

doi: 10.17116/jnevro201611611186-91

Геномная нестабильность в клетках головного мозга: хромосомный мозаицизм при шизофрении

Ю.Б. ЮРОВ^{1, 2, 3*}, С.Г. ВОРСАНОВА^{1, 2, 3}, И.А. ДЕМИДОВА^{1, 2, 3}, В.С. КРАВЕЦ^{1, 2, 3}, В.М. ВОСТРИКОВ¹, И.В. СОЛОВЬЕВ¹, Н.А. УРАНОВА¹, И.Ю. ЮРОВ^{1, 2, 3, 4}

¹ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва; ²Обособленное структурное подразделение «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтишева»; ³ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», Минздрава России, Москва, Россия; ⁴ФГБОУ ВО «Московский государственный психолого-педагогический университет, Москва, Россия; ⁵ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования», Минздрава России, Москва, Россия

Цель исследования. Экспериментальная проверка высказанной ранее авторами гипотезы о возможном вовлечении мозаичных вариаций генома (мозаичной анеуплоидии) в патогенез ряда психических болезней, включая шизофрению и аутизм: проведение генетических исследований уровня мозаичных вариаций генома в клетках аутопсийных тканей головного мозга в норме и при шизофрении. **Материал и методы.** Методами молекулярной цитогенетики проведен анализ частоты хромосомных мутаций (мозаичной анеуплоидии) в клетках 15 контрольных образцов и 15 образцов больных шизофренией. Для интерфазного анализа хромосом в клетках мозга использована оригинальная коллекции ДНК-зондов на хромосомы аутосомы 1, 9, 15, 16, 18 и половые хромосомы X и Y. **Результаты и заключение.** Частота анеуплоидии в расчете на индивидуальную хромосому составила 0,54% (медиана — 0,53%; 95% доверительный интервал — 0,41 — 1,13%) в контроле и 1,66% (медиана — 1,55%; 95% доверительный интервал — 1,32 — 2,12%) при шизофрении ($p=0,000013$). Таким образом, выявлено 3-кратное увеличение уровня мозаичной анеуплоидии в мозге при шизофрении. Высказано предположение о том, что мозаичная анеуплоидия, являясь значимым биологическим маркером нестабильности генома, может приводить к выраженному геному дисбалансу и нарушению функциональной активности аномальных нервных клеток и нейронных сетей при шизофрении.

Ключевые слова: геномная нестабильность, мозаичная анеуплоидия, шизофрения.

Genomic instability in the brain: chromosomal mosaicism in schizophrenia

Y.B. YUROV, S.G. VORSANOVA, I.A. DEMIDOVA, V.S. KRAVETS, V.M. VOSTRIKOV, I.V. SOLOVIEV, N.A. URANOVA, I.Y. IOUROV

Mental Health Research Center, Moscow, Russia; Veltishev Clinical Research Institute of Pediatrics, Moscow, Russia; Pirogov Russian National Research Medical University, Minzdrav RF, Moscow, Russia; Moscow State University of Psychology and Education, Moscow, Russia; Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russia

Objective. Experimental verification of the hypothesis about the possible involvement of the mosaic genome variations (mosaic aneuploidy) in the pathogenesis of a number of mental illnesses, including schizophrenia and autism: a genetic study of the level of mosaic genome variations in cells of the brain autopsy tissues in healthy controls and schizophrenia. **Material and methods.** Autopsy brain tissues of 15 unaffected controls and 15 patients with schizophrenia were analyzed by molecular cytogenetic methods to determine the frequency of chromosomal mutations (the mosaic aneuploidy) in neural human cells. The original collection of chromosome-enumeration DNA probes to autosomes 1, 9, 15, 16, 18 and the sex chromosomes X and Y was used for the interphase cytogenetic analysis of chromosomes in the cells of the brain. **Results and conclusion.** The frequency of low-level aneuploidy per individual chromosome was 0.54% (median — 0.53%; 95% confidence interval (CI) CI — 0.41—1.13%) in controls and 1.66% (median — 1.55%; 95% CI — 1.32—2.12%) in schizophrenia ($p=0.000013$). Thus, the three-fold increase in aneuploidy frequency in the brain in schizophrenia was detected. It is suggested that mosaic aneuploidy, as a significant biological marker of genomic instability, may lead to genetic imbalance and abnormal functional activity of neural cells and neural networks in schizophrenia.

Keywords: genomic instability, mosaic aneuploidy, schizophrenia

Шизофрения — широко распространенное психическое заболевание с частотой около 1% в общей популяции. Согласно современным представлениям, его этиология и патогенез тесно связаны с генетическими факторами.

Многие исследователи [1—8] отмечали значимую роль таких генетических факторов, как унаследованные от родителей и возникшие *de novo* генные и хромосомные мутации, редкие вариации числа копий ДНК размером более

1 тыс. пар нуклеотидов (CNV), редкие варианты мутаций одиночных нуклеотидов (SNV) и небольшие инсерции/делеции (indel), а также однонуклеотидные полиморфные варианты (SNP).

Современный взгляд на характер предрасположенности к шизофрении основывается на исследованиях, предполагающих, что различные типы мутаций и вариаций генома прямо или косвенно вовлекаются в ее патогенез и в совокупности могут объяснить до 20–30% риска возникновения этого генетически гетерогенного заболевания головного мозга [4–8]. Однако специфические генетические и эпигенетические факторы, влияющие на процесс взаимодействия генотипа с внешней средой и связанные с данным мультифакторным заболеванием психики, до настоящего времени не определены. Поэтому вопрос о роли приобретенных (т.е. постзиготических или соматических) мутаций и патогенных вариаций генома, регулирующих процессы развития и функционирования головного мозга в ходе онтогенеза в норме и при психической патологии, остается открытым [9–12].

Ранее нами [12–15] была высказана гипотеза о возможной связи хромосомной (геномной) нестабильности и соматических вариаций генома в клетках головного мозга с патогенезом шизофрении. Применение молекулярных и цитогенетических технологий в исследованиях последних лет предоставило убедительные данные о том, что хромосомная нестабильность проявляется в форме соматических вариаций генома в клетках разных тканей, включая головной мозг. Например, анеуплоидия в нервных клетках ведет к крупномасштабным геномным изменениям (Large-scale Somatic Genomic Alteration — LSGA), которые вовлекают сотни и даже тысячи генов и в большинстве случаев негативно влияют на развитие и функционирование головного мозга [12, 15]. После разработки молекулярно-цитогенетических методов появилась возможность оценить уровень геномной нестабильности в клетках головного мозга в норме и при патологии [16–18]. Анализ частоты хромосомных мутаций непосредственно в аутопсийных образцах головного мозга в норме показал, что, по оценкам разных авторов [15–18], приблизительно 10–30% нервных клеток являются анеуплоидными. Наличие мозаичной анеуплоидии было зафиксировано нами в ряде случаев в клетках головного мозга больных шизофренией [9, 10]. Эти эмпирические находки позволили предположить, что повышенный уровень численных аномалий хромосом в нервных клетках может являться характерным признаком пораженного мозга при шизофрении. Повидимому, нарушение гомеостаза нервных клеток в результате геномной нестабильности (мозаичной анеуплоидии) может привести к манифестации заболевания. Таким образом, определение роли геномной нестабильности в клетках мозга при шизофрении может быть ключом к пониманию молекулярных механизмов психических нарушений и их связи с наследственными и экзогенными факторами [14, 15, 19]. Однако крупномасштабные спонтанные вариации соматического генома в виде LSGA и наличие мозаичных клонов анеуплоидных клеток в мозге при шизофрении мало изучены [7, 10].

Цель настоящего исследования — проверка гипотезы о патогенной роли хромосомной (геномной) нестабильности при генетически обусловленных заболеваниях ЦНС на основе исследования уровня мозаичной анеуплоидии в

клетках головного мозга индивидуумов без психической патологии и больных шизофренией.

Материал и методы

В настоящем исследовании применялись современные молекулярно-цитогенетические методы, основанные на флюоресцентной гибридизации *in situ* с ДНК пробам на различные хромосомы (FISH), специально разработанные для анализа анеуплоидии в соматических клетках различных тканей человека, в том числе постмортальных клетках головного мозга [15–17]. Аутопсийные образцы замороженной ткани из префронтальной коры головного мозга [10] обрабатывали в соответствии с протоколом, который был подробно описан ранее [18]. Применяли интерфазную флюоресцентную многоцветовую гибридизацию *in situ* (интерфазная MFISH) с использованием количественной FISH (QFISH) на аутопсийных препаратах клеток головного мозга.

Был изучен аутопсийный материал 15 случаев шизофрении и 15 контрольных образцов (норма).

Была использована оригинальная коллекция ДНК проб, описанная ранее [10, 16–18].

Препараты были пронумерованы и проанализированы в двойном слепом исследовании. Анализировали по 1000 клеток для каждой из шести пар исследованных хромосом 1, 9, 15, 16, 18, X и Y, а также каждого исследованного образца головного мозга в норме и при шизофрении. Для каждой пары исследованных хромосом было проанализировано по 15 000 нервных клеток в контроле и при шизофрении. Всего было проанализировано по 90 000 клеток в контроле и при шизофрении. Значение $p < 0,05$ считалось значимым (критерий Манна–Уитни, U-тест для независимых групп).

Результаты и обсуждение

Методом MFISH с QFISH была оценена частота анеуплоидии с вовлечением различных хромосом в клетках постмортальных образцов мозга (кора головного мозга, поля Бродмана 10, 17 и 24) в контроле и при шизофрении. Применение метода MFISH с ДНК-пробами на хромосомы 1, 9, 15, 16, 18, X и Y позволило нам определить относительную частоту анеуплоидных клеток головного мозга.

Анализ контрольных образцов показал, что частота анеуплоидии с вовлечением аутосом 1, 9, 15, 16, 18 варьировала в среднем от 0,31 до 0,46%, в то время как в случае половых хромосом эта величина составила 0,99% (табл. 1, А). Частота низкопроцентной анеуплоидии при 95% доверительном интервале варьировала в следующих пределах: 0,19–0,44% для хромосомы 1; 0,29–0,55% — 9; 0,26–0,61% — 15; 0,27–0,65% — 16; 0,25–0,71% — 18 и 0,60–1,38% — X и Y (см. рисунок на цветной вклейке). Случаи низкопроцентного мозаицизма в контроле с частотой выше 2,5% в расчете на одну пару гомологичных хромосом в данном исследовании не обнаружены.

При шизофрении относительная частота анеуплоидии с вовлечением аутосом 1, 9, 15, 16, 18 варьировала в среднем от 1,09 до 2,73%; в случае половых хромосом эта величина составила 2,42 (табл. 1, Б). Частота низкопроцентной анеуплоидии при 95% доверительном интервале варьировала в следующих пределах: 0,62–2,33% для хромосомы 1; 0,53–1,75% — 9; 0,64–1,53% — 15; 0,48–1,68%

Таблица 1. Относительная частота (в %) анеуплоидии в клетках головного мозга (префронтальная кора) в контроле (А) и при шизофрении (Б) после исследования MFISH

А. Контроль

№ хромосомы	Хромосомы (% анеуплоидии) (моносомия и трисомия)					
	1	9	15	16	18	X+Y
1	0,4	0,4	0,3	0,5	1,1	1,8
2	0,3	0,5	1,1	0,6	0,5	1,1
3	0,2	0	0,6	0,6	0,3	0,8
4	0,3	0,4	0,6	1,1	0,7	1,9
5	0,2	0,9	0,8	0,8	0,3	0,2
6	0,2	0,4	0,9	0	0,4	1,0
7	0,4	0,6	0,3	0,2	0,3	0,3
8	0,2	0,2	0,15	0,1	0,5	2,0
9	0,6	0,4	0,3	0,7	0,5	0,5
10	0,1	0,2	0,2	0,4	0	2,4
11	0,1	0,3	0,1	0	0,2	0,9
12	0,2	0,4	0	0,2	0,3	0,8
13	0,9	0,2	0,3	0,1	0,5	0,5
14	0,3	0,4	0,6	0,9	1,6	0,4
15	0,2	0,9	0,2	0,7	0	0,3
	Статистическая обработка					
№ хромосомы	1	9	15	16	18	X+Y
Число клеток в анализе	15 000	15 000	15 000	15 000	15 000	15 000
Медиана	0,2	0,4	0,3	0,5	0,4	0,8
95% доверительный интервал	0,19—0,44	0,29—0,55	0,26—0,61	0,27—0,65	0,25—0,71	0,60—1,38
Среднее значение (M)	0,31	0,42	0,43	0,46	0,48	0,99

Б. Шизофрения

№ хромосомы	Хромосомы (% анеуплоидии) (моносомия и трисомия)					
	1	9	15	16	18	X+Y
1	0,3	0,7	0,2	1,6	0,6	1,0
2	2,2	1,2	1,7	2,8	3,0	3,4
3	0	2,7	1,9	2,0	2,4	2,8
4	2,4	0	0,3	2,3	0,9	2,4
5	0,7	2,3	1,6	2,5	6,6	3,6
6	0,9	0,8	0,8	0,7	0	2,6
7	0,3	0,4	2,1	0,4	2,9	0,4
8	1,6	0,8	0,2	0,3	0,5	1,2
9	0,2	0,8	0,3	0	2,6	6,7
10	1,8	0,5	1,1	0	0,2	1,7
11	1,1	0,2	2,2	0	1,4	0,7
12	5,7	3,8	2,3	1,3	2,9	0,3
13	0,4	1,8	0,2	0	13,2	2,2
14	3,7	1,1	0,6	1,0	1,4	6,6
15	0,6	0,5	0,8	0,5	2,3	2,4
	Статистическая обработка					
№ хромосомы	1	9	15	16	18	X+Y
Число клеток в анализе	15 000	15 000	15 000	15 000	15 000	15 000
Медиана	0,9	0,8	0,8	0,7	2,3	2,4
95% доверительный интервал	0,62—2,33	0,59—1,75	0,64—1,53	0,48—1,58	0,88—4,75	1,28—3,58
Среднее значение (M)	1,47	1,17	1,09	1,03	2,73	2,42
Анализ выборки 150 00 клеток для контроля и выборки 15 000 клеток для шизофрении (значение критерия Манна—Уитни, U-тест для независимых групп)	$p < 0,0015$	$p < 0,008$	$p < 0,029$	$p > 0,269$	$p < 0,002$	$p < 0,008$

Примечание. Анализировали по 1000 клеток для каждой из шести пар исследованных хромосом 1, 9, 15, 16, 18, X и/или Y, а также каждого исследованного образца головного мозга в норме (n=15) и при шизофрении (n=15). Были проанализированы по 90 000 нервных клеток в контроле и при шизофрении. Значение p менее 0,050 считалось значимым (критерий Манна—Уитни, U-тест для независимых групп).

Таблица 2. Анализ анеуплоидии выборок из 90 000 клеток для контроля и 90 000 клеток для больных шизофренией (хромосомы 1, 9, 15, 16, 18, X/Y)

Исследуемый материал	Среднее значение (M)	Медиана	95% доверительный интервал
Контроль	0,54	0,53	0,41—1,31
Шизофрения	1,64	1,55	1,32—2,12

Примечание. Значение критерия Манна—Уитни, U-тест для двух независимых групп (контроль и шизофрения) $p=0,000013$.

— 16; 0,88—4,75% — 18 и 1,28—3,75% — X и Y. Случаи низкопроцентного мозаицизма при шизофрении с частотой выше 2,5% были отмечены для аутосом 1 (2 случая), 9 (2), 16 (2), 18 (6) и половых хромосом X и Y (6).

В результате проведенного исследования было установлено, что при шизофрении повышен уровень CIN, проявляющейся в виде мозаичной анеуплоидии как аутосом, так и половых хромосом (табл. 2). Анализ выборок по 15 000 клеток для каждой хромосомы во всех случаях контроля и при шизофрении выявил значительное увеличение частоты анеуплоидии для хромосом 1, 9, 15, 18 и половых хромосом X и Y. Значения критерия Манна—Уитни, U-тест для независимых групп составили $p<0,001$, $p<0,008$, $p<0,029$, $p<0,002$ для аутосом 1, 9, 15, 18 соответственно и $p<0,008$ для половых хромосом X и Y. В случае хромосомы 16 различий между контролем и шизофренией выявлено не было ($p>0,269$). Тем не менее анализ выборки 90 000 клеток в контроле и 90 000 0151 при шизофрении (группа хромосом 1, 9, 15, 16, 18, X и Y) выявил 3-кратное увеличение средней частоты анеуплоидии в клетках мозга больных шизофренией от 0,54 до 1,64% ($p=0,000013$) значение критерия Манна—Уитни, U-тест для независимых групп).

Обнаружение соматического хромосомного мозаицизма в значительной степени затруднено ограничениями разрешающей способности многих методов анализа [1—7, 19—29]. Обычно применяемый цитогенетический анализ — один из наиболее простых и часто используемых методов, однако он ограничен метафазным анализом большого числа клеток для его выявления. Молекулярное карiotипирование с помощью агау CGH является одним из наиболее высоко разрешающих методов выявления регулярных хромосомных микроперестроек, но позволяет обнаруживать мозаицизм в 20—30% клеток [14, 21, 22, 29]. Наличие клонов мозаичных клеток с более низкой частотой трудно оценить этим методом. Метод интерфазной FISH принято считать одним из самых подходящих для оценки межклеточных хромосомных изменений на уровне одной клетки при анализе огромного числа (сотни, тысячи и даже больше) интерфазных ядер [30, 31]. Тем не менее техника FISH зависит от возможных возникших артефактов, которые могут быть помехой в выявлении хромосомных делеций, дупликаций и других аномалий в клетке, включая анеуплоидию. Реальная частота низкоуровневой мозаичной анеуплоидии в соматических клетках трудно оценить по причине наложений и ассоциаций хромосом в интерфазном ядре, которые отражаются на числе FISH сигналов [18]. Чтобы избежать наличия возможных FISH артефактов как ложноположительных, так и ложноотрицательных, мы использовали несколько независимых подходов к выявлению аномалий хромосом: применение интерфазной MFISH и QFISH. Этот прием позволил определять анеуплоидию в клетках постмор-

тального мозга, при этом стало возможным добиться высокого результата в обнаружении анеуплоидии на уровне единичных клеток. Таким образом, настоящая работа определила пороговый уровень для фоновой (спонтанная) анеуплоидии в головном мозге взрослого человека в норме, который составил около 2—2,5%. Более того, эти данные дают новые возможности для обнаружения аномальных вариантов уровня анеуплоидии, которые могут быть причиной нарушения функций мозга при различных заболеваниях.

Ранее репрезентативные исследования низкоуровневой мозаичной анеуплоидии при психической патологии в других тканях, помимо мозга (культивированные лимфоциты), были проведены для двух психических расстройств: аутизм и болезнь Альцгеймера (БА) [23—26]. Было показано [23], что у 19 (16%) из 116 детей с идиопатическим аутизмом в клетках крови наблюдается низкоуровневая мозаичная анеуплоидия хромосом X, 9, 15 и 18. Существуют данные [24, 25], полученные обычным цитогенетическим методом с использованием культивированных лимфоцитов, о том, что частота клеток с трисомией хромосомы 21 увеличивается при БА. Целенаправленные исследования анеуплоидии с вовлечением хромосомы 21 при БА впервые с помощью FISH были проведены нами. Получены данные о том, что численный дисбаланс хромосом в нейронах головного мозга при БА может быть вовлечен в патогенез этого нейродегенеративного заболевания [25]. Анеуплоидии большинства хромосом являются редкими хромосомными аномалиями, порой несовместимыми с жизнью. Например, низкоуровневый мозаицизм в мозге по хромосоме 1 был ранее описан нами, но никогда не был зарегистрирован с помощью обычных цитогенетических методов в клетках крови у пациентов с шизофренией [10, 11]. Можно предположить, что, если данные относительного увеличения уровня анеуплоидии будут подтверждены на лимфоцитах у пациентов с шизофренией, то технология FISH, возможно, станет простым методом для лабораторной диагностики предрасположенности к данному заболеванию, как в случае с БА [25, 26].

Принято считать, что большая часть клеток во взрослом головном мозге сформирована из клеток предшественников нейронов и глии, образованных в основном в течение внутриутробного развития и первые годы жизни после рождения. Анеуплоидия в клетках головного мозга также, возможно, формируется во время раннего развития ЦНС. Исследование анеуплоидии в развивающемся мозге показало, что 30—35% всех нервных клеток были анеуплоидными [20]. Более того, было обнаружено, что мозаицизм клеточных линий с участием разных хромосом (низкий уровень мозаицизма) ограничен исключительно развивающимся мозгом [20]. Число анеуплоидных клеток сокращается в 3 раза на протяжении эмбриогенеза и приближается к 10% в нормальном мозге человека [13—15].

При этом выявленная хромосомная нестабильность в клетках эмбриона из-за «случайных» хромосомных мутаций является нормальным явлением в процессе онтогенеза. Однако некоторые нейрональные и глиальные анеуплоидные клетки могут сохраняться в онтогенезе и остаться во взрослом мозге. Эти данные позволяют предположить, что хромосомная нестабильность, регистрируемая в сформировавшемся мозге человека, является продуктом раннего развития и, следовательно, наблюдается причинно-следственная связь с гипотезой о шизофрении и развитии нервной системы. Однако мы не можем полностью исключить, что нервные клетки могут образовываться в уже сформировавшемся головном мозге и анеуплоидизация является поздним явлением, связанным с его старением. Анеуплоидия соматических клеток может быть вызвана таким экологическим фактором, как экзогенное влияние мутагенов, вирусов, различных инфекций и, возможно, лекарственных препаратов. Кроме того, естественные процессы старения также могут привести к мозаичной анеуплоидии [31]. Однако предположение о том, что эти экзогенные факторы участвуют в патогенезе шизофрении, по-видимому, предварительно и нуждается в экспериментальной проверке. Следовательно, чтобы ответить на вопрос о роли генетических и экзогенных факторов в поддержании повышенного уровня мозаичной анеуплоидии в пораженном мозге, необходимы интенсивные исследования в нейрогеномике психических болезней в целом и шизофрении в частности.

Таким образом, гипотеза о возможной связи геномной нестабильности и шизофрении, предложенная нами ранее [12, 15], нашла экспериментальное подтверждение в данном исследовании. Свидетельства о повышенном уровне мозаичной анеуплоидии в пораженном мозге при шизофрении могут быть использованы в качестве основы для дальнейшего анализа роли генетической нестабильности, проявляющейся в виде анеуплоидии в головном мозге, при других психических заболеваниях, например

аутизме. Можно предположить, что наличие повышенного уровня анеуплоидных нейронов в головном мозге с частотой выше, чем случайный фоновый уровень, может приводить к повышенной «генетической» нагрузке постзиготических CNV на нейрональный геном и негативно влиять на нормальное функционирование мозга [31–33].

Возможно, что при средней частоте спонтанной анеуплоидии около 1,5% в расчете на хромосому интегральная величина низкопроцентной анеуплоидии в расчете на весь геном (т.е. 23 пары хромосом) составит 30–40%. Следовательно, мозаичная низкоуровневая анеуплоидия может являться неизвестной формой патогенных мозаичных LSGA. Кроме того, высокая частота спорадических хромосомных мутаций в головном мозге больных шизофренией позволяет обоснованно предположить, что низкоуровневая мозаичная анеуплоидия — это отличительная черта геномных нарушений при психической патологии. Свидетельства о геномной (хромосомная) нестабильности, проявляющейся в виде мозаичной анеуплоидии, позволяют подтвердить гипотезу о патогенной роли межклеточных геномных вариаций в пораженном мозге при шизофрении. Наконец, в перспективе, эти данные являются весомым аргументом для планирования исследовательских проектов с целью последующего анализа трудноуловимых геномных вариаций и изменений генома при других психических расстройствах на клеточном и молекулярном уровнях.

Исследование генетической нестабильности в постморальных клетках головного мозга при психических заболеваниях (шизофрения и заболевания аутистического спектра) осуществлено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант №14-35-00060).

Исследование вариаций хромосом в контрольной группе частично выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-15-00411).

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

- Conrad DF, Pinto D, Redon R, Feuk L, Gokcumen O, Zhang Y, Aerts J, Andrews TD, Barnes C, Campbell P, Fitzgerald T, Hu M, Ihm CH, Kristiansson K, MacArthur DG, Macdonald JR, Onyiah I, Pang AW, Robson S, Stirrups K, Valsesia A, Walter K, Wei J. Wellcome Trust Case Control Consortium, Tyler-Smith C., Carter N.P., Lee C., Scherer S.W., Hurles M.E. Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature*. 2010;464:704–712.
doi: 10.1038/nature08516
- Girirajan S, Campbell CD, Eichler EE. Human copy number variation and complex genetic disease. *Annual Review of Genetics*. 2011;45:203–226.
doi: 10.1146/annurev-genet-102209-163544
- Xu B, Roos JL, Levy S, van Rensburg EJ, Gogos JA, Karayiorgou M. Strong association of *de novo* copy number mutations with sporadic schizophrenia. *Nature Genetics*. 2008;40:880–885.
doi: 10.1038/ng.162
- Malhotra D, McCarthy S, Michaelson JJ, Vacic V, Burdick KE, Yoon S, Cichon S, Corvin A, Gary S, Gershon ES, Gill M, Karayiorgou M, Kelsoe JR, Kratoshevsky O, Krause V, Leibenluft E, Levy DL, Makarov V, Bhandari A, Malhotra AK, McMahon FJ, Nöthen MM, Potash JB, Rietschel M, Schulze TG, Sebat J. High frequencies of *de novo* CNVs in bipolar disorder and schizophrenia. *Neuron*. 2011;72:951–963.
doi: 10.1016/j.neuron.2011.11.007
- Rees E, Moskvina V, Owen MJ, O'Donovan MC, Kirov G. *De novo* rates and selection of schizophrenia-associated copy number variants. *Biological Psychiatry*. 2011;70:1109–1114.
doi: 10.1016/j.biopsych.2011.07.011
- Kirov G, Pocklington AJ, Holmans P, Ivanov D, Ikeda M, Ruderfer D, Moran J, Chambert K, Toncheva D, Georgieva L, Grozeva D, Fjodorova M, Wollerton R, Rees E, Nikolov I, van de Lagemaat LN, Bayés A, Fernandez E, Olason PI, Böttcher Y, Komiyama NH, Collins MO, Choudhary J, Stefansson K, Stefansson H, Grant SG, Purcell S, Sklar P, O'Donovan MC, Owen MJ. *De novo* CNV analysis implicates specific abnormalities of postsynaptic signalling complexes in the pathogenesis of schizophrenia. *Molecular Psychiatry*. 2012;17:142–153.
doi: 10.1038/mp.2011.154
- Miwako Sakai, Yuichiro Watanabe, Toshiyuki Someya, Kazuaki Araki, Masako Shibuya, Kazuhiro Niizato, Kenichi Oshima, Yasuto Kunii, Hirooki Yabe, Junya Matsumoto, Akira Wada, Mizuki Hino, Takeshi Hashimoto, Akitoyo Hishimoto, Noboru Kitamura, Shuji Iritani, Osamu Shirakawa, Kiyoshi Maeda, Akinori Miyashita, Shin-ichi Niwa, Hitoshi Takahashi, Akiyoshi Kakita, Ryoza Kuwano, Hiroyuki Nawa. Assessment of copy number variations in the brain genome of schizophrenia patients. *Molecular Cytogenetics*. 2015;8:46.
doi: 10.1186/s13039-015-0144-5
- Тиганов А.С., Юров Ю.Б., Ворсанова С.Г., Юров И.Ю. Нестабильность генома головного мозга: этиология, патогенез и новые биологические маркеры психических болезней. *Вестник Российской Академии медицинских наук*. 2012;9:45–53.
doi: 10.15690/vramn.v67i9.406
- Yurov YB., Vostrikov VM, Vorsanova SG, Monachov VV, Iourov IY. Multicolor fluorescent *in situ* hybridization on post-mortem brain in schizophrenia as an approach for identification of low-level chromosomal aneu-

- ploidy in neuropsychiatric diseases. *Brain & Development*. 2001;23(1):186-190.
doi: 10.1016/s0387-7604(01)00363-1
10. Yurov YuB, Iourov IYu, Vorsanova SG, Demidova IA, Kravetz VS, Beresheva AK, Kolotii AD, Monakhov VV, Uranova NA, Vostrikov VM, Soloviev IV, Liehr T. The schizophrenia brain exhibits low-level aneuploidy involving chromosome 1. *Schizophrenia Research*. 2008;98:1-3:137-147.
doi: 10.1016/j.schres.2007.07.035
 11. Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. Хромосомные аномалии при шизофрении. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2006;106:3:75-82.
 12. Iourov IYu, Vorsanova SG, Yurov YuB. Chromosomal variation in mammalian neuronal cells: known facts and attractive hypotheses. *International Review of Cytology*. 2006;249:143-191.
doi: 10.1016/s0074-7696(06)49003-3
 13. Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. Молекулярная нейрцитогенетика: нестабильность генома в мозге при психических заболеваниях. *Психиатрия*. 2007;4(28):36-43.
 14. Iourov IYu, Vorsanova SG, Yurov YuB. Molecular cytogenetics and cytogenomics of brain diseases. *Current Genomics*. 2008;9:452-465.
doi: 10.2174/138920208786241216
 15. Iourov IYu, Vorsanova SG, Yurov YuB. *Interphase chromosomes of the human brain: the biological and clinical meaning of neural aneuploidy*. In: Human Interphase Chromosomes (Biomedical Aspects). Edited by Yurov Yu.B., Vorsanova S.G., Iourov I.Yu. Springer. New York, Heidelberg, Dordrecht, London. 2013;53-83.
 16. Vorsanova SG, Yurov YB, Iourov IY. *Technological solutions in human interphase cytogenetics*. In: Human Interphase Chromosomes (Biomedical Aspects). Edited by Yurov Yu.B., Vorsanova S.G., Iourov I.Y. Springer. New York, Heidelberg, Dordrecht, London. 2013;179-203.
 17. Iourov IYu, Liehr T, Vorsanova SG, Yurov YuB. Interphase chromosome-specific multicolor banding (ICS-MCB): a new tool for analysis of interphase chromosomes in their integrity. *Biomolecular Engineering*. 2007;24:4:415-417.
doi: 10.1016/S0387-7604(01)00363-1
 18. Iourov IYu, Soloviev IV, Vorsanova SG, Monakhov VV, Yurov YuB. An approach for quantitative assessment of fluorescence *in situ* hybridization (FISH) signals for applied human molecular cytogenetics. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2005;53(3):401-408.
doi: 10.1369/jhc.4a6419.2005
 19. Erickson RP. Somatic gene mutation and human disease other than cancer: an update. *Mutation Research*. 2010;705:96-106.
doi: 10.1016/j.mrrev.2010.04.002
 20. Yurov YuB, Iourov IYu, Vorsanova SG, Liehr T, Kolotii AD, Kutsev SI, Pelletor F, Beresheva AK, Demidova IA, Kravets VS, Monakhov VV, Soloviev IV. Aneuploidy and confined chromosomal mosaicism in the developing human brain. *PLoS One*. 2007;2:558.
doi: 10.1371/journal.pone.0000558
 21. Piotrowski A, Bruder CE, Andersson R, Diaz de Ståhl T, Menzel U, Sandgren J, Poplawski A, von Tell D, Crasto C, Bogdan A, Bartoszewski R, Bebok Z, Krzyzanowski M, Jankowski Z, Partridge EC, Komorowski J, Dumanski JP. Somatic mosaicism for copy number variation in differentiated human tissues. *Human Mutation*. 2008;29:1118-1124.
doi: 10.1002/humu.20815
 22. De S. Somatic mosaicism in healthy human tissues. *Trends in Genetics*. 2011;27:217-223.
doi: 10.1016/j.tig.2011.03.002
 23. Yurov YuB, Vorsanova SG, Iourov IYu, Demidova IA, Beresheva AK, Kravetz VS, Monakhov VV, Kolotii AD, Voinova-Ulas VY, Gorbachevskaya NL. Unexplained autism is frequently associated with low-level mosaic aneuploidy. *Journal of Medical Genetics*. 2007;44(8):521-525.
doi: 10.1136/jmg.2007.049312
 24. Mosch B, Morawski M, Mittag A, Lenz D, Tarnok A, Arendt T. Aneuploidy and DNA replication in the normal human brain and Alzheimer's disease. *Journal Neuroscience*. 2007;27:6859-6867.
doi: 10.1523/JNEUROSCI.0379-07.2007
 25. Iourov IYu, Vorsanova SG, Liehr T, Yurov YuB. Aneuploidy in the normal, Alzheimer's disease and ataxia-telangiectasia brain: differential expression and pathological meaning. *Neurobiology Disease*. 2009;34:212-220.
doi: 10.1016/j.nbd.2009.01.003
 26. Iourov IYu, Vorsanova SG, Liehr T, Kolotii AD, Yurov YuB. Increased chromosome instability dramatically disrupts neural genome integrity and mediates cerebellar degeneration in the ataxia-telangiectasia brain. *Human Molecular Genetics*. 2009;18:2656-2669.
doi: 10.1093/hmg/ddp207
 27. Bundo M, Toyoshima M, Okada Y, Akamatsu W, Ueda J, Nemoto-Miyauchi T, Sunaga F, Toritsuka M, Ikawa D, Kakita A, Kato M, Kasai K, Kishimoto T, Nawa H, Okano H, Yoshikawa T, Kato T, Iwamoto K. Increased L1 retrotransposition in the neuronal genome in schizophrenia. *Neuron*. 2014;81:306-313.
doi: 10.1016/j.neuron.2013.10.053
 28. Singer T, McConnell MJ, Marchetto MC, Coufal NG, Gage FH. LINE-1 retrotransposons: mediators of somatic variation in neuronal genomes? *Trends Neuroscience*. 2010;33:345-354.
doi: 10.1016/j.tins.2010.04.001
 29. Mkrtchyan H, Gross M, Hinreiner S, Polytko A, Manvelyan M, Mrasek K, Kosyakova N, Ewers E, Nelle H, Liehr T, Bhatt S, Thoma K, Gebhart E, Wilhelm S, Fahsold R, Volleth M, Weise A. The human genome puzzle — the role of copy number variation in somatic mosaicism. *Current Genomics*. 2010;11:426-431.
doi: 10.2174/138920210793176047
 30. Iourov IYu, Vorsanova SG, Yurov YuB. Single cell genomics of the brain: focus on neuronal diversity and neuropsychiatric diseases. *Current Genomics*. 2012;13:477-488.
doi: 10.2174/138920212802510439
 31. Iourov IYu, Vorsanova SG, Yurov YuB. Somatic cell genomics of brain disorders: a new opportunity to clarify genetic-environmental interactions. *Cytogenetic and Genome Research*. 2013;139:181-188.
doi: 10.1159/000347053
 32. Purcell SM, Moran JL, Fromer M, Ruderfer D, Solovieff N, Roussos P, O'Dushlaine C, Chambert K, Bergen SE, Kähler A, Duncan L, Stahl E, Genovese G, Fernández E, Collins MO, Komiyama NH, Choudhary JS, Magnusson PK, Banks E, Shakir K, Garimella K, Fennell T, DePristo M, Grant SG, Haggarty SJ, Gabriel S, Scolnick EM, Lander ES, Hultman CM, Sullivan PF, McCarroll SA, Sklar P. A polygenic burden of rare disruptive mutations in schizophrenia. *Nature*. 2014;506:185-190.
doi: 10.1038/nature12975
 33. Pidsley R, Viana J, Hannon E, Spiers HH, Troakes C, Al-Saraj S, Mecharwar N, Turecki G, Schalkwyk LC, Bray NJ, Mill J. Methylomic profiling of human brain tissue supports a neurodevelopmental origin for schizophrenia. *Genome Biology*. 2014;15:483.
doi: 10.1186/preaccept-1621721621132088