and multiple congenital anomalies: a prospective multicenter study in Korea. *Ann Lab Med.* 2019;39(3):299-310.
7. Koolen D.A., de Vries B.B.A. Newly recognized mental retardation microdeletion/duplication syndromes. *Monogr Hum Genet. Basel, Karger,* 2010;18:101-113.
8. Vissers E.L.M.L., Stankiewicz P. Microdeletion and microduplication syndromes. Lars Feuk (ed.). *Genomic Structural Variants: Methods and Protocols. Methods Mol Biol.* 2012;238:29-75.
9. Nevado J., Mergener R., Palomares-Bralo M. et al. New microdeletion and microduplication syndromes: A comprehensive review. *Genet Mol Biol.* 2014;37(1 suppl):210-219.
10. Goldenberg P. An update on common chromosome microdeletion and microduplication syndromes. *Pediatr Ann.* 2018;47(5):e198-e203.
11. Manning M., Hudgins L., Professional Practice and Guidelines Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med.* 2010;12(11):742-745.
12. Kearney H.M., South S.T., Wolff D.J. et al., American College of Medical Genetics recommendations for the design and performance expectations for clinical genomic copy number microarrays intended for use in the postnatal setting for detection of constitutional abnormalities. *Genet Med.* 2011;13(7):676-679.
13. Kearney H.M., Thorland E.C., Brown K.K. et al. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med.* 2011;13(7):680-685.
14. Hastings R., Howell R., Bricarelli F.D. et al. Specific constitutional cytogenetic guidelines. A common European framework for quality assessment for constitutional, acquired and molecular cytogenetic investigations. *European Cytogeneticists Association Newsletter.* No 30. Jul 2012: 11-19.

15. South S.T., Lee C., Lamb A.N. et al. ACMG Standards and Guidelines for constitutional cytogenomic microarray analysis, including postnatal and prenatal applications: revision 2013. *Genet Med*. 2013;15(11):901-909.
16. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 446: Array comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol*. 2009;114(5):1161-1163.
17. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No 581: The use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol*. 2013;122(6):1374-1377.
18. Committee on Genetics and the Society for Maternal-Fetal Medicine. Committee Opinion No 682: Microarrays and next-generation sequencing technology: the use of advanced genetic diagnostic tools in obstetrics and gynecology. *Obstet Gynecol*. 2016;128(6):e262-e268.
19. Silva M., de Leeuw N., Mann K. et al. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *Eur J Hum Genet*. 2019;27(1):1-16.
20. 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;22(2):245-257.
21. 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;22(2):336-344.
22. Gonzales P.R., Andersen E.F., Brown T.R. et al. Interpretation and reporting of large regions of homozygosity and suspected consanguinity/uniparental disomy, 2021 revision: A technical standard of the American Colleague of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet. Med*. 2022;24(2):255-261.
23. Deans Z.C., Ahn J.W., Carreira I.M. et al. Recommendations for reporting results of diagnostic genomic testing. *Eur J Hum Genet*. 2022;30(9):1011-1016.
24. Levy B., Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis. *Fertil Steril*. 2018;109(2):201-212.
25. Wapner R.J., Martin C.L., Levy B. et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med*. 2012;367(23):2175-2184.
26. 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; 32(10):976-985.
27. Srebniak M.I., Diderich K.E., Joosten M. et al. Prenatal SNP array testing in 1000 fetuses with ultrasound anomalies: causative, unexpected and susceptibility CNVs. *Eur J Hum Genet*. 2016; 24(5):645-651.
28. Donnelly J.C., Platt L.D., Rebarber A. et al. Association of copy number variants with specific ultrasonographically detected fetal anomalies. *Obstet Gynecol*. 2014;124(1):83-90.
29. Greenbaum L., Maya I., Sagi-Dain L. et al. Chromosomal microarray analysis in pregnancies with corpus callosum and posterior fossa anomalies. *Neurol Genet*. 2021;7(3):e585.
30. Hilger A.C., Dworschak G.C., Reutter H.M. Lessons learned from CNV analysis of major birth defects. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):8247.
31. Mastromoro G., Guadagnolo D., Khaleghi Hashemian N. et al. Molecular approaches in fetal malformations, dynamic anomalies and soft markers: diagnostic rates and challenges – systematic review of the literature and meta-analysis. *Diagnostics (Basel)*. 2022;12(3):575.
32. Lebedev I.N., Karamysheva T.V., Elisaphenko E.A. et al. Prenatal diagnosis of small supernumerary marker chromosome 10 by array-based comparative genomic hybridization and microdissected chromosome sequencing. *Biomedicines*. 2021;9(8):1030.
33. 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 series of pregnancy losses. *Mol Genet Genomic Med*. 2023;11(8):e2181.
34. Handyside A.H., Harton G.L., Mariani B. et al. Karyomapping: a universal method for genome wide analysis of genetic diseases based on mapping crossovers between parental haplotypes. *J Med Genet*. 2010;47(10):651-8.
35. Zamani Esteki M., Dimitriadou E., Mateiu L. et al. Concurrent whole-genome haplotyping and copy-number profiling of single cells. *Am J Hum Genet*. 2015;96(6):894-912.
36. Stuppia L., Antonucci I., Palka G., Gatta V. Use of the MLPA assay in the molecular diagnosis of gene copy number alterations in human genetic diseases. *Int J Mol Sci*. 2012;13(3):3245-76.
37. Kashevarova A.A., Lopatkina M.E., Belyaeva E.O., et al. Rasprostranennost' i spektr monogennykh CNV u patsiyentov s narusheniyami intellektual'nogo razvitiya [Prevalence and spectrum of single-gene CNVs in patients with intellectual disability]. *Meditsinskaya genetika [Medical Genetics]*. 2021;20(10):44-46. (In Russ.)
38. An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2020) Ed. McGovan-Jordan J., Hastings R.J., Moore S. Karger. 2020. Reprint from *Cytogenet Genome Res*. 2020;160:341-503.
39. Scott S.A., Cohen N., Brandt T. et al. Detection of low-level mosaicism and placental mosaicism by oligonucleotide array comparative genomic hybridization. *Genet Med*. 2010;12(2):85-92.
40. Pham J., Shaw C., Pursley A. et al. Somatic mosaicism detected by exon-targeted, high-resolution aCGH in 10,362 consecutive cases. *Eur J Hum Genet*. 2014;22(8):969-978.
41. Happe S., Shen X., Truong N., Maran V., Agilent Technologies, Inc. High-Performance aberration detection from low DNA input and mosaic samples with the Agilent SureTag Labeling Kit and CGH Microarray. <https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-low-dna-input-mosaic-samples-surtag-cgh-microarrays-5994-2722en-agilent.pdf?elqTrackId=58f21e7c88344aa2829f4bf886ca3a94&elqaid=4951&elqat=2>
42. Nurk S., Koren S., Rhie A. et al. A complete sequence of a human genome. *Science*. 2022;376(6588):44-53.
43. Collins R.L., Glessner J.T., Porcu E. et al. A cross-disorder dosage sensitivity map of the human genome. *Cell*. 2022;185(16):3041-3055.e25.
44. Adam M.P., Justice A.N., Schelley S. et al. Clinical utility of array comparative genomic hybridization: uncovering tumor susceptibility in individuals with developmental delay. *J Pediatr*. 2009;154(1):143-146.
45. Vogt P.H. Genomic heterogeneity and instability of the AZF locus on the human Y chromosome. *Mol Cell Endocrinol*. 2004;224(1-2):1-9.
46. Boone P.M., Soens Z.T., Campbell I.M. et al. Incidental copy-number variants identified by routine genome testing in a clinical population. *Genet Med*. 2013;15(1):45-54.
47. Kalia S.S., Adelman K., Bale S.J. et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med*. 2017;19(2):249-255.
48. Richards S., Aziz N., Bale S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation on the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-424.
49. Newman S., Hermetz K.E., Weckselblatt 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;96:208–220.
50. Richardson M.E., Chong H., Mu W. et al. DNA breakpoint assay reveals a majority of gross duplications occur in tandem reducing VUS classifications in breast cancer predisposition genes. *Genet Med*. 2018;21:683–693.

51. MacDonald J.R., Ziman R., Yuen R.K. et al. The database of genomic variants: a curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(D1):D986–92.
52. Juan-Mateau J., Gonzalez-Quereda L., Rodriguez M.J. et al. DMD mutations in 576 dystrophinopathy families: a step forward in genotype-phenotype correlations. *PLoS One.* 2015;10:e0135189.
53. Gijsbers A.C., Schoumans J., Ruivenkamp .. Interpretation of array comparative genome hybridization data: a major challenge. *Cytogenet Genome Res.* 2011;135(3-4):222-227.
54. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Korostelev S.A. et al. Long contiguous stretches of homozygosity spanning shortly the imprinted loci are associated with intellectual disability, autism and/or epilepsy. *Mol Cytogenet.* 2015;8:77.
55. Kurinnaia O.S., Vasin K.S., Zelenova M.A. et al. Outcomes of ROHs (runs of homozygosity)/LCSHs (long contiguous stretches of homozygosity) spanning the imprinted loci of chromosomes 7, 11 and 15 among children with neurodevelopmental disorders. *Res Results Biomed.* 2023;9(3):312-321.
56. Shilova N.V., Minzhenkova M.E. Interpretatsiya klinicheski znachimykh variatsiy chisla kopiy DNK [Interpretation of pathogenic copy number variations]. *Meditsinskaya genetika [Medical Genetics].* 2018;17(10):15-19. (In Russ.).
57. Minzhenkova M.E., Antonenko V.G., Shilova N.V. Mezhdunarodnaya sistema tsitogenomnoy nomenklatury cheloveka (ISCN 2020): Dopolneniya i izmeneniya zapisi rezul'tatov fluorestsentnoy in situ gibrizatsii i khromosomnogo mikromatrichnogo analiza pri konstitutivnykh narusheniyakh [International System for Human Cytogenomic Nomenclature (ISCN 2020): Additions and modifications in recording the results of fluorescence *in situ* hybridization and chromosomal microarray analysis in constitutional cytogenetics]. *Meditsinskaya genetika [Medical Genetics].* 2023;22(4):11-16. (In Russ.).

Приложение 1. Цитогенетическая и молекулярно-цитогенетическая интерпретация клинически значимых CNV: верификация, механизмы формирования, происхождение, по [56], с дополнениями

Attachment 1. Cytogenetic and molecular cytogenetic interpretation of clinically significant CNV: verification, mechanisms of formation, origin, by [56], with additions

CNV, выявленные при ХМА	Предполагаемая хромосомная перестройка	Верификация и определение структуры CNV	Механизмы формирования хромосомного дисбаланса	Установление происхождения CNV (обследование родителей)
Двухсегментный хромосомный дисбаланс				
Терминальная делеция и терминальная дупликация негомологичных хромосом	Несбалансированная транслокация Делеция и дупликация	Кариотипирование; FISH с tel	Патологическая 2:2 мейотическая сегрегация родительской аутомсомной реципрокной транслокации по совместному-1 типу Спорадические случаи	Кариотипирование; FISH с tel
Терминальная делеция короткого плеча (p) и терминальная делеция длинного плеча (q) одной хромосомы	Кольцевая хромосома Делеция на гомологичных хромосомах	Кариотипирование; FISH с tel, PCP p/q	Унаследованная делеция совместно с <i>de novo</i> делецией Спорадические случаи	Кариотипирование; FISH с tel, PCP p/q
Терминальная делеция одного плеча и терминальная дупликация другого плеча одной хромосомы (dup p/del q, del p/dup q)	Рекомбинантная хромосома	Кариотипирование; FISH с tel, PCP p/q, MCB	Патологическая мейотическая сегрегация родительской перцентрической инверсии	Кариотипирование; FISH с PCP p/q, MCB
Терминальная делеция с интерстициальной дупликацией соседнего района в одном плече одной хромосомы (p/p, q/q)	Инvertированная дупликация с делецией (inv dup del)	FISH с tel, MCB	Спорадические случаи	Нет необходимости
Интерстициальная делеция и интерстициальная дупликация негомологичных акроцентрических хромосом	Несбалансированная транслокация	Кариотипирование; FISH с WCP	Патологическая 2:2 мейотическая сегрегация родительской аутомсомной реципрокной транслокации по совместному-2 типу	Кариотипирование; FISH с WCP

CNV, выявленные при ХМА	Предполагаемая хромосомная перестройка	Верификация и определение структуры CNV	Механизмы формирования хромосомного дисбаланса	Установление происхождения CNV (обследование родителей)
Дупликация интерстициального района и дупликация терминального района негомологичных хромосом	Несбалансированная транслокация со сверхчисленной дериватной хромосомой	Кариотипирование; FISH с tel, WCP	Патологическая 3:1 мейотическая сегрегация родительской аутомсомной реципрокной транслокации с третичной трисомией	Кариотипирование; FISH с tel, WCP
Делеция интерстициального района и делеция терминального района негомологичных хромосом	Несбалансированная транслокация с моносомией по нормальному гомологу	Кариотипирование; FISH с tel, WCP	Патологическая 3:1 мейотическая сегрегация родительской аутомсомной реципрокной транслокации с третичной моносомией	Кариотипирование; FISH с tel, WCP
Односегментный хромосомный дисбаланс				
Терминальная делеция/ терминальная дупликация	Делеция/дупликация; несбалансированная транслокация	Кариотипирование; FISH с tel	<ul style="list-style-type: none"> - Спорадические случаи; - Патологическая 2:2 мейотическая сегрегация родительской аутомсомной реципрокной транслокации по совместному-1 типу с вовлечением теломерных (гетерохроматиновых) районов хромосом - Кольцевая хромосома с точкой разрыва в районе теломерных повторов одного плеча 	Кариотипирование; FISH с tel для установления (исключения) носительства сбалансированной ХА
Интерстициальная делеция / интерстициальная дупликация	Делеция/дупликация; сверхчисленная маркерная хромосома с нецентромерой; рекомбинантная хромосома; несбалансированная транслокация	Кариотипирование; FISH с LSI, PCP p/q, CEN, MCB,	<ul style="list-style-type: none"> - Спорадические случаи - Патологическая мейотическая сегрегация родительской межхромосомной и внутрехромосомной инсерции - Патологическая 2:2 мейотическая сегрегация родительской аутомсомной реципрокной транслокации по совместному-1 типу с вовлечением прицентромерных гетерохроматиновых) районов акроцентрических хромосом 	
Трипликация	Трипликация; сверхчисленная маркерная хромосома (inv dup с эухроматином, изохромосома)	Кариотипирование; FISH с LSI, PCP p/q, MCB	Спорадические случаи	

Примечание: tel – ДНК-зонды на субтеломерные районы хромосом; PCP p/q (Partial Chromosome Paints) – ДНК-зонды на разные плечи одной хромосомы; MCB (Multicolor Banding) – многоцветный бэндинг хромосом; WCP (Whole Chromosome Paints) – цельнохромосомные ДНК-зонды; CEN – центромероспецифичные ДНК-зонды; LSI (Locus Specific Identifier) – локус-специфичные ДНК-зонды.

Приложение 2. Критерии определения патогенетической значимости хромосомных вариантов, по [20]

Attachment 2. Criteria for determining the pathogenetic significance of chromosomal variants, by [20]

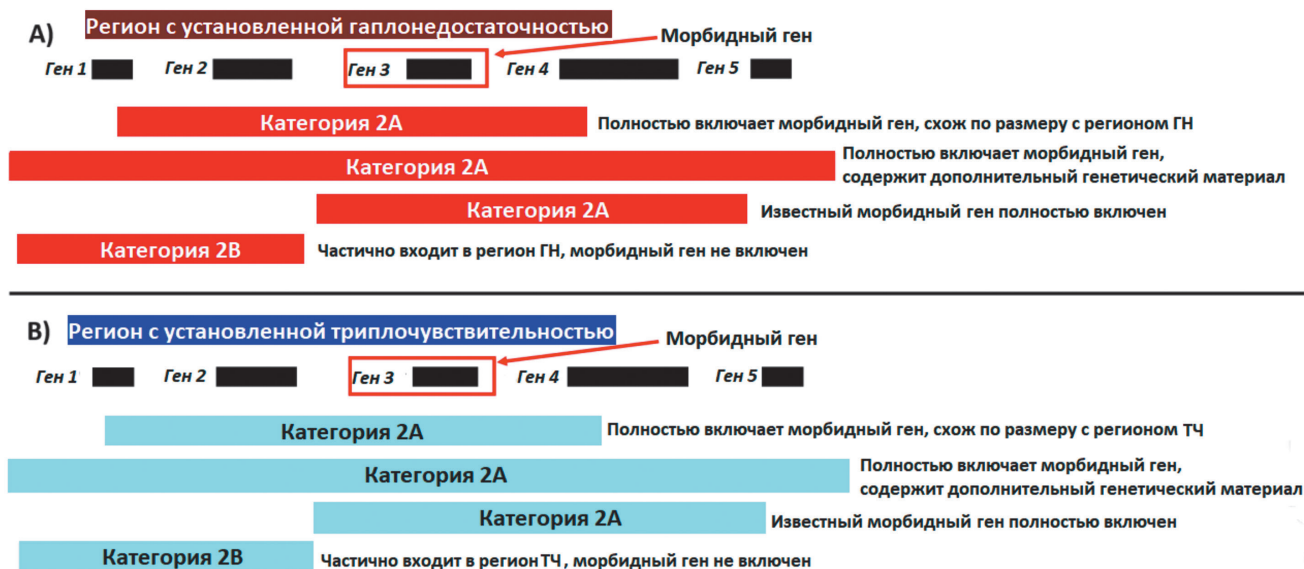


Рисунок 2.1. Иллюстрация метрик категории 2А-2В для вариантов с уменьшением и увеличением числа копий (анализируемые CNV пересекаются с установленным регионом гаплонедастачности (ГН) / триплочувствительности (ТЧ), каузативный ген / критический регион известен). Красным цветом обозначен регион с делецией, синим – регион с дупликацией.



Рисунок 2.2. Иллюстрация метрик категории 2А-2В для вариантов с уменьшением и увеличением числа копий (анализируемые CNV пересекаются с установленным регионом гаплонедастачности (ГН) / триплочувствительности (ТЧ), каузативный ген / критический регион НЕ известен). Красным цветом обозначен регион с делецией, синим – регион с дупликацией.

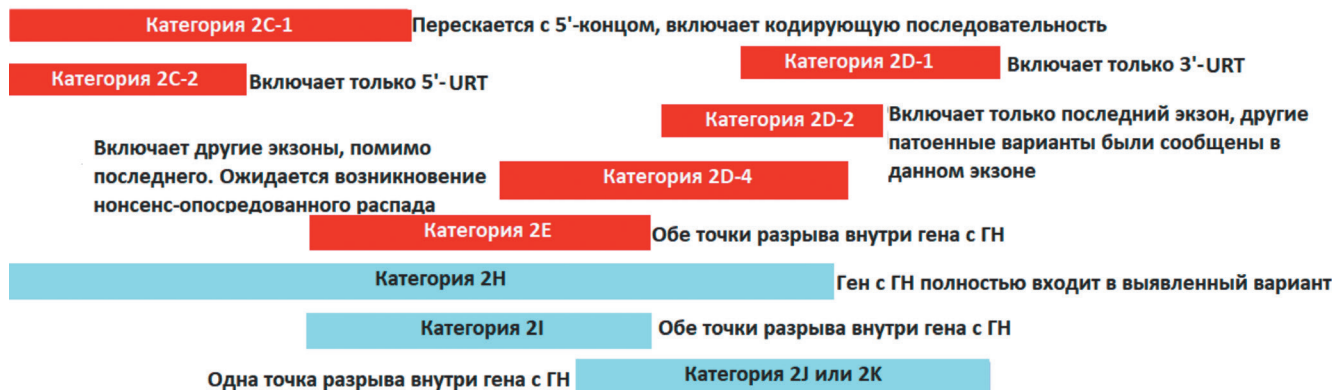
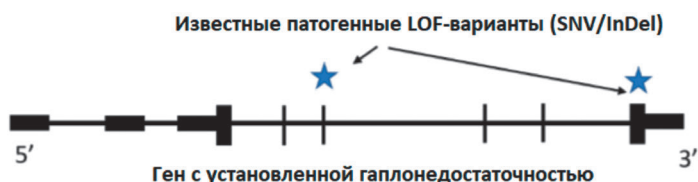


Рисунок 2.3. Иллюстрация метрик категории 2C-2E (для вариантов с уменьшением количества копий) и 2H-2K (для вариантов с увеличением количества копий) (анализируемые CNV пересекаются с геном с установленной гаплонедастаточностью (ГН). Красным цветом обозначен регион с делецией, синим – регион с дупликацией.



Рисунок 2.4. Иллюстрация метрик категории 2F-2G (для вариантов с уменьшением количества копий) и 2C-2G (для вариантов с увеличением количества копий) (анализируемые CNV пересекаются с регионом с доброкачественной клинической значимостью. Красным цветом обозначен регион с делецией, синим – регион с дупликацией.

Приложение 3. Алгоритм клинической интерпретации моногенных CNV, выявленных с помощью aCGH**Attachment 3.** Algorithm for the clinical interpretation of single-gene CNV, identified by aCGH

Моногенные CNV, выявленные с помощью aCGH	Клиническая интерпретация моногенных CNV		
	Патогенный/ вероятно патогенный вариант	Вариант с неясной клинической значимостью	Доброкачественный/ вероятно доброкачественный вариант
Амплификация целого гена	<ul style="list-style-type: none"> – Дупликация не представлена в DGV* – Дупликация представлена в DECIPHER у пациентов со сходными симптомами – Ген триплочувствительный – Избыточное количество белкового продукта гена может быть/показано ассоциировано с заболеванием** – Нарушение функции гена может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Дупликация <i>de novo</i> 	<ul style="list-style-type: none"> – Дупликация может быть представлена в DGV – Дупликация представлена в DECIPHER у пациентов со сходными симптомами – Ген не является триплочувствительным – Не описана связь с заболеванием** – Нарушение функции гена может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Дупликация <i>de novo</i>/ унаследована от здорового родителя 	<ul style="list-style-type: none"> – Дупликация представлена в DGV – Дупликация может быть представлена в DECIPHER с пометкой «присутствует в популяции», классифицирована как вероятно доброкачественная – Ген не является триплочувствительным – Не описана связь с заболеванием** – Нарушение функции гена не может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Дупликация унаследована от здорового родителя
Делеция целого гена	<ul style="list-style-type: none"> – Делеция не представлена в DGV* – Делеция может быть представлена в DECIPHER – Ген гаплонедостаточный – Нарушение функции гена может быть/показано ассоциировано с заболеванием** – Основной механизм заболевания «loss-of-function» – Нарушение функции гена может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Делеция <i>de novo</i> 	<ul style="list-style-type: none"> – Делеция может быть представлена в DGV – Делеция может быть представлена в DECIPHER – Ген гаплонедостаточный – Не описана связь с заболеванием** – Нарушение функции гена может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Делеция <i>de novo</i> 	<ul style="list-style-type: none"> – Делеция представлена в DGV – Делеция может быть представлена в DECIPHER с пометкой «присутствует в популяции», классифицирована как вероятно доброкачественная – Ген не является гаплонедостаточным – Не описана связь с заболеванием** – Нарушение функции гена не может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Делеция унаследована от здорового родителя
Амплификация одного экзона гена	<ul style="list-style-type: none"> – Дупликация не представлена в DGV* – Дупликация представлена в DECIPHER у пациентов со сходными симптомами – Внутригенная локализация – Ген экспрессируется в пораженной ткани/органе – Нарушение функции гена может быть/показано ассоциировано с заболеванием** – Аналогичные внутригенные тандемные дупликации описаны у пациентов со схожими симптомами – Нарушение функции гена может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Дупликация <i>de novo</i> 	<ul style="list-style-type: none"> – Дупликация не представлена в DGV* – Дупликация представлена в DECIPHER у пациентов со сходными симптомами – Внутригенная локализация – Ген экспрессируется в пораженной ткани/органе – Не описана связь с заболеванием** – Нарушение функции гена может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Дупликация <i>de novo</i> 	<ul style="list-style-type: none"> – Дупликация представлена в DGV – Дупликация представлена в DECIPHER с пометкой «присутствует в популяции», классифицирована как вероятно доброкачественная – Внутригенная, 5'-конец (первый экзон), 3'-конец (последний экзон) локализация – Ген не экспрессируется в пораженной ткани/органе/не известно – Не описана связь с заболеванием** – Нарушение функции гена не может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Дупликация унаследована от здорового родителя

Моногенные CNV, выявленные с помощью aCGH	Клиническая интерпретация моногенных CNV		
	Патогенный/ вероятно патогенный вариант	Вариант с неясной клинической значимостью	Доброкачественный/ вероятно доброкачественный вариант
Делеция одного экзона гена	<ul style="list-style-type: none"> – Делеция не представлена в DGV* – Делеция может быть представлена в DECIPHER – Внутригенная локализация – Ген гаплонедостаточный – Нарушение функции гена может быть/показано ассоциировано с заболеванием** – Основной механизм заболевания «loss-of-function» – Нарушение функции гена может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Делеция <i>de novo</i> 	<ul style="list-style-type: none"> – Делеция может быть представлена в DGV – Делеция может быть представлена в DECIPHER – Внутригенная, 3'-конец локализация – Ген гаплонедостаточный – Не описана связь с заболеванием** – Нарушение функции гена может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Делеция <i>de novo</i>/ унаследована от здорового родителя 	<ul style="list-style-type: none"> – Делеция представлена в DGV – Делеция может быть представлена в DECIPHER с пометкой «присутствует в популяции», классифицирована как вероятно доброкачественная – Внутригенная, 3'-конец локализация – Ген не является гаплонедостаточным – Не описана связь с заболеванием** – Нарушение функции гена не может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Делеция унаследована от здорового родителя
Амплификация нескольких экзонов гена	<ul style="list-style-type: none"> – Дупликация не представлена в DGV* – Дупликация представлена в DECIPHER у пациентов со сходными симптомами – Внутригенная локализация, 3'-конец локализация с большим количеством экзонов – Ген экспрессируется в пораженной ткани/органе – Нарушение функции гена может быть/показано ассоциировано с заболеванием** – Аналогичные внутригенные тандемные дупликации описаны у пациентов – Нарушение функции гена может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Дупликация <i>de novo</i> 	<ul style="list-style-type: none"> – Дупликация не представлена в DGV* – Дупликация представлена в DECIPHER у пациентов со сходными симптомами – Внутригенная локализация – Ген экспрессируется в пораженной ткани/органе – Не описана связь с заболеванием** – Нарушение функции гена может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Дупликация <i>de novo</i>/ унаследована от здорового родителя 	<ul style="list-style-type: none"> – Дупликация представлена в DGV – Дупликация представлена в DECIPHER с пометкой «присутствует в популяции», классифицирована как вероятно доброкачественная – Внутригенная, 5'-конец, 3'-конец локализация – Ген не экспрессируется в пораженной ткани/органе/не известно – Не описана связь с заболеванием** – Нарушение функции гена не может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Дупликация унаследована от здорового родителя
Делеция нескольких экзонов гена	<ul style="list-style-type: none"> – Делеция не представлена в DGV* – Делеция может быть представлена в DECIPHER – Ген гаплонедостаточный – Нарушение функции гена может быть/показано ассоциировано с заболеванием** – Основной механизм заболевания «loss-of-function» – Делеция <i>de novo</i> 	<ul style="list-style-type: none"> – Делеция может быть представлена в DGV – Делеция может быть представлена в DECIPHER – Ген гаплонедостаточный/ – Не описана связь с заболеванием** – Ген не является гаплонедостаточным/показана ассоциация с заболеванием** – Нарушение функции гена может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Делеция <i>de novo</i>/ унаследована от здорового родителя 	<ul style="list-style-type: none"> – Делеция представлена в DGV – Делеция может быть представлена в DECIPHER с пометкой «присутствует в популяции», классифицирована как вероятно доброкачественная – Ген не является гаплонедостаточным – Не описана связь с заболеванием** – Нарушение функции гена не может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Делеция унаследована от здорового родителя

Моногенные CNV, выявленные с помощью aCGH	Клиническая интерпретация моногенных CNV		
	Патогенный/ вероятно патогенный вариант	Вариант с неясной клинической значимостью	Доброкачественный/ вероятно доброкачественный вариант
Другие варианты амплификации	-	-	– Дупликация может быть представлена в DGV* – Локализация в интроне – Нарушение функции гена не может быть ассоциировано с симптомами у пациента
Другие варианты делеции	– Делеция не представлена в DGV* – Делеция может быть представлена в DECIPHER – Делеция в известном промоторе гена – Ген гаплонедостаточный – Нарушение функции гена может быть/показано ассоциировано с заболеванием** – Основной механизм заболевания «loss-of-function» – Нарушение функции гена может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Делеция <i>de novo</i>	-	– Делеция может быть представлена в DGV* – Делеция может быть представлена в DECIPHER с пометкой «присутствует в популяции», классифицирована как вероятно доброкачественная – Делеция в интроне гена, делеция альтернативного транскрипта – Ген может быть гаплонедостаточным – Не описана связь с заболеванием** – Нарушение функции гена не может быть ассоциировано с симптомами у пациента – Делеция унаследована от здорового родителя

Примечание. * – в DGV менее трех сообщений, перекрытие менее 50% (не первостепенный критерий; в настоящее время не поддерживается); ** – базы данных, литература; другие варианты амплификации – амплификации интронов, другие варианты делеции – делеции интронов, промоторов, последовательностей альтернативных транскриптов.

Приложение 4. Образцы заключений по результатам хромосомного микроматричного анализа

Attachment 4. Examples of conclusions based on the results of chromosomal microarray analysis

4.1. Нормальный результат

Карта Номер исследования

Фамилия	
Дата рождения	

Регион

Направившее ЛПУ

Направивший врач

Метод исследования Хромосомный микроматричный анализ с использованием олигонуклеотидных микроматриц Affymetrix CytoScan HD. Разрешение 25 т.п.н

Материал	Венозная кровь с ЭДТА Дата поступления
----------	---

Направляющий диагноз Хромосомная аномалия неуточненная

Заключение:

Молекулярный кариотип (ISCN 2020): arr(X,Y)×1,(1-22)×2

Участки потери гетерозиготности, содержащие гены, связанные с феноменом импринтинга, отсутствуют.

Общая протяженность участков потери гетерозиготности, размером 3 млн. п.н. и более, соответствует популяционной (0,12%).

Дата:

Врач-лабораторный генетик.

Биолог

Зав. лабораторией

Ограничения метода: хромосомный микроматричный анализ не позволяет выявлять сбалансированные хромосомные аномалии, такие как реципрокные транслокации, Робертсоновские транслокации, инверсии, инсерции, низкоуровневый мозаицизм (менее 20%), точечные мутации, а также микроделеции/микродупликации, размером менее 25 т.п.н. В отчет не включены непатогенные микроделеции/микродупликации

Результат анализа может быть интерпретирован только врачом.

4.2. Патогенная CNV

Карта Номер исследования

Фамилия	
Дата рождения	

Регион

Направившее ЛПУ

Направивший врач

Метод исследования Хромосомный микроматричный анализ с использованием олигонуклеотидных микроматриц Affymetrix CytoScan HD. Разрешение 25 т.п.н

Материал	Венозная кровь с ЭДТА	Дата поступления
----------	-----------------------	------------------

Направляющий диагноз Эпилепсия

Заключение:

Молекулярный кариотип (ISCN 2020): arr[GRCh37] 17q12(34475680_36283612)×1

1. Обнаружена патогенная микроделеция участка длинного плеча хромосомы 17 размером 1,8 млн.п.н.

Гены, входящие в область микроделеции: *CCL3L1, CCL3L3, CCL4L1, CCL4L2, TBC1D3H, TBC1D3G, TBC1D3F, TBC1D3L, TBC1D3B, ZNHIT3, MYO19, PIGW, GGNBP2, DHRS11, MRM1, LHX1-DT, LHX1, AATF, MIR2909, ACACA, SNORA90, C17orf78, TADA2A, DUSP14, SYNRG, DDX52, MIR378J, HNF1B, YWHAEP7.*

В общепопуляционной базе данных DGV этот вариант не встречается.

В базе клинических данных DECIPHER зарегистрированы варианты с близкими координатами у пациентов с аномалиями развития мочеполовой системы, задержкой психомоторного развития, судорогами, где они классифицированы как патогенные или вероятно-патогенные варианты.

В базе данных OMIM аннотирован синдром делеции 17q12 (Chromosome 17q12 deletion syndrome; OMIM:614527), характеризующийся наличием у пациентов аномалий развития почек и мочевыводящих путей, диабетом взрослых у молодых пациентов, 5 типа (maturity-onset diabetes of the young type 5 (MODY5; OMIM:137920) и нарушением нервно-психического развития.

Мутации в гене *HNF1B* (189907) в гетерозиготном состоянии, в том числе делеции всего гена, описаны у пациентов с хроническим тубулоинтерстициальным нефритом, медленно прогрессирующей почечной недостаточностью, кистозной дисплазией почек, ранним началом диабета и внепочечными проявлениями (Renal cysts and diabetes syndrome; OMIM:137920). Мутации в гене *PIGW* (610275) в гомозиготном и компаунд-гетерозиготном состоянии описаны у пациентов с неонатальной гипотонией, задержкой психомоторного развития и судорогами (Glycosylphosphatidylinositol biosynthesis defect 11; OMIM:616025). Мутации в гене *ZNHIT3* (604500) в гомозиготном состоянии описаны у пациентов с прогрессирующей энцефалопатией с отеком, гипсаритмией и атрофией зрительного нерва (PEHO syndrome; OMIM:260565).

2. Участки потери гетерозиготности, содержащие гены, связанные с феноменом импринтинга, отсутствуют.

3. Общая протяженность участков потери гетерозиготности, размером 3 млн. п.н. и более, соответствует популяционной (0,11 %).

Рекомендуется консультация врача-генетика.

Дата:

Врач-лабораторный генетик

Биолог

Зав. лабораторией

Ограничения метода: хромосомный микроматричный анализ не позволяет выявлять сбалансированные хромосомные аномалии, такие как реципрокные транслокации, Робертсоновские транслокации, инверсии, инсерции, низкоуровневый мозаицизм (менее 20%), точечные мутации, а также микроделеции/микродупликации, размером менее 25 т.п.н. В отчет не включены непатогенные микроделеции/микродупликации

Результат анализа может быть интерпретирован только врачом-генетиком.

Патогенная CNV, инвазивная пренатальная диагностика

Молекулярно-цитогенетический анализ

ФИО пациента:

Дата рождения:

ID пациента:

Материал для исследования: кровь из пуповины плода

Дата проведения исследования:

Дата интерпретации полученных результатов с использованием баз данных и данных литературы:

Кем направлен:

Проведены исследования: матричная сравнительная геномная гибридизация на чипе SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)

Результаты aCGH-исследования:

arr[GRCh37] 1q21.1-q21.2(146564743_147786706)×1

Заключение молекулярно-цитогенетического анализа:

Выявлен патогенный вариант – частичная моносомия 1q21.1- q21.2, протяженность перестройки составляет 1,22 млн.п.н. Область перестройки полностью включает в себя регион синдрома микроделеции 1q21.1 (Chromosome 1q21.1 deletion syndrome; OMIM 612474), для пациентов с которым характерны интеллектуальные нарушения, микроцефалия, аутизм.

Рекомендована консультация врача-генетика.

Врач лабораторный генетик

Зав. клинико-диагностической лабораторией

Метод полногеномной диагностики микроделеционных / микродупликационных синдромов и хромосомных аномалий на ДНК-микрочипах (Array Comparative Genomic Hybridization, aCGH) позволяет находить несбалансированные микро-структурные хромосомные перестройки, которые не могут быть выявлены стандартными методами световой микроскопии. Технология aCGH не позволяет диагностировать генные мутации, сбалансированные хромосомные aberrации (инверсии, сбалансированные транслокации, геномные мутации), а также не способна детектировать низкоуровневый мозаицизм (менее 30%). В отчет не включены микроделеции и микродупликации, являющиеся полиморфными вариантами. Отсутствие клинически значимых структурных перестроек хромосом не исключает генетической природы наблюдаемых симптомов, в частности мутаций, которые не могут быть выявлены с помощью метода aCGH.

Для выполнения анализа используется кровь, взятая из локтевой вены в пробирку с ЭДТА в количестве 4 мл.

Кариотип пациента записан в соответствии с Международной системой цитогеномной номенклатуры ISCN 2020 (International System for Human Cytogenomic Nomenclature).

4.3. Вероятно патогенная CNV

Карта Номер исследования

Фамилия	
Дата рождения	

Регион

Направившее ЛПУ

Направивший врач

Метод исследования Хромосомный микроматричный анализ с использованием олигонуклеотидных микро-матриц Affymetrix CytoScan HD. Разрешение 25 т.п.н

Материал	Венозная кровь с ЭДТА	Дата поступления
----------	-----------------------	------------------

Направляющий диагноз Задержка психоречевого развития

Заключение:

Молекулярный кариотип (ISCN 2020): arr[GRCh37] 3q13.3(36220237_36289892)×1

1. **Обнаружена вероятно патогенная микроделеция участка длинного плеча хромосомы 13 размером 70 т.п.н.**

Гены, входящие в область микроделеции: *NBEA*, *LINC00445*.

В общепопуляционной базе данных DGV этот вариант не встречается.

В базе клинических данных DECIPHER варианты с близкими координатами не зарегистрированы. В область делеции попадает ген *NBEA* (604889) (50-58 экзоны). Мутации в гене *NBEA* в гетерозиготном состоянии описаны у пациентов с нарушением интеллектуального развития и возможным сочетанием с ранней манифестацией приступов генерализованных судорог (Neurodevelopmental disorder with or without early-onset generalized epilepsy OMIM: 619157).

В литературе описаны патогенные варианты в гене *NBEA* у пациентов с нарушением интеллектуального развития, аутистичным поведением и приступами генерализованных судорог («*NBEA*: developmental disease gene with early generalized epilepsy phenotypes» T. T. Sands et al., 2018; «Functional analysis of a de novo variant in the neurodevelopment and generalized epilepsy disease gene *NBEA*» T. Boulin et al. 2021).

2. Участки потери гетерозиготности, содержащие гены, связанные с феноменом импринтинга, отсутствуют.

3. Общая протяженность участков потери гетерозиготности, размером 3 млн. п.н. и более, соответствует популяционной (0,14%).

Рекомендуется консультация врача-генетика.

Дата:

Врач-лабораторный генетик

Биолог

Зав. лабораторией

Ограничения метода: хромосомный микроматричный анализ не позволяет выявлять сбалансированные хромосомные аномалии, такие как реципрокные транслокации, Робертсоновские транслокации, инверсии, инсерции, низкоуровневый мозаицизм (менее 20%), точечные мутации, а также микроделеции/микродупликации, размером менее 25 т.п.н.. В отчет не включены непатогенные микроделеции/микродупликации

Результат анализа может быть интерпретирован только врачом-генетиком.

4.4. CNV с неопределенной клинической значимостью

Карта	Номер исследования
Фамилия	
Дата рождения	
Регион	
Направившее ЛПУ	
Направивший врач	
Метод исследования	Хромосомный микроматричный анализ с использованием олигонуклеотидных микроматриц Affymetrix CytoScan HD. Разрешение 25 т.п.н
Материал	Венозная кровь с ЭДТА Дата поступления

Направляющий диагноз: Задержка психоречевого развития

Заключение:

Молекулярный кариотип (ISCN 2020): arr[GRCh37] Xq22.1(99638857_99700953)x3

1. Обнаружена микродупликация участка длинного плеча X хромосомы размером 62 т.п.н. с неопределенной клинической значимостью.

Гены, входящие в область микродупликации: *PCDH19* (OMIM#300460) (внутригенная дупликация, захватывающая 1-3 экзоны).

В базе клинических данных DECIPHER зарегистрированы патогенные варианты (SNV) в районе обнаруженной микродупликации у пациенток с нарушением интеллектуального развития, аутистичным поведением, судорогами и аномалиями головного мозга.

В область дупликации попадает ген *PCDH19* (OMIM#300460). Мутации в гене *PCDH19* в гетерозиготном состоянии у женщин приводят к клиническим проявлениям эпилептической энцефалопатии раннего детского возраста тип 9 (Epileptic encephalopathy, early infantile, 9; OMIM#300088). Заболевание имеет X-сцепленный, ограниченный женским полом тип наследования. Мужчины – носители патогенных вариантов в гене *PCDH19*, как правило, не имеют клинических проявлений. Заболевание характеризуется фенотипической вариабельностью и проявляется задержкой психомоторного и речевого развития, фармакорезистентными судорогами, манифестирующими в раннем детском возрасте (Клинико-генетические характеристики эпилепсии, обусловленной мутациями в гене *PCDH19* (OMIM#300088), Дадали Е.Л. с соавт., 2020).

2. Участки потери гетерозиготности, содержащие гены, связанные с феноменом импринтинга, отсутствуют.

3. Общая протяженность участков потери гетерозиготности, размером 3 млн. п.н. и более, соответствует популяционной (0,36%).

Рекомендуется: Консультация врача-генетика.

Дата:

Врач-лабораторный генетик,

Биолог,

Зав. лабораторией,

Ограничения метода: хромосомный микроматричный анализ не позволяет выявлять сбалансированные хромосомные аномалии, такие как реципрокные транслокации, Робертсоновские транслокации, инверсии, инсерции, низкоуровневый мозаицизм (менее 20%), точечные мутации, а также микроделеции/микродупликации, размером менее 25 т.п.н. В отчет не включены непатогенные микроделеции/микродупликации.

Результат анализа может быть интерпретирован только врачом-генетиком.

Молекулярно-цитогенетический анализ

ФИО пациента:

Дата рождения:

ID пациента:

Материал для исследования: венозная кровь

Дата проведения исследования:

Дата интерпретации полученных результатов с использованием баз данных и данных литературы:

Кем направлен:

Проведены исследования: матричная сравнительная геномная гибридизация на чипе SurePrint G3 Human CGH 8×60K (Agilent, США)

Результаты aCGH-исследования:

arr[GRCh37] 9p24.2p24.1(4156589_4600270)×3

Заключение молекулярно-цитогенетического анализа:

Выявлена частичная трисомия 9p24.2p24.1 неясного клинического значения. Протяженность перестройки составляет 443,6 т.п.н. В данном регионе локализовано 3 гена (*GLIS3*, *SLC1A1*, *SPATA6L*). Ген *GLIS3*, кодирующий ДНК-связывающий белок, отвечающий за регуляцию процессов транскрипции, а также за развитие клеток поджелудочной и щитовидной желез, глаза, печени и почек. Делеции, однонуклеотидные замены и инсерции в данном гене ассоциированы с развитием неонатального сахарного диабета и врожденного гипотиреоза (Diabetes mellitus, neonatal, with congenital hypothyroidism; OMIM#610199). Ген *SLC1A1* кодирует белок-аминокислотный транспортер, молекулы которого экспрессируются преимущественно в центральной нервной системе. Однонуклеотидные замены и делеции в гене *SLC1A1* ассоциированы с развитием дикарбоксильной аминокислотурии (Dicarboxylic aminoaciduria; OMIM#222730), а также связаны с предрасположенностью к шизофренией (Schizophrenia susceptibility 18; OMIM#615232). В базе данных хромосомных дисбалансов и патологий у человека (DECIPHER), содержащей информацию о клинически значимых микроструктурных перестройках, отмечены случаи обнаружения микроперестроек в области 9p24.2p24.1, затрагивающих гены *GLIS3*, *SLC1A1*, *SPATA6L*, при этом у пациентов были отмечены такие клинические признаки, как аутизм, задержка интеллектуального и речевого развития, нарушение поведения, стереотипии.

Рекомендована консультация врача-генетика.

Врач лабораторный генетик

Зав. клинико-диагностической лабораторией

Метод полногеномной диагностики микроделеционных / микродупликационных синдромов и хромосомных аномалий на ДНК-микрочипах (Array Comparative Genomic Hybridization, aCGH) позволяет находить несбалансированные микроструктурные хромосомные перестройки, которые не могут быть выявлены стандартными методами световой микроскопии. Технология aCGH не позволяет диагностировать генные мутации, сбалансированные хромосомные aberrации (инверсии, сбалансированные транслокации, геномные мутации), а также не способна детектировать низкоуровневый мозаицизм (менее 30%). В отчет не включены микроделеции и микродупликации, являющиеся полиморфными вариантами. Отсутствие клинически значимых структурных перестроек хромосом не исключает генетической природы наблюдаемых симптомов, в частности мутаций, которые не могут быть выявлены с помощью метода aCGH.

Для выполнения анализа используется кровь, взятая из локтевой вены в пробирку с ЭДТА в количестве 4 мл.

Кариотип пациента записан в соответствии с Международной системой цитогеномной номенклатуры ISCN 2020 (International System for Human Cytogenomic Nomenclature).

Приложение 5. Принципы номенклатуры в отношении записи результатов ХМА (ISCN, 2020), по [57]

Attachment 5. Principles of nomenclature regarding the recording of CMA results (ISCN, 2020), by [57]

Хромосомный анализ, основанный на микроматричных технологиях, принципиально является продолжением традиционного хромосомного анализа и FISH-исследований. Как для пре-, так и для постнатальной диагностики, он является дополнительным лабораторным методом идентификации хромосомных аномалий. Номенклатура для микроматричного анализа включает координаты различных версий геномной сборки для уточнения бэндов хромосом, которые можно определить по таблицам NCBI (hg19/GRCh38, <http://hgdownload.sce.ucsc.edu/goldenPath/hg19/database/cytoBand.txt.gz> и hg38/GRCh38, <http://hgdownload.sce.ucsc.edu/goldenPath/hg38/database/cytoBand.txt.gz>). Соответственно примеры, представленные в номенклатуре, предлагаются в качестве руководства для корректной записи в системе, используемой в лаборатории в зависимости от предпочтений той или иной версии геномной сборки.

Существует две системы записи: детальная, при которой указывают интервал аномального числа нуклеотидов и границы нормального числа нуклеотидов и краткая, указывающая только аномальные нуклеотиды. При использовании краткой системы для разделения тысяч и миллионов можно использовать запятое (,). В детальной системе запятые в этой функции не используются. Интервал аномалий нуклеотидов выделяют нижним подчеркиванием () в соответствии с рекомендациями HGVS для номенклатуры молекулярной генетики (www.HGVS.org/varnomen). Допустимо использовать комбинацию детальной и краткой систем для описания различных цитогеномных аномалий.

Если данные, полученные при микроматричном анализе, уточняют результат кариотипирования и (ретроспективно) аномалия может быть обнаружена при стандартном цитогенетическом исследовании, формула кариотипа может быть изменена с учетом новой информации. Если аномалия не может быть визуализирована, ее не следует указывать в формуле кариотипа. Увеличение или уменьшение числа копий не дает представления об архитектуре генома, для уточнения используют другие методы: стандартный цитогенетический анализ, FISH-исследование, секвенирование, основанное прочтении длинных фрагментов.

Если выявлен мозаицизм, он должен быть отмечен. Рекомендуется указать, число копий и количество образца с аномалией. Альтернативно мозаицизм может быть отмечен с помощью диапазона числа копий. В соответствии с правилами лаборатории в таблице могут быть указаны, размер варианта (в т.п.н. или млн.п.н.) и гены, находящиеся в пределах аномального района.

В разделе 14.2 ISCN (2020) «Примеры номенклатуры для микроматричного анализа» выделено 8 подразделов, из которых первые 7 относятся к вопросам постнатальной и пренатальной диагностики, а последний затрагивает область преимплантационного генетического тестирования.

14.2.1 «Нормальные результаты». В этом подразделе приведены примеры записи в соответствии с новыми правилами – половые хромосомы в формуле указывают первыми.

$\text{arr}(X,1-22)\times 2$ – нормальный женский молекулярный кариотип

$\text{arr}(X,Y)\times 1,(1-22)\times 2$ – нормальный мужской молекулярный кариотип

14.2.2 «Аномальные результаты». При изменении копийности половых хромосом, совместно с аутосомами, в формуле на первом месте указывают половые хромосомы, затем аутосомы, изменена форма записи некоторых примеров и добавлено несколько новых примеров.

$\text{arr}(X)\times 2,(Y)\times 1,(1-22)\times 3$
Микроматричный анализ выявил триплоидию 69,XXY

$\text{arr}(X,1-22)\times 3$
Микроматричный анализ выявил триплоидию 69,XXX

$\text{arr}(X,1-19,21,22)\times 3$

Микроматричный анализ выявил околотриплоидный кариотип, только хромосома 20 имеет 2 копии.

$Yq11.23(26887746_27019505) \times 0, 20q13.2q13.33(51840606_62375085) \times 3$

Микроматричный анализ выявил интерстициальную делецию проксимальной части длинного плеча Y-хромосомы и дополнительный материал дистальной части длинного плеча хромосомы 20. Аномалии половых хромосом записывают в первую очередь.

$arr[GRCh38] 4q32.2q35.1(163,146,681_183,022,312) \times 1$ or
 $arr[GRCh38] 4q32.2q35.1(163002425 \times 2, 163146681_183022312 \times 1, 184322231 \times 2)$

Микроматричный анализ выявил интерстициальную делецию в длинном плече хромосомы 4 от бэнда q32.2 до бэнда q35.1, размером примерно 19,9 млн.п.н. По развернутой записи становится ясно, что ближайший к району делеции проксимальный нуклеотид, не показывающий потери, расположен на расстоянии 144,256 нуклеотидов, а ближайший дистальный нуклеотид, не показывающий делеции, на расстоянии 1,3 млн. п.н. от места повреждения. В детальной системе записи не используют запятые, разделяющие сотни, тысячи и миллионы нуклеотидов.

$arr[GRCh38] 6q21q25.1(113,900,000_149,100,000) \times 1, (21) \times 3$

Микроматричный анализ (основанный на сборке GRCh38) выявил интерстициальную делецию в длинном плече хромосомы 6 от бэнда q21 до бэнда q25.1 и однокопийное увеличение (трисомию) хромосомы 21.

$arr(8,21) \times 3$

Микроматричный анализ выявил однокопийное увеличение (трисомию) хромосом 8 и 21.

$arr[GRCh38] 15q11.1q13.2(20,336,669_30,226,235) \times 4$

Микроматричный анализ выявил двухкопийное увеличение (трипликацию) проксимального района 15q, приведшую к тетрасомии 15q11.1q13.2. С помощью FISH-исследования можно установить связана ли трипликация этого района с наличием в кариотипе маркерной хромосомы или межхромосомной инсерции.

$arr[GRCh38] 18p11.32q23(102328_79093443) \times 3$ or $arr(18) \times 3$

Микроматричный анализ выявил однокопийное увеличение материала хромосомы 18, соответствующую трисомии хромосомы 18.

14.2.3 «Наследование». В подразделе указаны новые символы, которые используют в случае наследования дериватных хромосом вследствие родительской перестройки (dmat, dpat, dinh). В подраздел включены новые примеры:

$arr[GRCh38] 4q32.2q35.1(163146681_183022312) \times 1$ dn or
 $arr[GRCh38] 4q32.2q35.1(163002425 \times 2, 163146681_183022312 \times 1, 184322231 \times 2)$ dn

Микроматричный анализ выявил интерстициальную делецию в длинном плече хромосомы 4 между бэндами q32.2 и q35.1. Гетерозиготная делеция произошла *de novo*.

$arr[GRCh37] 22q11.21(18,916,842_21,465,659) \times 4$ mat pat

Микроматричный анализ выявил двухкопийное увеличение (трипликацию) 22q11.22, одна копия унаследована от матери, а другая от отца. Каждый из родителей имел по три копии, две из которых он передал потомку, таким образом аномалия была унаследована от обоих родителей.

14.2.4 «Множественные технологии». Дополнительно указано, что результат, полученный с использованием множественных технологий, может быть представлен с разделением результатов отдельных технологий косыми линиями, а не точками.

$46, X, der(Y)t(Y;20)(q11.23;q13.2).arr[GRCh38] Yq11.23(26887746_27019505) \times 0,$
 $20q13.2q13.33(51840606_62375085) \times 3$

Микроматричный анализ выявил терминальную делецию в длинном плече Y-хромосомы и дупликацию в терминальном районе длинного плеча хромосомы 20. Стандартное цитогенетическое исследование показало, что причиной является несбалансированная транслокация между длинным плечом Y-хромосомы и длинным плечом хромосомы 20. Согласно новым правилам, аномалии половых хромосом, выявленные при микроматричном анализе, записывают первыми. У пациента нет нормальной Y-хромосомы.

46,XX,arr[GRCCh38] Xp22.31(6923934_7253485)×3,5q14.3(88018766_89063989)×1

При цитогенетическом исследовании определен нормальный женский кариотип. Микроматричный анализ выявил дупликацию короткого плеча X-хромосомы и однокопийную интерстициальную делецию части длинного плеча хромосомы 5. Аномалии половых хромосом записывают в первую очередь.

14.2.6 «Особенности номенклатуры для SNP-анализа». Сделано дополнение, что SNP-анализ может быть использован для обнаружения аномалий, относящихся к ploidy генома.

arr<3n>(X)×2,(Y)×1

Триплоидный цитогеномный профиль с дисомией по хромосоме X и одной хромосомой Y