

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2024.02.55-58>

## **Молекулярно-цитогенетическая диагностика парацентрической инверсии 8p23.1 в кариотипе матери пациента с invdupdel(8p) на кольцевой хромосоме 8**

**Кашеварова А.А., Деменева В.В., Зуев А.С., Лопаткина М.Е., Федотов Д.А., Васильев С.А., Лебедев И.Н.**

Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук,  
Научно-исследовательский институт медицинской генетики  
634050, г. Томск, Россия, ул. Набережная реки Ушайки, д. 10

Сочетание инвертированной дупликации с терминальной делецией 8p (invdupdel(8p)) – редкая хромосомная перестройка, проявляющаяся задержкой нейropsychического развития, умственной отсталостью, пороками сердца и аномалиями мозга. Известно, что полиморфная парацентрическая инверсия в структуре хромосомы 8 матери может привести к перестройке invdupdel(8p) у ее ребенка. Нами создана система зондов для поиска FISH-методом скрытой инверсии в хромосоме 8 матери пациента с задержкой развития, гипотонией, черепно-лицевыми аномалиями и кольцевой хромосомой 8, обусловленной invdupdel(8p). Инверсия в структуре хромосомы 8 у женщины выявлена, что указывает на необходимость проведения пренатальной диагностики при наступлении беременности.

**Ключевые слова:** invdupdel(8p), парацентрическая инверсия 8p23.1, матричная сравнительная геномная гибридизация, флуоресцентная *in situ* гибридизация.

**Для цитирования:** Кашеварова А.А., Деменева В.В., Зуев А.С., Лопаткина М.Е., Федотов Д.А., Васильев С.А., Лебедев И.Н. Молекулярно-цитогенетическая диагностика парацентрической инверсии 8p23.1 в кариотипе матери пациента с invdupdel(8p) на кольцевой хромосоме 8. *Медицинская генетика* 2024; 23(2): 55-58.

**Автор для корреспонденции:** Кашеварова А.А.; **e-mail:** anna.kashevarova@medgenetics.ru

**Финансирование:** Работа выполнена при финансовой поддержке темы государственного задания (номер государственного учета НИОКТР 122112800024-7).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 20.01.2024

## **Molecular cytogenetic diagnosis of paracentric inversion at 8p23.1 in the karyotype of the mother of a patient with invdupdel(8p) within ring chromosome 8**

**Kashevarova A.A., Demeneva V.V., Zuev A.S., Lopatkina M.E., Fedotov D.A., Vasiliev S.A., Lebedev I.N.**

Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Genetics  
10, Naberejnaya Ushaiki, Tomsk, 634050, Russian Federation

The combination of an inverted duplication with a terminal 8p deletion (invdupdel(8p)) is a rare chromosomal rearrangement that manifests with neurodevelopmental delay, intellectual disability, heart defects, and brain abnormalities. It is known that a polymorphic paracentric inversion in the structure of mother's chromosome 8 can lead to invdupdel(8p) in her child. We have created a system of DNA-probes to search with the FISH-method for cryptic inversion in chromosome 8 of the mother of a patient with developmental delay, muscle hypotonia, craniofacial anomalies and ring chromosome 8 caused by invdupdel(8p). An inversion in the structure of chromosome 8 in a woman was revealed, which indicates the need for prenatal diagnosis in the case of pregnancy.

**Keywords:** invdupdel(8p), paracentric inversion at 8p23.1, array comparative genome hybridization, fluorescent *in situ* hybridization.

**For citation:** Kashevarova A.A., Demeneva V.V., Zuev A.S., Lopatkina M.E., Fedotov D.A., Vasiliev S.A., Lebedev I.N. Molecular cytogenetic diagnosis of paracentric inversion at 8p23.1 in the karyotype of the mother of a patient with invdupdel(8p) within ring chromosome 8. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2024; 23(2): 55-58. (In Russian).

**Corresponding author:** Kashevarova A.A.; **e-mail:** anna.kashevarova@medgenetics.ru

**Funding.** The work was supported by the theme of the state assignment (# 122112800024-7).

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

**Accepted:** 20.01.2024

## Введение

Современная молекулярно-цитогенетическая диагностика для пациентов с недифференцированными формами интеллектуальных нарушений, как правило, завершается анализом происхождения выявленных хромосомных мутаций. Унаследованные формы при планировании новой беременности требуют уточнения прогноза для потомства. Однако в ряде случаев *de novo* вариант у ребенка может возникнуть в результате наличия у одного из родителей полиморфного структурного хромосомного варианта. Так, например, известно, что носительство полиморфной парацентрической инверсии 8p23.1 может приводить к формированию в мейозе хромосомного дисбаланса в виде инвертированной дупликации и терминальной делеции – *invdupdel(8p)*. Частота данной инверсии составляет 27% в японской популяции и 26% в европейской [1,2]. Перестройка *invdupdel(8p)* среди новорожденных встречается с частотой 1:10000-1:30000. Среди симптомов описаны задержка нейрорасшического развития/умственная отсталость, врожденные пороки сердца, агенезия мозолистого тела, скелетные и лицевые аномалии [3].

Парацентрическая инверсия 8p23.1 не различима ни при стандартном цитогенетическом исследовании вследствие небольшой своей протяженности, ни при молекулярном кариотипировании с использованием аCGH или количественной ПЦР, поскольку оба метода не позволяют диагностировать количественно сбалансированные изменения хромосомного материала. В связи с этим, возникает острая проблема качества медико-генетического консультирования и прогноза, выдаваемого семье после проведения молекулярно-цитогенетического обследования. Решение данной проблемы может быть обеспечено интеграцией в диагностический алгоритм дополнительного этапа флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) на метафазных хромосомах обоих родителей в семьях, имеющих ребенка с *invdupdel(8p)*.

## Методы

Анализ кариотипа проведен на хромосомных препаратах, полученных по стандартным протоколам из культуры лимфоцитов периферической крови. Синтез ДНК-зондов и FISH-анализ выполнены согласно протоколам, описанным в [4]. Последователь-

**Таблица.** Последовательности праймеров для синтеза ДНК-зондов на область 8p23.1

**Table.** Primers sequences for the DNA probes for the 8p23.1 region

| Праймер              | Регион | Последовательность             |
|----------------------|--------|--------------------------------|
| REPD_FISH1-F2        | 8p23.1 | 5'-GCCTATTTCTAAGCCTGATTCTCC-3' |
| REPD_FISH1-R2        | 8p23.1 | 5'-CCTTGCACAGATGTTAGAGAACTT-3' |
| REPD_FISH1-F3        | 8p23.1 | 5'-CGCTGATAGGAATCATTTAGTGCT-3' |
| REPD_FISH1-R3        | 8p23.1 | 5'-GAATCCCTGAAAACAAAATGTGGG-3' |
| REPD_FISH1-F5        | 8p23.1 | 5'-GAACTTGCTGTCTGGATTACAAGA-3' |
| REPD_FISH1-R5        | 8p23.1 | 5'-TGATATCCATTATGCCAGAAACG-3'  |
| REPP_FISH-F1         | 8p23.1 | 5'-ATCACTCACAAACGTAAGTCCCA-3'  |
| REPP_FISH-R1         | 8p23.1 | 5'-GAGGCGGCAGGATATTAAGTGT-3'   |
| REPP_FISH-F3         | 8p23.1 | 5'-AACTCCTCAGAGAGCCAGAGTTT-3'  |
| REPP_FISH-R3         | 8p23.1 | 5'-GGGTGGAGAAGCCCATTTATCAG-3'  |
| REPP_FISH-F4         | 8p23.1 | 5'-CCCACACCCCAATTAAGTGAA-3'    |
| REPP_FISH-R4         | 8p23.1 | 5'-GGTGATCCATAGACACACCTTG-3'   |
| RP11-143D15_FISH1-F3 | 8p23.1 | 5'-ATTGGGTTGGTTTCATAAGCAGGT-3' |
| RP11-143D15_FISH1-R3 | 8p23.1 | 5'-TGGAGGAGGTATAATAGGCAAGGG-3' |
| RP11-143D15_FISH1-F4 | 8p23.1 | 5'-TTGCCAAAATACCTACTGCCCTT-3'  |
| RP11-143D15_FISH1-R4 | 8p23.1 | 5'-AAGCGGCATTGGGAATCATAATCT-3' |

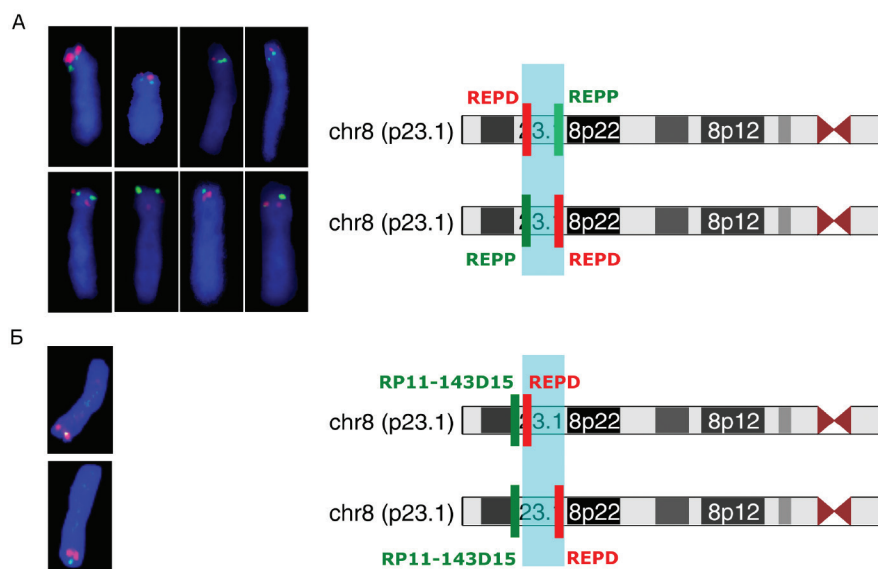
ности праймеров для синтеза ДНК-зондов приведены в таблице.

### Результаты исследования и их обсуждение

У ребенка с задержкой развития, моторной алалией, черепно-лицевыми аномалиями, трудностями в кормлении и гипотонией в ходе стандартного цитогенетического исследования была обнаружена кольцевая хромосома 8. При проведении микроматричного анализа на микрочипах SurePrint G3 Human CGH+SNP Microarray Kit (4'180K) (Agilent Technologies, США) установлено, что кольцо образовалось в результате 7,9 млн п.н. терминальной делеции 8p23.3p23.1 и 27,1 млн п.н. дупликации 8p23.1p11.22 с сохранением интактного нормоконического участка размером 4,4 млн п.н. между ними. Таким образом, карио-

тип пациента – mos 46,XY,r(8)(p23;q24.3)[27]/45,XY,-8[3].arr[hg19] 8p23.3-p23.1(191530\_8079920)×1,8p23.1-p11.22(12467484\_39587538)×3.ish inv(8)(p23.1p11.22)(p22)(TUSC3+,UNC5D-). Анализ SNP позволил установить, что перестроена материнская хромосома 8.

Известно, что у пациентов с invdupdel(8p) и нормоконическим участком между регионами делеции и дупликации матери могут являться гетерозиготными носителями парацентрических инверсий 8p23.1 [5]. Таким образом, целью данного исследования было создание набора ДНК-зондов на регион 8p23p11 для поиска скрытой инверсии в геномах матерей пациентов с invdupdel(8p). На первом этапе были созданы и апробированы зонд «REPD» на дистальный участок нормоконической области между блоками сегментных дупликаций REPD (repeat-distal, дистальный повтор) и зонд «REPP», гибридирующий в проксимальном участке нормоконической обла-



**Рис. 1.** Схема расположения ДНК-зондов в области 8p23.1 и результаты их гибридизации на хромосоме 8. А. Традиционная система с использованием ДНК-зондов REPD (красный) и REPP (зеленый). Б. Дополнительная система с ДНК-зондами REPD (красный) и RP11-143D15 (зеленый).

**Примечание:** справа – схематичное изображение короткого плеча хромосомы 8, голубым выделена нормоконическая область между блоками сегментных дупликаций, подвергающаяся инверсии, красным и зеленым отмечены ДНК-зонды; слева – гомологи хромосомы 8 матери пробанда с r(8), у которой выявлена гетерозиготная инверсия (нижний гомолог) по блокам низкокопийных повторов в регионе 8p23.1.

**Fig. 1.** Location of DNA probes in the 8p23.1 region and the results of their hybridization on chromosome 8. A. Traditional system using DNA probes REPD (red) and REPP (green). B. Additional system with DNA probes REPD (red) and RP11-143D15 (green).

**Note:** on the right is a schematic image of the short arm of chromosome 8, the normal copy region between blocks of segmental duplications that undergoes inversion is highlighted in blue, DNA probes are marked in red and green; on the left - homologues of chromosome 8 of the mother of the proband with r(8), in which a heterozygous inversion (lower homologue) was detected in blocks of low-copy repeats in the 8p23.1 region.

сти REPP (repeat-proximal, проксимальный повтор). Данная система традиционно используется для выявления скрытых инверсий в области 8p23.1 [6] и основана на изменении порядка ДНК-зондов на хромосоме (рис. 1А). Для верификации результата была разработана вторая система на ту же область: зонд «REPD» из первой системы и зонд «RP11-143D15», гибридизующийся дистальнее области REPD за пределами нормоконического участка в регионе клона RP11-143D15 (рис. 1Б). В случае инверсии ожидалось увеличение дистанции между ДНК-зондами на хромосоме.

С помощью обеих разработанных систем ДНК-зондов была обнаружена инверсия на хромосоме 8 в регионе 8p23.1 у матери пробанда (рис. 1). Кариотип матери: 46,XX,ish (8)(p23.1)(REPD+,REPP+),inv(8)(p23.1)(REPP+,REPD+)[10].

Таким образом, в работе представлены две системы зондов (традиционная и разработанная в рамках данного исследования) для выявления полиморфной парацентрической инверсии 8p23.1, распространенной в европейской и японской популяциях. При консультации семей, имеющих больного ребенка с кольцевой хромосомой 8 и/или хромосомным дисбалансом в виде invdupdel(8p), необходимо обследование родителей на предмет носительства парацентрической инверсии 8p23.1 и, в случае ее выявления, проведение пренатальной диагностики при наступлении беременности.

**Благодарность.** Авторы благодарят врача-генетика Михайлик Л.И. за работу с семьей пациента.

### Литература

1. Giglio S., Broman K.W., Matsumoto N. et al. Olfactory receptor-gene clusters, genomic-inversion polymorphisms, and common chromosome rearrangements. *Am J Hum Genet A.* 2001; 68: 874–83. DOI: 10.1086/319506
2. Sugawara H., Harada N., Ida T. et al. Complex low-copy repeats associated with a common polymorphic inversion at human chromosome 8p23. *Genomics* 2003; 82: 238–244. DOI: 10.1016/s0888-7543(03)00108-3

3. García-Santiago F.A., Martínez-Glez V., Santos F. et al. Analysis of invdupdel(8p) rearrangement: Clinical, cytogenetic and molecular characterization. *Am J Med Genet A.* 2015;167:1018–1025. DOI: 10.1002/ajmg.a.36879
4. Жигалина Д.И., Скрыбин Н.А., Васильева О.Ю. и др. FISH-диагностика хромосомной транслокации с использованием технологии синтеза локус-специфичных ДНК-зондов на основе ПЦР длинных фрагментов. *Генетика.* 2020;56(6):704-713. DOI: 10.31857/S0016675820060156
5. Shimokawa O., Kurosawa K., Ida T. et al. Molecular characterization of inv dup del(8p): analysis of five cases. *Am J Med Genet A.* 2004;128A(2):133-7. DOI: 10.1002/ajmg.a.30063
6. Юрченко Д.А., Дадали Е.Л., Шилова Н.В. Механизмы формирования инвертированной дупликации со смежной терминальной делецией короткого плеча хромосомы 8. *Медицинская генетика.* 2020;19(1):6-12. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2020.01.6-12>

### References

1. Giglio S., Broman K.W., Matsumoto N. et al. Olfactory receptor-gene clusters, genomic-inversion polymorphisms, and common chromosome rearrangements. *Am J Hum Genet A.* 2001; 68: 874–83. DOI: 10.1086/319506
2. Sugawara H., Harada N., Ida T. et al. Complex low-copy repeats associated with a common polymorphic inversion at human chromosome 8p23. *Genomics* 2003; 82: 238–244. DOI: 10.1016/s0888-7543(03)00108-3
3. García-Santiago F.A., Martínez-Glez V., Santos F. et al. Analysis of invdupdel(8p) rearrangement: Clinical, cytogenetic and molecular characterization. *Am J Med Genet A.* 2015;167:1018–1025. DOI: 10.1002/ajmg.a.36879
4. Zhigalina D. I., Skryabin N. A., Vasilieva O. Y. et al. FISH Diagnostics of Chromosomal Translocation with the Technology of Synthesis of Locus-Specific DNA Probes Based on Long-Range PCR. *Russian Journal of genetics.* 2020;56(6):739-746. DOI: 10.1134/S1022795420060150
5. Shimokawa O., Kurosawa K., Ida T. et al. Molecular characterization of inv dup del(8p): analysis of five cases. *Am J Med Genet A.* 2004;128A(2):133-7. DOI: 10.1002/ajmg.a.30063
6. Yurchenko D.A., Dadali E.L., Shilova N.V. Mekhanizmy formirovaniya invertirovannoy duplikatsii so smezhnoy terminal'noy deletsiyey korotkogo plecha khromosomy 8 [Formation of inverted duplication contiguous to a terminal deletion of short arm of chromosome 8]. *Meditsinskaya genetika [Medical Genetics].* 2020;19(1):6-12. (In Russ.) <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2020.01.6-12>