

Анализ CNVs при анэмбрионии и неразвивающейся беременности

Савченко Р.Р.¹, Кашеварова А.А.¹, Скрябин Н.А.¹, Жигалина Д.И.²,
Лопаткина М.Е.¹, Никитина Т.В.¹, Васильев С.А.¹, Лебедев И.Н.¹

¹ НИИ медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск;
e-mail: savchenko_renata@mail.ru

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

Несмотря на высокую частоту репродуктивных потерь, характерную для человека, вариации числа копий участков ДНК (CNVs) как одна из возможных причин невынашивания беременности остаются малоизученными. В связи с этим целью настоящего исследования являлся анализ CNVs при анэмбрионии и неразвивающейся беременности. Исследовано 29 образцов внезародышевых тканей спонтанных абортусов первого триместра беременности, полученных от женщин с диагнозом *анэмбриония*, и 18 образцов тканей, полученных от женщин с диагнозом *неразвивающаяся беременность*. Идентификация CNVs проведена методом матричной сравнительной геномной гибридизации (aCGH) на ДНК-микрочипах высокого разрешения. Выявлено 299 CNVs при анэмбрионии и 132 CNVs при неразвивающейся беременности. Некоторые потенциально патогенетически значимые CNVs были верифицированы методом ПЦР в реальном времени. При анэмбрионии выявлено 19 (54,3%) потенциально патогенетически значимых микроделетий и 16 (45,7%), микродупликаций, в то время как при неразвивающейся беременности в обследованной нами выборке обнаружены исключительно микродупликации хромосомных участков.

Ключевые слова: анэмбриония, неразвивающаяся беременность, вариации числа копий участков ДНК (CNV), матричная сравнительная геномная гибридизация (aCGH).

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Исследование проведено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-15-10229.

Analysis of CNVs in anembrionic pregnancy and missed abortions

Savchenko R.R.¹, Kashevarova A.A.¹, Skryabin N.A.¹, Zhigalina D.I.²,
Lopatkina M.E.¹, Nikitina T.V.¹, Vasilyev S.A.¹, Lebedev I.N.¹

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMС, Tomsk, Russia

² National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

Corresponding author: savchenko_renata@mail.ru

Despite the high frequency of early pregnancy losses in human embryo development, copy number variations (CNVs), as one of the possible causes of miscarriage, are insufficiently explored. The present study is aimed to search for copy number variations (CNVs) in euploid anembrionic pregnancies and missed abortions. The 29 samples of extraembryonic tissues from anembrionic pregnancies and 18 samples of extraembryonic mesoderm from missed abortions were analysed using array comparative genomic hybridization (aCGH) on high-resolution microarrays. Copy number variations were detected in both experimental groups but their total number in anembrionic pregnancies (299 CNVs) were significantly higher than in the group of missed abortions (132 CNVs). Several CNVs were selectively verified using real-time PCR. The predominance of microdeletions in anembrionic pregnancies is noteworthy. Nineteen (54.3%) potentially pathogenic microdeletions and 16 (45.7%) microduplications were found in anembrionic pregnancies while there were only microduplications in the group of observed missed abortions.

Key words: anembrionic pregnancy, missed abortion, copy number variation (CNV), array comparative genomic hybridization (aCGH).

Введение

Невынашивание беременности является одной из ключевых проблем современной репродуктивной биологии и медицины. По разным оценкам, от 15 до 25% клинически распознаваемых беременностей спонтанно прерываются на сроке до 16 недель [1, 2]. Причины остановки развития эмбрионов имеют многофакторную природу, однако ключевая роль в этиологии ранних репродуктивных потерь отводится генетическим факторам [3]. Известно, что около половины зародышей имеют числовые и струк-

турные аномалии хромосомного набора [4]. Причины гибели оставшейся значительной части эмбрионов, у которых стандартными цитогенетическими методами был определен нормальный кариотип, часто остаются неясными. Возможно, некоторые случаи невынашивания беременности могут быть вызваны вариациями числа копий участков ДНК (copy number variation, CNVs).

CNVs регистрируются как у практически здоровых индивидов, так и могут быть ассоциированы с различными патологическими состояниями. К настоящему моменту

опубликован ряд работ, посвященных изучению значительной роли CNVs в патогенезе разных наследственных заболеваний, таких как нервно-психические расстройства, умственная отсталость, некоторые наследственные формы рака и др. [5–8]. Вероятно, ряд клинически значимых CNVs может приводить и к внутриутробной селекции эмбрионов. Результаты исследований в данном направлении начали публиковаться сравнительно недавно и, главным образом, принадлежат зарубежным коллективам [3, 9–16].

Целью настоящего исследования являлся аCGH-анализ случаев анэмбрионии и неразвивающейся беременности.

Материалы и методы

Исследовано 29 образцов внезародышевых тканей (цитотрофобласт хориона, ЦХ, 14 образцов), экстраэмбриональная мезодерма (ЭМ, 15 образцов) спонтанных абортусов, полученных от женщин с диагнозом *анэмбриония*, и 18 образцов ЭМ, полученных от женщин с диагнозом *неразвивающаяся беременность*. Все спонтанные абортусы, включенные в данное исследование, имели нормальный кариотип, установленный при стандартном метафазном анализе. Сроки беременности, определенные по дате последней менструации, варьировали от 6 до 12,5 недель (среднее значение $8,7 \pm 1,8$ недель) и от 6,5 до 16 недель (среднее значение $10,5 \pm 3,7$ недель) при анэмбрионии и неразвивающейся беременности, соответственно, а по данным ультразвукового обследования беременных женщин от 3,5 до 11 недель (среднее значение $5,8 \pm 1,7$ недель) и от 6 до 10 недель (среднее значение $8,1 \pm 2,0$ недель). Возраст матерей в группе анэмбрионии варьировал от 23 до 37 лет (среднее значение $29,8 \pm 4,7$ года), а при неразвивающейся беременности от 21 до 34 (среднее значение $29 \pm 4,7$ года). Возраст отцов находился в диапазоне от 26 до 43 лет (среднее значение $33,9 \pm 6,0$ лет) и от 24 до 34 (среднее значение $29 \pm 4,9$ года) при анэмбрионии и неразвивающейся беременности, соответственно. Проведение настоящего исследования было одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ РАН.

ДНК для молекулярно-цитогенетического анализа была выделена из тканей плаценты с использованием стандартного протокола фенол-хлороформной экстракции. Матричная сравнительная геномная гибридизация (аCGH) была проведена с использованием ДНК-микрочипов высокого разрешения SurePrint G3 Human CGH+SNP Microarray Kit, 4x180K и SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 4x180K (Agilent Technologies, США) по протоколу, рекомендованному производителем. Детекция гибридационных сигналов осуществлялась на сканере SureScan Microarray Scanner (Agilent Technologies, США), а обработка сканированных изображений проведена с использованием программы Feature Extraction 10.7.3.1 (Agilent Technologies, США). Ана-

лиз полученных данных был проведен с использованием программного обеспечения CytoGenomics 2.5.7.0 (Agilent Technologies, США).

Классификация CNVs осуществлялась с использованием баз данных DGV (Database of Genomic Variants) [17] и DECIPHER (Database of Genomic Variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources) [18], а анализ функций генов — с помощью баз данных NCBI Gene [19] и NCBI PubMed [20].

Верификация потенциально клинически значимых CNVs проведена методом ПЦР в реальном времени (RT-PCR). Разработка олигонуклеотидных праймеров для RT-PCR осуществлялась с использованием баз данных NCBI Gene, UCSC Genome Browser [21], Ensembl [22], а также программ Primer-BLAST [23] и VectorNTI Advance®11.5.4 (Invitrogen, США).

Исследование выполнено с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ и ресурсов коллекции биологического материала «Биобанк населения Северной Евразии».

Результаты и обсуждение

Применение аCGH позволило выявить 299 CNVs при анэмбрионии и 132 CNVs при неразвивающейся беременности. Значительно более высокое число CNVs, обнаруженных при анэмбрионии, возможно, объясняется тем, что данная форма патологии внутриутробного развития является наиболее тяжелой и вклад хромосомных аберраций в её этиологию, как правило, заметно выше, чем при неразвивающейся беременности. Обнаруженные в обеих группах CNVs были локализованы как в некодирующих областях генома, так и перекрывались с известными генами, что может указывать на возможную важную роль данного типа изменчивости в регуляции геновой экспрессии. После исключения из дальнейшего анализа полиморфных вариантов, встречающихся у здоровых индивидов и зарегистрированных в DGV, а также вариантов, затрагивающих гены, оставшиеся CNVs, были классифицированы как потенциально патогенетически значимые для эмбрионального развития. При анэмбрионии их число составило 35 CNVs (в 21 образце), а при неразвивающейся беременности — 25 CNVs (в 8 образцах). Потенциально патогенетически значимые CNVs, их размеры и некоторые затронутые ими гены представлены в табл. 1 и 2.

CNVs, выявленные в обеих группах, затрагивали гены, продукты которых играют роль в реализации важных биологических процессов, таких как клеточная пролиферация и дифференцировка, межклеточная сигнализация, развитие нормальной морфологии клеток и анатомических структур, эмбриональное развитие.

Потенциально патогенетически значимые CNVs, обнаруженные при анэмбрионии

№	Ткань	Регион	Координаты, hg19	Размер, т.п.н.	Гены в области CNV
1	ЭМ	—			
	ЦХ	del4p12	chr4:45951948-47320722	1369	<i>COX7B2</i>
		del4q13.1-q13.2	chr4:65239160-67362778	2124	<i>EPHA5</i>
		del7q21.11	chr7:84392662-86174019	1781	<i>SEMA3D</i>
		del8q24.13	chr8:125093552-125186016	92,5	<i>FER1L6</i>
		del10q21.3	chr10:66638141-68024837	1387	<i>CTNNA3</i>
2	ЭМ	dup2q21.1	chr2:130928976-131317673	388,7	<i>PTPN18, CFC1</i>
		dup5q13.2	chr5:68849594-70369959	1520	<i>OCLN</i>
		dup6p22.1	chr6:29854870-29887327	32	<i>HLA-H</i>
		dup19p12	chr19:20591370-20682636	91	<i>ZNF826P</i>
	ЦХ	—			
3	ЭМ	dup7p14.3	chr7:29212013-29522819	310,8	<i>CHN2</i>
	ЦХ	del2p21	chr2:45168836-45169561	726	<i>SIX3</i>
		del2q32.1	chr2:185310259-185486252	176	<i>ZNF804A</i>
		del6q22.31	chr6:123554069-123591006	36,9	<i>TRDN</i>
		del10q21.3	chr10:66638141-68024837	1387	<i>CTNNA3</i>
		del12q15-q21.1	chr12:71287027-71721907	439,9	<i>PTPRR, TSPAN8</i>
		del20q13.32	chr20:57245941-57465925	220	<i>STX16, GNAS</i> и др.
4	ЭМ	dup6p22.1	chr6:29854870-29896710	41,8	<i>HLA-H</i> и др.
		del18p11.32-p11.31	chr18:118760-5275294	5157	<i>METTL4, SMCHD1</i> и др.
	ЦХ	del6p25.3	chr6:320910-517491	196,6	<i>DUSP22, IRF4</i>
5	ЭМ	del5q14.3	chr5:84810680-86062835	1252	<i>NBPF22P, COX7C</i> и др.
		dup6p22.1	chr6:29854870-29887327	32	<i>HLA-H, HCG2P7</i>
		dup10q24.32	chr10:103288313-103323240	35	<i>BTRC</i>
	ЦХ	del5q14.3	chr5:84810680-86062835	1252	<i>NBPF22P, COX7C</i> и др.
		dup6p22.1	chr6:29854870-29887327	32	<i>HLA-H, HCG2P7</i>
		dup10q24.32	chr10:103288313-103323240	35	<i>BTRC</i>
		dup11p15.1	chr11:18413974-18460081	46	<i>LDHA, LDHC</i>
6	ЭМ	—			
	ЦХ	del7p22.2	chr7:3697372-3750340	52,9	<i>SDK1</i>
7	ЭМ	—			
	ЦХ	del18q12.2-q12.3	chr18:36374692-37518109	1143	<i>LOC647946, mir-924</i>
9	ЭМ	dup11p15.5	chr11:2017341-2191412	174	<i>H19</i> и др.
	ЦХ	—			
10	ЭМ	dup2p21	chr2:45168836-45169314	479	<i>SIX3</i>
	ЦХ	dup2p11.2	chr2:85383744-85520965	137	<i>TCF7L1</i>
		dup3p21.1	chr3:53923973-54192397	268	<i>SELK, CACNA2D3</i>
		dup8p11.23	chr8:36673502-37024831	351	<i>KCNU1</i>
		dup9p24.3	chr9:526605-789845	263	<i>KANK1</i>
		dup17p13.2	chr17:4393779-4442307	49	<i>SPNS2, MYBBP1A</i>
11	ЭМ	dup6q22.31	chr6:121680801-122209022	528	<i>GJA1</i>
	ЦХ	dup6q22.31	chr6:121680801-122209022	528	<i>GJA1</i>
12	ЭМ	del1q31.1	chr1:196825135-196883398	58	<i>CFHR4</i>
	ЦХ	del1q31.1	chr1:196825135-196883398	58	<i>CFHR4</i>
15	ЭМ	dup7p21.1	chr7:19155285-19157193	2	<i>TWIST1</i>
		del15q15.3	chr15:43895633-43948346	53	<i>STRC</i>
		dupXp11.23	chrX:48318839-48760198	441	<i>SUV39H1, HDAC6</i> и др.
		dupYq11.223	chrY:23655107-23891753	237	<i>RBM1B</i> и др.
	ЦХ	—			

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Поскольку при проведении матричной сравнительной геномной гибридизации существует вероятность получения ложноположительных результатов, выборочно методом RT-PCR были верифицированы некоторые потенциально патогенетически значимые CNVs. В группе анэмбрионий было проверено 8 CNVs, затрагивающих 9 генов. В группе неразвивающихся беременностей было верифицировано 5 потенциально патогенетически значимых CNVs, затрагивающих 6 генов. Таким образом, суммарно в обеих группах методом RT-PCR были выборочно подтверждены 9 из 13 CNVs: 4 при анэмбри-

онии (del10q21.3 (*CTNNA3*), del18p11.32-p11.31 (*METTL4*, *SMCHD1*), del5q14.3 (*COX7C*), dup10q24.32 (*BTRC*)) и 5 при неразвивающейся беременности (dup14q22.2 (*BMP4*), dup12q24.21 (*TBX3*), dup11p15.5-15.4 (*INS*, *H19*), dupXp11.22 (*HSD17B10*)). Важно отметить, что 4 CNVs не подтвердились: del 2p21 (*SIX3*), del 20q13.32 (*STX16*, *NPEPL1*), dup 11p15.5 (*H19*) при анэмбрионии и dup 2q31.1 (*DLX1*) при неразвивающейся беременности.

Интересные результаты были получены при анализе качественного состава CNVs в обеих исследованных

Таблица 2

Потенциально патогенетически значимые CNVs, обнаруженные в ЭМ при неразвивающейся беременности

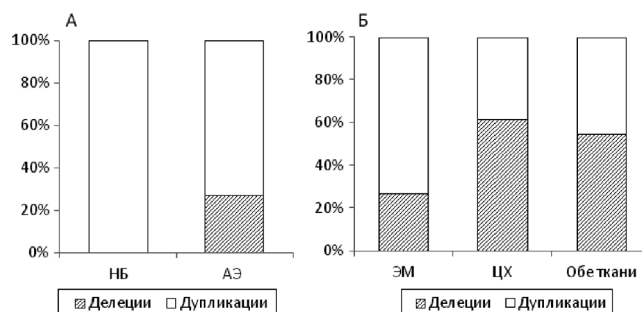
№	Регион	Координаты, hg19	Размер, т.п.н.	Гены в области CNV
1	dup2q31.1	chr2:172947223-172953729	7	<i>DLX1</i>
	dup14q22.2	chr14:54418667-54427486	9	<i>BMP4</i>
2	dup11p15.5-p15.4	chr11:1092290-3626932	2535	<i>SYT8</i> , <i>H19</i> и др.
	dupXp22.33	chrX:60701-3140981	3080	<i>SHOX</i> , <i>CRLF2</i> и др.
	dupXp11.23	chrX:47330212-48760937	1431	<i>TIMP1</i> , <i>CFP</i> и др.
	dupXq28	chrX:152987955-154005218	1017	<i>BCAP31</i> и др.
	dupYp11.32- p11.2	chrY:10701-7036724	7026	<i>PLCXD1</i> и др.
3	dupXp11.22	chrX:53458184-53461271	3	<i>HSD17B10</i>
	dup15q11.1-q11.2	chr15:20481702-22558756	2077	<i>HERC2P3</i> , <i>GOLGA6L6</i> и др.
	dup16p11.2	chr16:32279544-34185056	1906	<i>LOC390705</i> , <i>TP53TG3</i> и др.
4	dup2q31.1	chr2:176958994-176959346	0,35	<i>HOXD13</i>
	dup3p26.3	chr3:2640411-2670402	30	<i>CNTN4</i>
	dup3p21.1	chr3:53923973-54146450	222	<i>SELK</i>
	dup3q28	chr3:188019777-188080406	61	<i>LPP</i>
	dup4q12	chr4:55484144-55612932	129	<i>KIT</i>
	dup5p14.1	chr5:81037484-81127498	90	<i>SSBP2</i>
	dup6p21.1	chr6:45395872-46104796	709	<i>RUNX2</i> , <i>CLIC5</i> , <i>ENPP4</i>
	dup7p14.3	chr7:32103877-32170788	67	<i>PDE1C</i>
	dup7q21.11	chr7:80444185-80531734	88	<i>SEMA3C</i>
	dup9p24.3	chr9:526605-789845	263	<i>KANK1</i>
	dup9p21.3	chr9:23196282-24313081	1117	<i>ELAVL2</i>
	dup12q24.21	chr12:114375674-116099724	1724	<i>RBM19</i> , <i>TBX5</i> , <i>TBX3</i>
	dup15q11.1-q11.2	chr15:20095481-22509254	2414	<i>HERC2P3</i> , <i>GOLGA6L6</i> и др.
	dup19p12-p11	chr19:24323677-24474254	151	<i>LOC100101266</i>
	dupXp22.33	chrX:60701-482475	422	<i>PLCXD1</i> , <i>GTPBP6</i> и др.
dupXp11.22	chrX:50367783-50441087	73	<i>SHROOM4</i>	
dupXq21.1	chrX:77371786-77372595	1	<i>PGK1</i>	
dupXq27.3-q28	chrX:146441166-147639704	1999	<i>FMR1-AS1</i> и др.	
5	dup20q13.32	chr20:57463534-57465925	2	<i>GNAS</i>
6	dup19q13.43	chr19:57349319-57351566	2	<i>ZIM2</i> , <i>PEG3</i>
7	dup4q34.3	chr4:178067448-179741395	1674	<i>NEIL3</i> , <i>AGA</i>
	dup10q11.21	chr10:42806964-43356545	113	<i>BMS1</i>
8	dup4q34.3	chr4:178067448-179741395	1674	<i>NEIL3</i> , <i>AGA</i>

группах. Так при анэмбрионии было выявлено 19 потенциально патогенетически значимых микроделетий (54,3%) и 16 микродупликаций (45,7%) хромосомных участков, в то время как при неразвивающейся беременности в обследованной нами выборке регистрировались только микродупликации. Кроме того, при анэмбрионии различалось распределение микроделетий и микродупликаций по тканям, однако в общей сложности преобладали микроделетии. В ЭМ было обнаружено 4 микроделетии (26,7%) и 11 микродупликаций (73,3%), а в ЦХ 16 микроделетий (61,5%) и 10 микродупликаций (38,5%) (рисунок).

В работе Rajcan-Separovic с соавторами [15] описаны 6 уникальных CNVs, зарегистрированных у пяти внутриутробно погибших зародышей с нормальным кариотипом (2 случая анэмбрионии и 3 неразвивающихся беременности с наличием эмбрионального материала). И при анэмбрионии, и при неразвивающейся беременности авторами было выявлено по 2 микродупликации и по одной микроделетии хромосомных участков. В более позднем исследовании Robberecht с соавторами [16] обнаружили 4 микроделетии при неразвивающейся беременности. Принимая во внимание результаты двух вышеупомянутых работ, отсутствие микроделетий при неразвивающейся беременности в нашем исследовании, по-видимому, объясняется малым объемом выборки. Тем не менее, тенденция к преобладанию микродупликаций при неразвивающейся беременности так же, как и в нашей работе, прослеживается в исследовании Robberecht с соавторами [16]: 17 (81%) микродупликаций и 4 (19%) микроделетии. Исключение из анализа CNVs, не затрагивающих гены, незначительно смещает данное соотношение: 15 (83%) микродупликаций и 3 (17%) микроделетии. Микродупликации преобладают и в других исследованиях внутриутробно погибших зародышей: 12 (60%) к 8 (40%) [14] и 26 (57,8%) к 19 (42,2%) [24], однако в данных работах отсутствует морфологическая характеристика обследованного абортивного материала, что делает невозможным прямое сравнение результатов.

Полученное нами распределение CNVs с преобладанием микроделетий при анэмбрионии сложно сопоставить с существующими опубликованными работами, поскольку данная форма патологии остается малоизученной высокоразрешающими методами исследования кариотипа. Так в общей сложности было выявлено 6 уникальных CNVs в трех случаях анэмбрионии [15, 16].

При сопоставлении обнаруженных нами CNVs с результатами других исследований, перекрытие генов, вовлеченных в CNVs, удалось выявить только в двух случаях. Так, описанная нами ранее микроделетия 10q21.3 [3] регистрировалась также в работах Rajcan-Separovic с соавторами [14] и Robberecht с соавторами [16] и затрагивала во всех описанных случаях ген *CTNNA3*, а микроделетия 7p22.2, обнаруженная нами при анэмбрионии, была также показана Viaggi с соавторами [24] и



А – CNVs, обнаруженные в ЭМ при неразвивающейся беременности (НБ) и анэмбрионии (АЭ); Б – CNVs в материале анэмбрионии: ЭМ – распределение CNVs в экстраэмбриональной мезодерме; ЦХ – распределение CNVs в цитотрофобласте хориона; обе ткани – суммарное распределение CNVs в обеих тканях.

в обоих случаях затрагивала единственный ген *SDK1*. Данный ген кодирует белок клеточной адгезии, связь которого с аномальным протеканием эмбриогенеза неочевидна. Кроме того, при анэмбрионии нами были обнаружены микродупликация 11p15.1, показанная также Rajcan-Separovic [14], микродупликация 2p11.2, в то время как Viaggi с соавторами [24] зарегистрировали микроделетию 2p11.2, и микроделетия 2p21, в то время как в работе [24] регистрируется микродупликация в данном локусе. Вышеупомянутые хромосомные перестройки в нашем и зарубежных исследованиях затрагивали разные гены. При неразвивающейся беременности нами была выявлена микродупликация Xq28, показанная также Rajcan-Separovic [15] и микродупликация 7p14.3, в то время как в упомянутой работе [15] регистрировалась микроделетия этого региона. Гены, вовлеченные в данные CNVs, также не перекрывались в нашем и зарубежном исследовании. Таким образом, широкий спектр обнаруженных микроструктурных хромосомных aberrаций, а также отсутствие перекрытий с CNVs, зарегистрированными в других работах, усложняет поиск патогенетически значимых для эмбрионального развития CNVs.

Важно отметить, что в настоящее время исследования роли CNVs в этиологии ранних репродуктивных потерь находятся на стадии накопления данных. Принимая во внимание высокую частоту невынашивания беременности, характерную для человека, и возможную важную роль CNVs в этиологии ранних репродуктивных потерь, продолжение исследований в данном направлении, а также изучение функций генов, вовлеченных в CNVs, представляются чрезвычайно актуальными.

Список литературы

1. Macklon NS, Geraedts JP, Fauser BC. Conception to ongoing pregnancy: the «black box» of early pregnancy loss. Hum. Reprod. Update. 2002;8(4):333-343.
2. Неразвивающаяся беременность. Методические рекомендации МАРС. В.Е. Радзинский. М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2015. 48 с.

3. Лебедев ИН, Кашеварова АА, Скрыбин НА и др. Матричная сравнительная геномная гибридизация (array-CGH) в диагностике хромосомного дисбаланса и CNV-полиморфизма при анэмбрионии. Материалы II национального конгресса «Дискуссионные вопросы современного акушерства». 2013;LXII (2):117-125.
4. Griffin DK. The incidence, origin and etiology of aneuploidy. *Int. Rev. Cytol.* 1996;167:263-295.
5. Bassett AS, Chow EW, Husted J et al. Clinical features of 78 adults with 22q11 Deletion Syndrome. *Am J Med Genet A.* 2005;138(4):307-313.
6. Blackwood DH, Fordyce A, Walker MT. Schizophrenia and affective disorders-cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family. *Am J Med Genet A.* 2001;69(2):428-433.
7. Glessner JT, Wang K, Cai J et al. Autism genome-wide copy number variation reveals ubiquitin and neuronal genes. *Nature.* 2009;459(7246):569-573.
8. Aitman TJ, Dong R, Vyse TJ et al. Copy number polymorphism in *Fcgr3* predisposes to glomerulonephritis in rats and humans. *Nature.* 2006;439(7078):851-855.
9. Schaeffer AJ, Chung J, Heretis K et al. Comparative genomic hybridization-array analysis enhances the detection of aneuploidies and submicroscopic imbalances in spontaneous miscarriages. *Am. J. Hum. Genet.* 2004;74:1168-1174.
10. Benkhalifa M, Kasakyan S, Clement P et al. Array comparative genomic hybridization profiling of first-trimester spontaneous abortions that fail to grow in vitro. *Prenat. Diagn.* 2005;25:94-900.
11. Shimokawa O, Harada N, Miyake N et al. Array comparative genomic hybridization analysis in first-trimester spontaneous abortions with «normal» karyotypes. *Am. J. Hum. Genet.* 2006;140:1931-1935.
12. Conrad DF, Andrews TD, Carter NP et al. A high-resolution survey of deletion polymorphism in the human genome. *Nat. Genet.* 2006;38(1):75-81.
13. Menten B, Swerts K, Delle Chiaie B. Array comparative genomic hybridization and flow cytometry analysis of spontaneous abortions and mors in utero samples. *BMC Medical Genetics.* 2009;10:89-94.
14. Rajcan-Separovic E, Diego-Alvarez D, Robinson WP et al. Identification of copy number variants in miscarriage from couples with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Hum. Reprod.* 2010;25:2913-2922.
15. Rajcan-Separovic E, Qiao Y, Tyson C et al. Genomic changes detected by array CGH in human embryos with developmental defects. *Hum. Reprod.* 2010;16:125-134.
16. Robberecht C, Pexsters A, Deprest J et al. Cytogenetic and morphological analysis of early products of conception following hysteroembryoscopy from couples with recurrent pregnancy loss. *Prenat. Diagn.* 2012;4:1-10.
17. Database of genomic variants. URL: <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home> (дата обращения 15.01.2016)
18. Database of genomic variation and phenotype in humans using Ensembl Resources URL: <https://decipher.sanger.ac.uk/> (дата обращения: 20.01.2016).
19. NCBI Gene. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/> (дата обращения: 1.03.2016).
20. NCBI PubMed. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> (дата обращения: 1.03.2016).
21. Genome Browser University of California Santa Cruz. URL: <https://genome.ucsc.edu/> (дата обращения 20.03.2016).
22. Genome browser Ensembl. URL: <http://www.ensembl.org/index.html/> (дата обращения: 20.03.2016).
23. NCBI BLAST. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/> (дата обращения: 20.03.2016).
24. Viaggi CD, Savani S, Malacarne M et al. First-trimester euploid miscarriages analysed by array-CGH. *J Appl Genetics.* 2013;54(3):353-359.