

Комплексный подход к изучению структуры и происхождения дериватной хромосомы 8

Юрченко Д.А., Миньженкова М.Е., Маркова Ж.Г., Дадали Е.Л., Шилова Н.В.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, РФ, Москва, ул. Москворечье, д.1

Введение. Дериватная хромосома (der) – структурно аномальная хромосома, формирование которой может происходить как в результате перестроек с участием двух и более нехомологичных хромосом, так и вследствие aberrаций внутри одной хромосомы. Дифференциальная диагностика дериватных хромосом очень важна для выяснения происхождения хромосомной аномалии и для определения тактики медико-генетического консультирования с целью оценки повторного риска рождения ребенка с хромосомным дисбалансом. В данной работе представлены семь случаев дериватной хромосомы 8, имеющих различное происхождение и механизмы формирования, а также протокол обследования пациентов с дериватной хромосомой 8 в кариотипе.

Цель: изучить структуру и механизмы формирования дериватных хромосом 8.

Методы: стандартное цитогенетическое исследование, M-FISH, MCB8, FISH с локус-специфичными субтеломерными ДНК-зондами, FISH с несерийными ДНК-зондами на район p23.1 хромосомы 8.

Результаты. В результате проведенного стандартного цитогенетического исследования в кариотипе семи неродственных пробандов была обнаружена дериватная хромосома 8. При использовании цитогенетического и молекулярно-цитогенетического подходов было установлено, что у четырех пациентов дериватная хромосома 8 возникла в результате инвертированной дупликации/делеции 8p, а у трех – несбалансированной транслокации с участием хромосомы 8: der(8)t(8;17), der(8)t(8;12) и der(8)t(7;8). Во всех случаях был определен механизм формирования хромосомных перестроек. Дериватные хромосомы транслокационного происхождения в двух случаях были сформированы *de novo*, а в одном случае – как результат патологической мейотической сегрегации отцовской реципрокной транслокации. Все дериватные хромосомы с инвертированной дупликацией/делацией 8p были следствием эктопической рекомбинации.

Заключение. Представленные результаты демонстрируют целесообразность комплексного лабораторного подхода в изучении структуры и происхождения дериватной хромосомы 8. Характеристика происхождения хромосомного дисбаланса является неотъемлемой частью обследования пациентов со структурно аномальной хромосомой 8 в кариотипе.

Ключевые слова: дериватная хромосома 8, транслокация, inv dup del(8p), FISH.

Для цитирования: Юрченко Д.А., Миньженкова М.Е., Маркова Ж.Г., Дадали Е.Л., Шилова Н.В. Комплексный подход к изучению структуры и происхождения дериватной хромосомы 8. *Медицинская генетика* 2021; 20(6): 41-50.

DOI: 10.25557/2073-7998.2021.06.41-50

Автор для корреспонденции: Юрченко Дарья; e-mail: dashalbv@mail.ru

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-315-90061.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 23.05.2021.

Complex approach to the study of the Derivative Chromosome 8

Yurchenko D.A., Minzhenkova M.E., Markova Zh.G., Dadali E.L., Shilova N.V.

Research Centre for Medical Genetics,
Moskvorechie str.1, Moscow, 115522, Russian Federation

Background. Derivative chromosome (der) is a structurally abnormal chromosome, the formation of which can occur as a result of rearrangements with the participation of two or more non-homologous chromosomes, or be the result of aberrations within one chromosome. Differential diagnosis of derivative chromosomes is very important for clarifying the origin of the chromosomal abnormality and for determining the tactics of medical genetic counseling in order to assess the repeated risk of chromosomal imbalance. This work presents seven cases of a derivative chromosome with different origins and mechanisms of formation, as well as a protocol for examining patients with derivative chromosome 8 in the karyotype.

Aim: to study the structure and mechanisms of formation of the derivative chromosome 8.

Methods. GTG-banded chromosomal analysis, M-FISH, MCB8, FISH with subtelomeric DNA probes, FISH with home-made DNA probes for 8p23.1.

Results. As a result of a conventional cytogenetic study of seven unrelated probands a derivative chromosome 8 was found. In all cases, the mechanism of the formation of chromosomal rearrangements was determined. Derivative chromosomes of translocation origin were formed *de novo* in two cases- der(8)t(8;12) and der(8)t(7;8), and in one case – der(8)t(8;17) – as a result of malseg-

regation of the paternal reciprocal translocation. In the remaining four cases, the derivative chromosomes were identified as an inverted duplication/deletion 8p due to ectopic recombination.

Conclusion. The presented results demonstrate the feasibility of an integrated laboratory approach in the diagnosis of derivative chromosome 8. Characterization of the origin of chromosomal imbalance is an integral part of the examination of patients with structurally abnormal chromosome 8 in the karyotype.

Keywords: derivative chromosome 8, translocation, inv dup del(8p), FISH.

For citation: Yurchenko D.A., Minzhenkova M.E., Markova Zh.G., Dadali E.L., Shilova N.V. Complex approach to the study of the Derivative Chromosome 8. *Meditsinskaya genetika [Medical genetics]* 2021; 20(6): 41-50. (In Russian).

DOI: 10.25557/2073-7998.2021.06. 41-50

Corresponding author: Darya A. Yurchenko; **e-mail:** dashalbv@mail.ru

Funding. The reported study was funded by RFBR, project number 20-315-90061.

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

Accepted: 23.05.2021.

Введение

Дериватная хромосома (der) – структурно аномальная хромосома, формирование которой может происходить как в результате перестройки с участием двух и более негомологичных хромосом, так и быть следствием aberrаций внутри одной хромосомы [1]. Наиболее частой причиной формирования дериватных хромосом является транслокация, когда в хромосомную перестройку вовлечены терминальные участки двух или более негомологичных хромосом. Наличие в кариотипе одной дериватной хромосомы свидетельствует о несбалансированном варианте транслокации. Так, например, дериватная хромосома 8 может формироваться вследствие патологической мейотической сегрегации родительской реципрокной транслокации между хромосомой 8 и другими хромосомами. Реципрокная транслокация – одна из самых частых структурных хромосомных перестроек с частотой в популяции 0,08-0,3% [2]. Частота транслокаций с участием хромосомы 8 точно неизвестна, поскольку точки разрывов могут возникать на хромосоме 8 повсеместно и каждая транслокация является уникальной. Тем не менее, описаны рекуррентные транслокации, вовлекающие хромосому 8 – t(4;8)(p16;p23.1), t(8;22)(q24.1;q11.2), когда разрывы на хромосомах возникают в «горячих точках» нестабильных АТ-богатых палиндромных последовательностей ДНК, локализованных в определенных районах короткого и длинного плеч хромосомы 8 [3, 4]. Важно подчеркнуть, что носители сбалансированных транслокаций имеют повышенный риск рождения ребенка с хромосомным дисбалансом, спонтанного прерывания беременности и бесплодия вследствие особенностей мейотической сегрегации реципрокных транслокаций [5].

Несбалансированные транслокации могут также возникать *de novo* вследствие неаллельной гомологич-

ной рекомбинации или так называемого «fold-back» механизма [6].

В некоторых случаях происхождение дериватной хромосомы обусловлено более чем одной перестройкой внутри хромосомы 8. Наиболее ярким примером дериватной хромосомы с вовлечением короткого плеча хромосомы 8 является инвертированная дупликация со смежной терминальной делецией 8p – inv dup del(8p), частота встречаемости которой составляет 1/10000-1/30000 новорожденных [7].

С развитием молекулярных и молекулярно-цитогенетических методов исследования, в том числе, внедрением в клиническую практику метода хромосомного микроматричного анализа, изменилось представление о механизмах формирования многих хромосомных перестроек, в том числе и инвертированных дупликаций/делеций [8,9]. Геномный/хромосомный дисбаланс в случаях inv dup del(8p) представлен терминальной делецией и инвертированной смежной интерстициальной дупликацией, локализованными в коротком плече одного из гомологов хромосомы 8 [7]. Такие перестройки формируются в результате двух последовательных событий, из которых первым и обязательным является формирование симметричной дицентрической хромосомы, в которой, вследствие функциональной нестабильности, возникают разрывы, что приводит к образованию моноцентрической хромосомы с инвертированной дупликацией со смежной делецией и хромосомы с терминальной делецией [11]. Основными механизмами образования дицентрической хромосомы 8 являются эктопическая рекомбинация и U-тип обмена [12, 13]. Первый механизм встречается чаще, в этом случае между районами делеции и дупликации при микроматричном анализе обнаруживается не вовлеченный в дисбаланс участок дисомии – спейсер, размер которого, чаще всего, не превышает

ет 5,5 млн п.н. [7, 10]. Формирование инвертированных дупликаций/делеций 8p вследствие U-типа обмена происходит по механизму «разрыв-слияние-мост», в результате которого спейсер не образуется [10,11,12]. Определить механизм формирования inv dup del(8p), используя только стандартное цитогенетическое исследование и FISH-диагностику с коммерческими ДНК зондами, невозможно.

Целью настоящей работы стало изучение структуры и механизмов формирования дериватной хромосомы 8 в различных случаях, а также разработка протокола молекулярно-цитогенетического обследования пациентов с дериватной хромосомой 8 в кариотипе.

Методы

Цитогенетическое исследование семи пробандов и их родителей проводили на хромосомных препаратах из культуры лимфоцитов периферической крови (GTG-окраска) и выполняли по стандартным протоколам. Многоцветную FISH проводили с наборами mFISH (24Xyte- MetaSystems 24 color kit), mBAND 8, Xyte8, (MetaSystems, Германия) по протоколам фирмы-производителя. FISH с локус-специфичными ДНК-зондами на субтеломерные районы хромосом, меченые различными флуорохромами (SubTelomere pter – Spectrum Green (SpG); SubTelomere qter – Spectrum Orange (SpO), Kreatech, Нидерланды), осуществляли по протоколам фирм производителей. Денатурацию и гибридизацию проводили с использованием гибридизационной системы «ThermoBrite» (Abbot Molecular, США). Для контрокрашивания хромосом использовали флуоресцентный краситель DAPI. Анализ гибридизации проводили на эпифлуоресцентном микроскопе «AxioImager M.1» (Carl Zeiss, Германия) с соответствующим набором светофильтров и использованием компьютерной программы обработки цифровых изображений «Isis» (MetaSystems, Герма-

ния). Кариотипы указаны в соответствии с международной цитогенетической номенклатурой [1].

Для определения механизма формирования хромосомного дисбаланса при инвертированных дупликациях/делециях короткого плеча хромосомы 8 был использован метод метафазной FISH с разработанными ранее двумя несерийными ДНК-зондами на регион 8p23.1 размерами 30 т.п.н. (chr8 (hg19):8,145,883–8,175,123 и chr8 (hg19): 11,612,228–11,642,422), полученными методом ПЦР длинных фрагментов и мечеными в реакции nick-трансляции различными флуорохромами (рис. 1) [14].

Длины транслоцированных сегментов хромосом 8 и 17, а также длины короткого плеча хромосомы 8 и длинного плеча хромосомы 17 измерялись в миллионах пар нуклеотидов (млн п.н.) в соответствии с положением о цитогенетических бэндах на физической карте генома человека (assembly 19) геномного браузера UCSC [15].

Результаты и обсуждение

Результаты стандартного цитогенетического и молекулярно-цитогенетического исследований семи пробандов с der(8) представлены в таблице. Кариотипирование было проведено в связи с отставанием в развитии и наличием микроаномалий. При исследовании родителей во всех случаях, за исключением случая 1, был обнаружен нормальный кариотип. В случае 1 у отца пробанда была выявлена реципрокная транслокация 46,XY,t(8;17)(p23;q23) (рис. 2Б), что позволило определить кариотип пробанда как 46,XY,der(8)t(8;17)(p23;q23)pat (рис. 2А). Таким образом, в этом случае дериватная хромосома 8 была сформирована вследствие патологической мейотической сегрегации отцовской транслокации по совместному-1 типу.

Семейное носительство реципрокных транслокаций является классическим показанием для пренатальной цитогенетической или молекулярно-ци-

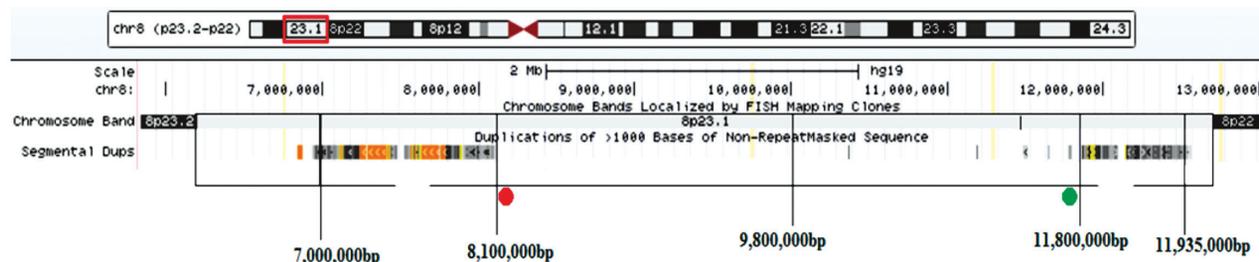


Рис. 1. Схема расположения несерийных ДНК-зондов в районе p23.1 хромосомы 8:

дистальный ДНК-зонд – chr8 (hg19):8,145,883–8,175,123 (TexRed) и проксимальный ДНК-зонд – chr8 (hg19): 11,612,228–11,642,422 (SpGreen).

тогенетической диагностики из-за риска повторного рождения ребенка с несбалансированным кариотипом и, вследствие этого, с аномалиями развития. Эмпирический повторный риск оценить очень непросто, учитывая, что, как правило, невозможно получить и проанализировать родословную нескольких поколений семьи с носительством реципрокной транслокации. При компромиссном подходе для расчета риска рождения больного ребенка у носителя конкретной транслокации учитываются такие критерии как оценка конфигурации пахитенного квадрилента, определение типа патологической сегрегации, приводящего к наименьшему геномному дисбалансу, оценка жизнеспособности зигот при таком дисбалансе и установленные частоты (вероятности) формирования таких зигот [16, 17]. Было также показано, что такой критерий как терминальность точек разрывов на хромосомах, вовлеченных в транслокацию, основанный на относительном размере транслоцированного сегмента, ассоциирован с риском рождения жизнеспособного ребенка с пороками развития и/или хромосомным дисбалансом. Шансы рождения такого ребенка в 6 раз выше при носительстве реципрокных транслокаций, в которых хотя бы один из дериватов имеет терминальную точку разрыва (0,2 и менее размера соответствующего плеча хромосомы) по сравнению с транслокациями, в которых точки разрывов не являются терминальными [18].

В данном случае, для оценки терминальности расположения точек разрывов в $t(8;17)(p23;q23)$ бы-

ло определено соотношение длины транслоцированного сегмента $8p23 \rightarrow rter$ к длине короткого плеча хромосомы 8, а также соотношение длины транслоцированного сегмента $17q23 \rightarrow qter$ к размеру длинного плеча хромосомы 17.

Для хромосомы 8 это соотношение составило 0,14, для хромосомы 17 – 0,4. Таким образом, терминальное расположение точки разрыва на хромосоме 8 значительно повышает вероятность рождения ребенка с аномальным кариотипом. С учетом асимметричности пахитенного квадрилента при $t(8;17)(p23;q23)$ повторный риск рождения ребенка с хромосомным дисбалансом оценивается выше, чем средний, что важно учитывать при медико-генетическом консультировании данной семьи.

Для тех случаев, в которых у родителей не было установлено носительства хромосомной перестройки с участием хромосомы 8, пробандам была выполнена многоцветная FISH (M-FISH). В случаях 2 и 3 удалось идентифицировать транслокацию с участием хромосомы 8 (рис. 3А,Б). Метафазный FISH-анализ с ДНК-зондами на субтеломерные районы коротких и длинных плеч соответствующих идентифицированных хромосом установил вовлеченность в хромосомный дисбаланс короткого плеча хромосомы 12 в случае 2 и длинного плеча хромосомы 7 в случае 3 (рис. 3В). Точки разрыва устанавливали при повторном цитогенетическом исследовании хромосомных препаратов пробандов. При ревизии

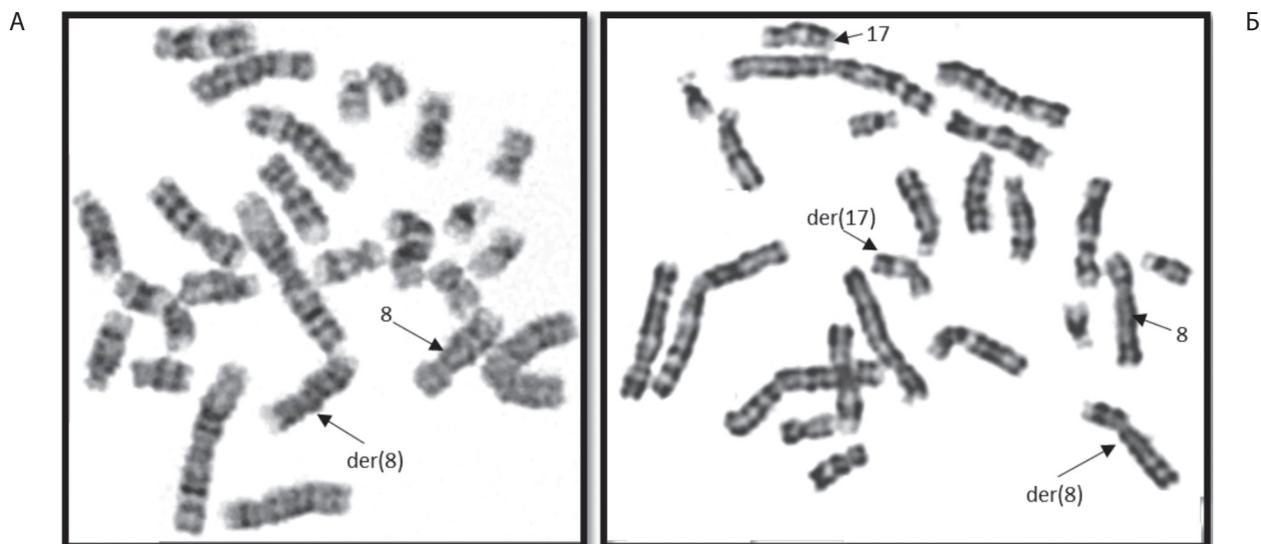


Рис. 2. Результаты стандартного цитогенетического исследования в случае 1 (таблица).

А – фрагмент метафазной пластинки пробанда с $der(8)t(8;17)(p23;q23)$.

Б – фрагмент метафазной пластинки отца пробанда $t(8;17)(p23;q23)$.

дифференциально окрашенных хромосом на уровне 550 бэндов с учетом данных, полученных при молекулярно-цитогенетическом исследовании, кариотипы

определены как 46,XY,der(8)t(8;12)(p12;q23)dn в случае 2 и 46,XY,der(8)t(7;8)(q22;p21)dn в случае 3. Учитывая спорадический характер возникновения транс-

Таблица

Диагностика и происхождение хромосомного дисбаланса в семи случаях у пациентов с der(8)

Случаи	Результат стандартного цитогенетического исследования	Кариотипы родителей	Результат FISH – исследования	Заключительный диагноз	Происхождение хромосомного дисбаланса
Случай 1	46,XY,der(8)	мать: 46,XX отец: 46,XY,t(8;17)(p23;q23)	–	Несбалансированная транслокация 46,XY,der(8)t(8;17)(p23;q23)pat	Патологическая мейотическая сегрегация отцовской реципрокной транслокации 46,XY,t(8;17)(p23;q23) по совместному-1 типу
Случай 2	46,XY,der(8)	мать: 46,XX отец: 46,XY	M-FISH: профиль гибридизации материала на коротком плече хромосомы 8 соответствует материалу хромосомы 12. FISH subtel(12q):ish subtel(12q)x3	Несбалансированная транслокация 46,XY,der(8)t(8;12)(p12;q23)dn	<i>de novo</i>
Случай 3	46,XY,der(8)	мать: 46,XX отец: 46,XY	M-FISH: профиль гибридизации материала на коротком плече хромосомы 8 соответствует материалу хромосомы 7. FISH subtel(7q):ish subtel(7q)x3	Несбалансированная транслокация 46,XY,der(8)t(7;8)(q22;p21)dn	<i>de novo</i>
Случай 4	46,XY,der(8)	мать: 46,XX отец: 46,XY	M-FISH: профиль гибридизации материала на коротком плече хромосомы 8 соответствует материалу хромосомы 8. FISH subtel(8p):ish subtel(8p)x1 mBAND8: обнаружена дупликация района p21.3-p23.2	Инвертированная дупликация со смежной терминальной делецией короткого плеча хромосомы 8	Вследствие эктопической рекомбинации
Случай 5	46,XX,der(8)	мать: 46,XX отец: 46,XY	M-FISH: профиль гибридизации материала на коротком плече хромосомы 8 соответствует материалу хромосомы 8. FISH subtel(8p):ish subtel(8p)x1 mBAND8: обнаружена дупликация района p21.3-p23.3	Инвертированная дупликация со смежной терминальной делецией короткого плеча хромосомы 8	Вследствие эктопической рекомбинации
Случай 6	46,XX,der(8)	мать: 46,XX отец: 46,XY	M-FISH: профиль гибридизации материала на коротком плече хромосомы 8 соответствует материалу хромосомы 8. FISH subtel(8p):ish subtel(8p)x1 mBAND8: обнаружена дупликация района p21.3-p23.2	Инвертированная дупликация со смежной терминальной делецией короткого плеча хромосомы 8	Вследствие эктопической рекомбинации
Случай 7	46,XY,der(8)	мать: 46,XX отец: 46,XY	M-FISH: профиль гибридизации материала на коротком плече хромосомы 8 соответствует материалу хромосомы 8. FISH subtel(8p):ish subtel(8p)x1 mBAND8: обнаружена дупликация района p21.3-p23.2	Инвертированная дупликация со смежной терминальной делецией короткого плеча хромосомы 8	Вследствие эктопической рекомбинации

локаций, вероятность повторного рождения ребенка с аномалиями развития вследствие хромосомного дисбаланса низкая, поэтому в таких случаях проведение дополнительных дородовых диагностических мероприятий не рекомендуется.

В случаях 4-7 после проведения M-FISH было определено, что дополнительный материал принадлежит хромосоме 8 (рис. 4А,Б). Метафазный FISH-анализ с ДНК-зондами на субтеломерные районы короткого плеча хромосомы 8 подтвердил терминальную делецию 8p во всех случаях (рис. 4В). Многоцветный бэндинг хромосомы 8 (МСВ8) также во всех случаях позволил определить наличие дупликации и ее инвертированную ориентацию (рис. 4Г). Таким образом, дериватная хромосома 8 в случаях 4-7 являлась следствием *inv dup del(8p)*. С целью определения механизмов формирования хромосомного дисбаланса для случаев 4-7 был проведен FISH-анализ с разработанными ранее двумя несерийными ДНК-зондами на район p23.1 хромосомы 8 (рис. 1) [14]. У всех пробандов отмечались два гибридационных сигнала на коротком плече хромосомы 8 различного цвета, что подтверждает наличие спей-

сера, не вовлеченного в область дупликации (рис. 4Д). Такая структура хромосомной перестройки формируется при механизме, связанном с эктопической рекомбинацией [14]. Большинство опубликованных в литературе случаев *inv dup del(8p)* относят к рекуррентным хромосомным перестройкам, подразумевая эктопическую рекомбинацию как основной механизм формирования дисбаланса [7,10]. При формировании *inv dup del(8p)* вследствие эктопической рекомбинации при проведении микроматричного анализа обнаруживают определенный паттерн геномного дисбаланса, а именно обязательное наличие интерстициальной дупликации, смежной терминальной делеции и дисомного региона – спейсера, размером около 5-5,5 млн п.н. [7, 13]. Классическим методом диагностики *inv dup del(8p)* является хромосомный микроматричный анализ, что позволяет установить точный размер дупликации, делеции и определить наличие или отсутствие спейсера, но не позволяет определить инвертированную ориентацию дупликации. Однако в отечественной практике медико-генетического консультирования хромосомный микроматричный анализ не рекомендуется как

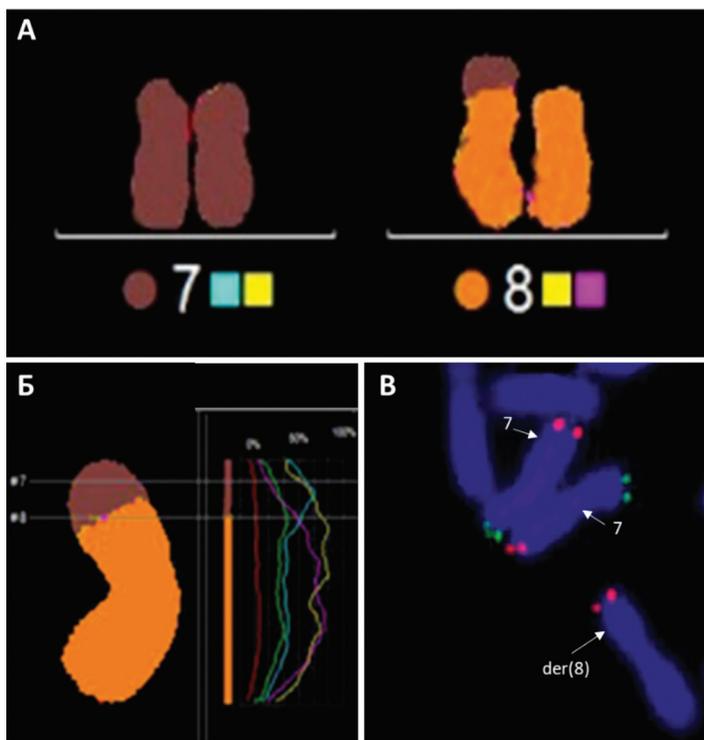


Рис. 3. Результаты молекулярно-цитогенетического исследования в случае 2 (табл.)

А – фрагмент кариогаммы M-FISH

Б – профиль M-FISH гибридизации дериватной хромосомы 8

В – FISH с ДНК зондами на субтеломерные районы хромосомы 7 (Subtel 7p SpGreen, Subtel 7q SpOrange)

исследование первой линии, поэтому определить механизм формирования инвертированной дупликации/делеции 8p затруднительно. В этой ситуации мы можем установить механизм происхождения, используя FISH с разработанными несерийными ДНК-зондами

на область спейсера с целью его детекции. Обнаружив при проведении FISH-анализа (рис. 4Д) не вовлеченную в дупликацию область, можно с уверенностью говорить о наличии спейсера в этих перестройках. Таким образом, FISH-метод с несерийными ДНК-зондами мо-

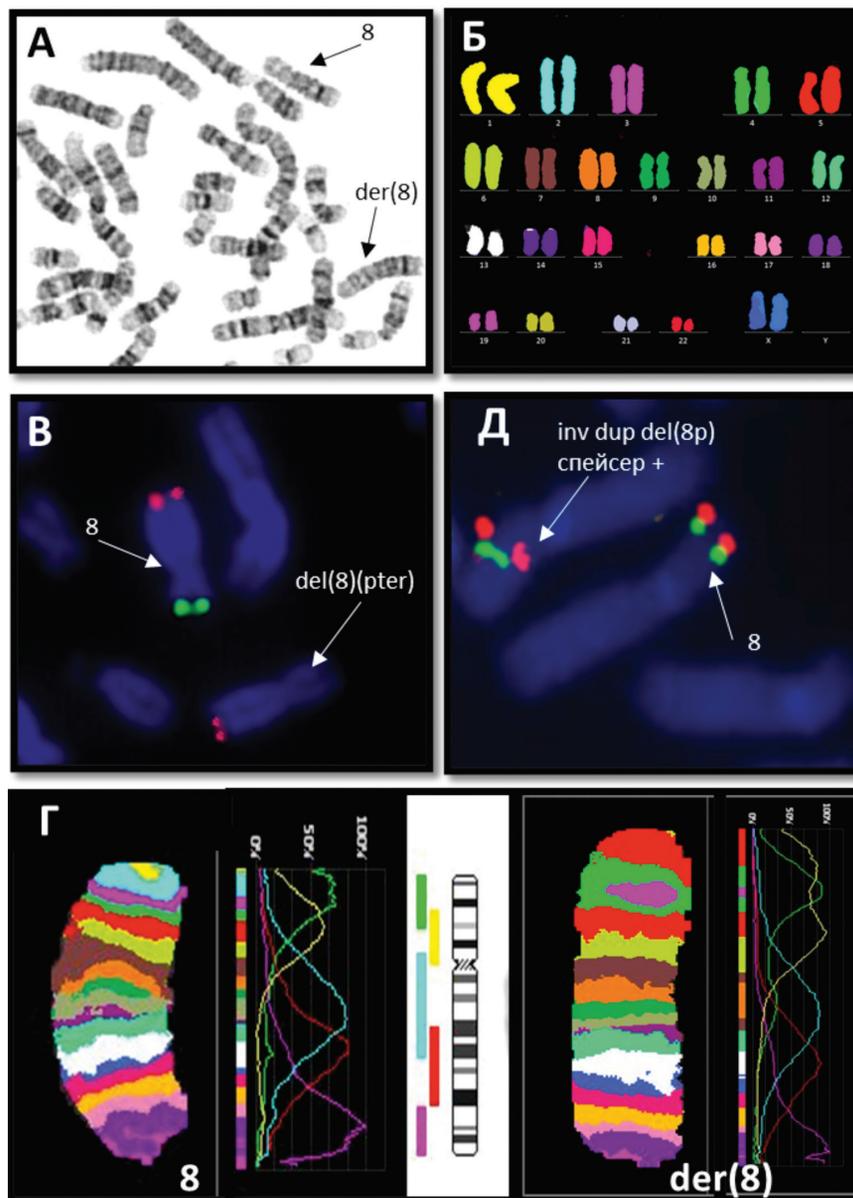


Рис. 4. Результаты стандартного цитогенетического и молекулярно-цитогенетического исследования в случае 6 (табл.).

А – фрагмент GTG-окрашенной метафазной пластинки с дериватной хромосомой 8

Б – M-FISH

В – FISH с ДНК-зондами на субтеломерные районы хромосомы 8 (Subtel 8p SpGreen, Subtel 8q SpOrange)

Г – MCB8: слева – нормальный гомолог хромосомы 8

справа – дериватная хромосома 8 с inv dup del(8p)

Д – FISH с несерийными ДНК-зондами на область спейсера.

жет быть использован для определения механизма формирования хромосомной перестройки и оптимизации протокола обследования пациентов.

Важно отметить, что пациенты с *der(8)* как транслокационного происхождения, так и *inv dup del(8p)* чаще всего не имеют патогномичных фенотипических признаков, поэтому заподозрить клинически наличие конкретной хромосомной аномалии не представляется возможным. Фенотипические проявления позволяют только предположить хромосомную этиологию аномального фенотипа при клиническом осмотре. Поэтому, зачастую пациентам назначается стандартное кариотипирование, при проведении которого обнаруживается дериватная хромосома.

Основываясь на всем вышесказанном, мы предлагаем протокол обследования пробандов с *der(8)*, представленный на **рис. 5**. Описываемый протокол включает две части (I и II), в которых часть I – это обязательный комплекс лабораторных диагностических исследований, который позволяет идентифицировать и определить происхождение *der(8)*, что является важным для определения тактики последующего медико-генетического консультирования. Часть II включает методы исследования, позволяющие получить информацию о механизмах формирования *inv dup del(8p)*, поэтому не является обязательной с точки зрения дифференциальной диагностики и может проводиться лишь при наличии возможности получения несерийных ДНК-зондов в каждой конкретной лаборатории.

Итак, на I этапе исследований после определения аномального кариотипа у пробанда рекомендовано проведение стандартного цитогенетического исследования родителям для выяснения происхождения дериватной хромосомы 8. При выявлении реципрокной транслокации у одного из родителей уточняются точки разрывов и устанавливается окончательный цитогенетический диагноз как несбалансированная транслокация. Если при обследовании родителей хромосомная аномалия не была обнаружена, необходимо продолжить обследование пробанда. Рекомендовано использовать М-FISH для установления или исключения несбалансированной *de novo* транслокации с вовлечением хромосомы 8. Однако важно помнить, что М-FISH позволяет определить только хромосомную принадлежность дополнительного материала, но идентифицировать плечо хромосомы, вовлеченной в хромосомный дисбаланс, невозможно. Поэтому следующим диагностическим этапом при *der(8)* рекомендовано проведение метафазной FISH с субтеломерными ДНК-зондами на короткое и длинное плечи негомолгичной хромосомы, которая была определена при

М-FISH. При ревизии кариотипа на уровне дифференциального окрашивания хромосом 550 бэндов с учетом данных, полученных при молекулярно-цитогенетическом исследовании, уточняют точки разрывов и устанавливают окончательный цитогенетический диагноз.

Если при проведении М-FISH был определен дополнительный материал, соответствующий хромосоме 8, то рекомендовано исследование FISH с ДНК-зондами на субтеломерную область короткого и длинного плеч хромосомы 8 и МСВ8. В результате исследований возможна идентификация хромосомного дисбаланса, а именно, определение плеча, вовлеченного в хромосомную перестройку. Обнаружение интерстициальной дупликации (*dup8p* или *dup8q*) или терминальной делеции (*del8p* или *del8q*) свидетельствует о спорадическом характере хромосомной перестройки. Если же после проведенных исследований структура хромосомного дисбаланса определена как *inv dup del(8p)*, то возможно определение механизма формирования хромосомной перестройки путем проведения II этапа протокола обследования (**рис. 5**). С этой целью можно провести FISH с несерийными ДНК-зондами на область p23.1 хромосомы 8. Если будет обнаружен спейсер, то механизм формирования хромосомного дисбаланса связан с эктопической рекомбинацией, если область спейсера будет дублирована, то это свидетельствует об U-типе обмена как о механизме формирования хромосомной аномалии.

Важно отметить, что представленный алгоритм исследования справедлив не только для анализа дополнительного материала на коротком плече хромосомы 8, примером которого являются описанные нами случаи, но и для всех дериватных хромосом.

Заключение

Дериватные хромосомы – гетерогенная группа хромосомных аномалий, которые могут формироваться как в результате перестроек с участием двух и более негомолгичных хромосом, так и быть следствием aberrаций внутри одной хромосомы. Как правило, определить структуру и происхождение хромосомного дисбаланса, приводящего к формированию дериватной хромосомы, не представляется возможным без дополнительных молекулярно-цитогенетических исследований пациента и его родителей. На примере семи случаев дериватной хромосомы 8 показано, что комплексный подход позволяет установить структуру и происхождение хромосомной аномалии. Дериватные хромосомы транслокационного происхождения могут иметь как спорадический характер, так и быть

унаследованными от одного из родителей. Определение происхождения дериватной хромосомы является важной задачей для оценки повторного риска рождения ребенка с хромосомным дисбалансом в обратившейся семье. Медико-генетическое консультирование при носительстве реципрокной транслокации с определением вероятности повторного риска позволяет определить объем необходимых дополнительных пренатальных или преимплантационных

диагностических мероприятий на этапе планирования беременности.

Таким образом, выявление дериватных хромосом в кариотипе пациента с аномалиями фенотипа требует обязательного дальнейшего проведения комплекса исследований с целью установления структуры и происхождения дериватной хромосомы, а при наличии технологических лабораторных ресурсов — определения механизма ее формирования.

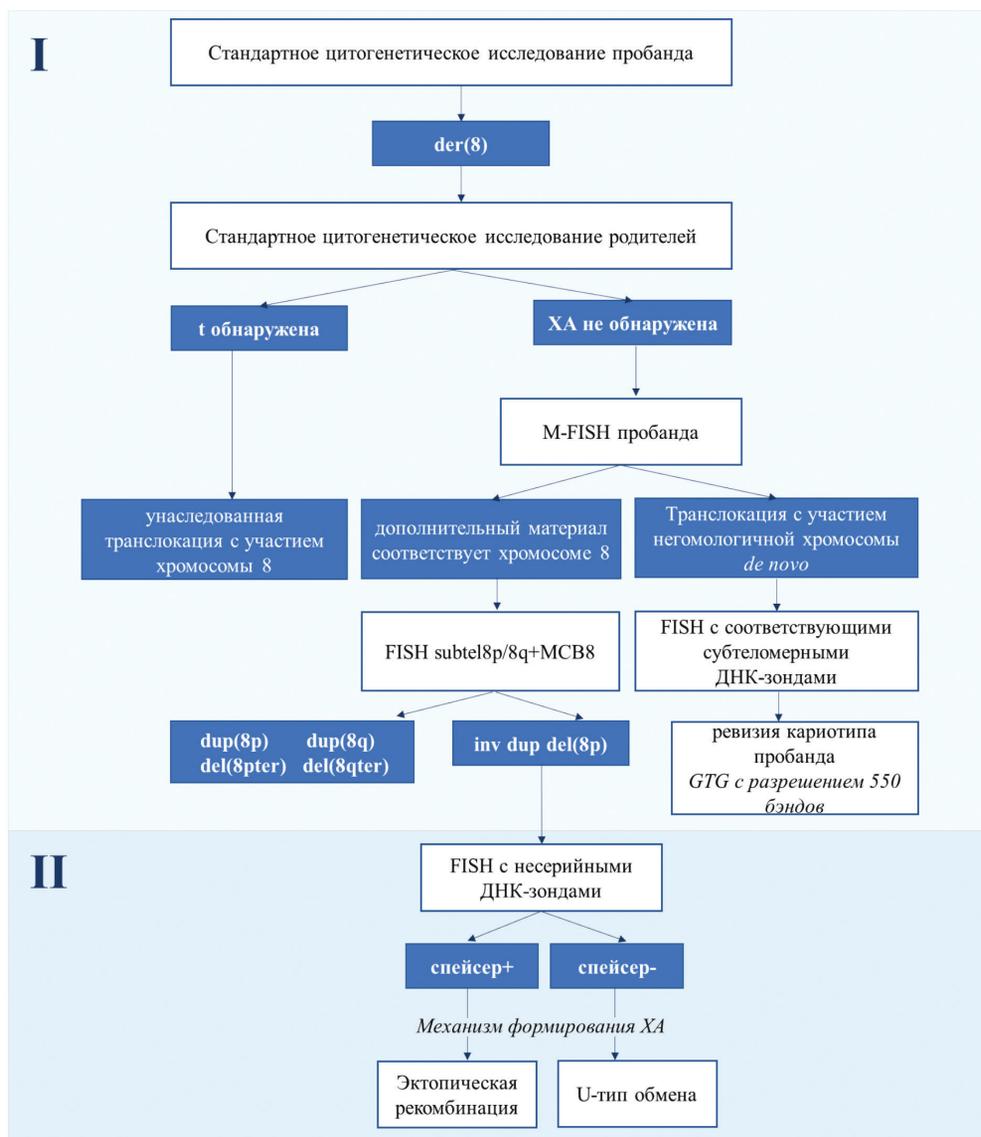


Рис. 5. Протокол обследования пробандов с дериватной хромосомой 8 в кариотипе.

I этап – идентификация *der(8)* и определение происхождения XA.

II этап – определение механизма формирования *inv dup del(8p)*.

Примечание: t – транслокация; XA – хромосомная аномалия.

Литература

1. ISCN 2016 - An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016) Ed. McGovan-Jordan J., Simons A, Schmid M. Karger. 2016
2. Kochhar P. K., Ghosh P. Reproductive outcome of couples with recurrent miscarriage and balanced chromosomal abnormalities. *J. Obstet. Gynecol. Res.* 2013; 39:113-120. DOI:10.1111/j.1447-0756.2012.01905.x
3. Gotter A. L., Nimmakayalu M. A., Jalali G. R. et al. A palindrome-driven complex rearrangement of 22q11.2 and 8q24.1 elucidated using novel technologies. *Genome Res.* 2007; 17:470-481. DOI:10.1101/gr.6130907
4. Giglio S., Calvari V., Gregato G. et al. Heterozygous submicroscopic inversions involving olfactory receptor-gene clusters mediate the recurrent t(4;8)(p16;p23) translocation. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 276-285. DOI:10.1086/341610
5. Gardner R.J.M., Amor D. Chromosome Abnormalities and Genetic Counselling. *Oxford University Press.* 2018; 5: 98-99.
6. Hermetz K.E., Newman S., Conneely K.N., et al. Large Inverted Duplications in the Human Genome Form via a Fold-Back Mechanism. *PLoS Genet.* 2014;10(1):e1004139. DOI:10.1371/journal.pgen.1004139.
7. Santiago F. A., Martínez-Glez V., Santos F. et al. Analysis of invdupdel(8p) rearrangement: Clinical, cytogenetic and molecular characterization. *Am J Med Genet Part A.* 2014; 167:1018-1025. DOI:10.1002/ajmg.a.36879
8. Weckselblatt, B., Rudd M. K. Human Structural Variation: Mechanisms of Chromosome Rearrangements. *Trends in Genetics.* 2015; 31: 587-599. DOI:10.1016/j.tig.2015.05.010
9. Miller D.T., Adam M.P., Aradhya S., Biesecker L.G., Brothman A.R., Carter N.P. 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; 86:749-64. DOI: 10.1016/j.ajhg.2010.04.006.
10. Zuffardi O., Bonaglia M., Ciccone R., Giorda R. Inverted duplications deletions: underdiagnosed rearrangements? *Clin Genet.* 2009;75:505-513. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2009.01187.x
11. Kato T., Inagaki H., Miyai S., et al. The involvement of U-type dicentric chromosomes in the formation of terminal deletions with or without adjacent inverted duplications. *Human Genetics* 2020; 139: 1417-1427. DOI:10.1007/s00439-020-02186-8
12. Rowe L. R., Lee J.-Y., Rector L. et al. U-type exchange is the most frequent mechanism for inverted duplication with terminal deletion rearrangements. *J Med Genet.* 2009; 46: 694-702. DOI:10.1136/jmg.2008.065052
13. Yu S., Graf W.D. Telomere capture as a frequent mechanism for stabilization of the terminal chromosomal deletion associated with inverted duplication. *Cytogenet Genome Res.* 2010;129:265-274. DOI: 10.1159/000315887.
14. Юрченко Д.А., Миньженкова М.Е., Дадали Е.Л., Шилова Н.В. Клиническая и молекулярно-цитогенетическая характеристика двух случаев инвертированной дупликации со смежной терминальной делецией 8p. *Медицинская генетика* 2020; 19(3):41-42. DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.41-42
15. <https://genome.ucsc.edu/>
16. Introduction to risk calculation in genetic counseling / Edited by Yong I. *Int. Oxford university press*, 2007. Third edition. 241pp.
17. Zhang Y., Zhu S., Wu J. et al. Quadrivalent asymmetry in reciprocal translocation carriers predict meiotic segregation patterns in cleavage stage embryos. *Reproduct. Biomed. Online* 2014; 29(4):490-498. DOI:10.1016/j.rbmo.2014.06.010.
18. Шилова Н.В., Миньженкова М.Е., Антоненко В.Г. Оценка факторов риска рождения детей с хромосомным дисбалансом у носителей аутосомных реципрокных транслокаций. *Генетика.* 2019;9(55):1054-1063. DOI: 10.1134/S0016675819090169

References

1. ISCN 2016 - An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016) Ed. McGovan-Jordan J., Simons A, Schmid M. Karger. 2016
2. Kochhar P. K., Ghosh P. Reproductive outcome of couples with recurrent miscarriage and balanced chromosomal abnormalities. *J. Obstet. Gynecol. Res.* 2013; 39:113-120. DOI:10.1111/j.1447-0756.2012.01905.x
3. Gotter A. L., Nimmakayalu M. A., Jalali G. R. et al. A palindrome-driven complex rearrangement of 22q11.2 and 8q24.1 elucidated using novel technologies. *Genome Res.* 2007; 17:470-481. DOI:10.1101/gr.6130907
4. Giglio S., Calvari V., Gregato G. et al. Heterozygous submicroscopic inversions involving olfactory receptor-gene clusters mediate the recurrent t(4;8)(p16;p23) translocation. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 276-285. DOI:10.1086/341610
5. Gardner R.J.M., Amor D. Chromosome Abnormalities and Genetic Counselling. *Oxford University Press.* 2018; 5: 98-99.
6. Hermetz K.E., Newman S., Conneely K.N., et al. Large Inverted Duplications in the Human Genome Form via a Fold-Back Mechanism. *PLoS Genet.* 2014;10(1):e1004139. DOI:10.1371/journal.pgen.1004139.
7. Santiago F. A., Martínez-Glez V., Santos F. et al. Analysis of invdupdel(8p) rearrangement: Clinical, cytogenetic and molecular characterization. *Am J Med Genet Part A.* 2014; 167:1018-1025. DOI:10.1002/ajmg.a.36879
8. Weckselblatt, B., Rudd M. K. Human Structural Variation: Mechanisms of Chromosome Rearrangements. *Trends in Genetics.* 2015; 31: 587-599. DOI:10.1016/j.tig.2015.05.010
9. Miller D.T., Adam M.P., Aradhya S., Biesecker L.G., Brothman A.R., Carter N.P. 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; 86:749-64. DOI: 10.1016/j.ajhg.2010.04.006.
10. Zuffardi O., Bonaglia M., Ciccone R., Giorda R. Inverted duplications deletions: underdiagnosed rearrangements? *Clin Genet.* 2009;75:505-513. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2009.01187.x
11. Kato T., Inagaki H., Miyai S., et al. The involvement of U-type dicentric chromosomes in the formation of terminal deletions with or without adjacent inverted duplications. *Human Genetics* 2020; 139: 1417-1427. DOI:10.1007/s00439-020-02186-8
12. Rowe L. R., Lee J.-Y., Rector L. et al. U-type exchange is the most frequent mechanism for inverted duplication with terminal deletion rearrangements. *J Med Genet.* 2009; 46: 694-702. DOI:10.1136/jmg.2008.065052
13. Yu S., Graf W.D. Telomere capture as a frequent mechanism for stabilization of the terminal chromosomal deletion associated with inverted duplication. *Cytogenet Genome Res.* 2010;129:265-274. DOI: 10.1159/000315887.
14. Yurchenko D.A., Minzhenkova M.E., Dadali E.L., Shilova N.V. Клиническая и молекулярно-цитогенетическая характеристика двух случаев инвертированной дупликации со смежной терминальной делецией 8p [Clinical and molecular cytogenetic characterization of two cases of inverted duplication deletion 8p]. *Meditsinskaya genetika [Medical genetics]*. 2020; 19(3):41-42 (In Russ.) DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.41-42
15. <https://genome.ucsc.edu/>
16. Introduction to risk calculation in genetic counseling / Edited by Yong I. - *Int. Oxford university press*, 2007. - Third edition. - 241pp.
17. Zhang Y., Zhu S., Wu J. et al. Quadrivalent asymmetry in reciprocal translocation carriers predict meiotic segregation patterns in cleavage stage embryos. *Reproduct. Biomed. Online* 2014; 29(4):490-498. DOI:10.1016/j.rbmo.2014.06.010.
18. Shilova N.V., Minzhenkova M.E., Antonenko V.G. Otsenka faktorov riska rozhdeniya detey s khromosomnym disbalansom u nositeley avtosomnykh retsiproknnykh translokatsiy [Evaluation of risk factors for the birth of children with chromosomal imbalance in carriers of autosomal reciprocal translocations]. *Genetika [Russian Journal of Genetics]*. 2019; 55(9):1103-1112. (In Russ.) DOI: 10.1134/S0016675819090169