

МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕДКОГО СЛУЧАЯ РЕКОМБИНАНТНОЙ ХРОМОСОМЫ 22 ВСЛЕДСТВИЕ МАТЕРИНСКОЙ ИНТРАХРОМОСОМНОЙ ИНСЕРЦИИ

Д. А. Юрченко , Ж. Г. Маркова, М. С. Петухова, Г. Н. Матющенко, Н. В. Шилова

Медико-генетический научный центр имени Н. П. Бочкова, Москва, Россия

Формирование рекомбинантных хромосом в потомстве носителей инверсий и инсерций представляет собой серьезную проблему клинической генетики в связи с высоким риском рождения детей с хромосомной патологией. Представлен клинический случай. Целью исследования было в ходе молекулярно-цитогенетической диагностики рекомбинантной хромосомы 22 установить структуру и происхождение хромосомного дисбаланса у пациентки с задержкой моторного и психоречевого развития, черепно-лицевыми аномалиями и тугоухостью. При проведении хромосомного микроматричного анализа у пробанда с задержкой психомоторного развития и признаками дисморфогенеза были обнаружены три интерстициальные дупликации: 22q11.21, 22q12.3q13.1 и 22q13.2. FISH-анализ с использованием коммерческих и несерийных ДНК-зондов позволил установить, что у матери пациентки имеется сложная интрахромосомная перестройка: сочетание иницирующей парацентрической инверсии 22q11.21q12.3 и последующей межплечевой инсерции районов 22q11.21 и 22q12.3q13.1 в район ядрышкового организатора 22p12. Соответственно, выявленная у пробанда рекомбинантная хромосома является результатом сегрегации материнской сложной внутривхромосомной перестройки. Полученные результаты подчеркивают диагностическую ценность комплексного цитогеномного подхода для точной идентификации сложных хромосомных нарушений, определения их происхождения и оценки генетических рисков при медико-генетическом консультировании.

Ключевые слова: интрахромосомная инсерция, инверсия, рекомбинантная хромосома 22, FISH, несерийные ДНК-зонды, CNV, дупликация

Финансирование: исследование проведено в рамках темы НИР № 123052200006-7 «Оптимизация молекулярно-(цитогенетических) подходов для верификации и интерпретации клинически значимых вариаций числа копий участков ДНК (CNV)» (#FGFF-2023-0003).

Вклад авторов: Д. А. Юрченко — дизайн исследования, разработка несерийных ДНК-зондов, проведение FISH-диагностики и интерпретация полученных данных, подготовка рукописи; Ж. Г. Маркова — проведение FISH-исследования с коммерческими ДНК-зондами; М. С. Петухова, Г. Н. Матющенко — медико-генетическое консультирование семьи; Н. В. Шилова — концепция и дизайн исследования, обсуждение результатов, научное редактирование рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ «МГНЦ» (протокол № 4/2 от 19 апреля 2021 г.). Получено добровольное информированное согласие на участие пациентов в научном исследовании.

 **Для корреспонденции:** Дарья Александровна Юрченко
ул. Москворечье, д. 1, г. Москва, 115522, Россия; dashalbv@mail.ru

Статья получена: 16.09.2025 **Статья принята к печати:** 06.10.2025 **Опубликована онлайн:** 26.10.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.050

Авторские права: © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

MOLECULAR CYTOGENETIC CHARACTERIZATION OF A RARE RECOMBINANT CHROMOSOME 22 CAUSED BY A MATERNAL INTRACHROMOSOMAL INSERTION

Yurchenko DA , Markova ZhG, Petukhova MS, Matyushchenko GN, Shilova NV

Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia

The formation of recombinant chromosomes in the offspring of inversion and insertion carriers constitutes a significant challenge in clinical genetics due to the high risk of chromosomal abnormalities in children. Here, we present a clinical case. The aim of this study was to characterize the structure and origin of a chromosomal imbalance in a female patient presenting with delayed motor and speech development, craniofacial anomalies, and sensorineural hearing loss through molecular cytogenetic analysis of a recombinant chromosome 22. Chromosomal microarray analysis of the proband, who exhibited psychomotor delay and dysmorphic features, revealed three interstitial duplications: 22q11.21, 22q12.3–q13.1, and 22q13.2. Fluorescence in situ hybridization (FISH), using both commercial and homemade DNA probes, demonstrated that the mother carried a complex intrachromosomal rearrangement comprising an initial paracentric inversion of 22q11.21–q12.3, followed by an interstitial insertion of the 22q11.21 and 22q12.3–q13.1 segments into the nucleolar organizer region at 22p12. Accordingly, the recombinant chromosome identified in the proband resulted from meiotic segregation of the maternal complex intrachromosomal inversion and insertion. These findings highlight the diagnostic value of an integrated cytogenomic approach for the precise delineation of complex chromosomal rearrangements, determination of their origin, and assessment of genetic risk in clinical genetic counseling.

Keywords: intrachromosomal insertion, inversion, recombinant chromosome 22, FISH, homemade DNA probes, CNV, duplication

Funding: this research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (#FGFF-2023-0003).

Author contribution: Yurchenko DA — study design, development of homemade DNA probes, conducting FISH analysis and interpreting the data, manuscript preparation; Markova ZhG — conducting FISH analysis using commercial DNA probes; Petukhova MS and Matyushchenko GN — clinical genetic counseling of the family; Shilova NV — study conception and design, discussion of results, and scientific editing of the manuscript.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Research Centre for Medical Genetics (protocol No. 4/2 dated 19 April 2021). The informed consent for participation in the research study was obtained from the patients.

 **Correspondence should be addressed:** Darya A. Yurchenko
Moskvorechye, 1, Moscow, 115522, Russia; dashalbv@mail.ru

Received: 16.09.2025 **Accepted:** 06.10.2025 **Published online:** 26.10.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.050

Copyright: © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Рекомбинантные хромосомы (rec) выявляются у потомства носителей таких сбалансированных структурных хромосомных перестроек (ХП), как инверсии и инсерции, и сопровождаются изменением количества генетического материала — вариациями числа копий участков ДНК (copy number variations, CNV) в виде делеций и дупликаций, ассоциированных с аномальным фенотипом [1, 2].

Большинство патогенных микроделеций и микродупликаций представляют собой рекуррентные CNV, возникновение которых связано с особенностями геномной архитектуры и приводит к формированию спорадических случаев хромосомного дисбаланса [3]. В отличие от этого, нерекуррентные CNV могут быть следствием и других механизмов формирования, например, рекомбинационных событий в мейозе I у фенотипически нормальных гетерозиготных носителей инверсий, а также интра- и интерхромосомных инсерций. Межплечевая интрахромосомная инсерция представляет собой сегмент хроматина одного плеча, вставленный в точку разрыва другого плеча [4]. Так, после формирования бивалента между хромосомой с межплечевой инсерцией и ее нормальным гомологом инсертированный сегмент разворачивается таким образом, чтобы обеспечить максимальную степень синапсиса бивалента. Один или любое нечетное число кроссинговеров в центромерном сегменте (часть хромосомы, содержащая центромеру) приведет к образованию рекомбинантных хромосом: одной с дупликацией инсерционного сегмента, а другой с делецией. Гаметы (впоследствии зиготы) с рекомбинантными хромосомами приводят к образованию интерстициальных CNV у потомства (рис. 1).

Вклад сбалансированных внутрихромосомных инсерций в структуру хромосомной патологии значителен, поскольку теоретический риск формирования гамет с рекомбинантными хромосомами и риск рождения ребенка с хромосомным дисбалансом в семье носителя могут достигать 50%, что имеет ключевое значение для медико-генетического консультирования [4, 5].

На этом фоне особый интерес представляет хромосома 22, отличающаяся высокой концентрацией низкокопийных повторов (LCR), что предрасполагает к формированию широкого спектра сбалансированных и несбалансированных ХП в результате неаллельной гомологичной рекомбинации (NAHR) [6]. Наиболее изучены синдромы реципрокных делеции и дупликации 22q11.2, известные также как сестринские геномные болезни [7, 8]. Но важно отметить, что особую ценность демонстрируют нерекуррентные CNV на хромосоме 22, так как такие случаи раскрывают сложные и разнообразные механизмы структурной организации генома, включая репликационно-

опосредованные и многоступенчатые геномные события, и могут быть представлены множественными участками хромосомного дисбаланса [9, 10]. Такие наблюдения не только расширяют представления о структурной вариативности хромосомы 22, но и имеют практическое значение для медико-генетического консультирования, особенно при выборе тактики пренатальной и преимплантационной диагностики в семьях с больным ребенком [11].

В настоящей работе мы представляем уникальный случай рекомбинантной хромосомы 22 у пациента с аномальным фенотипом. Цель исследования — молекулярно-цитогенетическая характеристика редкой rec(22) с тремя интерстициальными дупликациями вследствие мейотического кроссинговера в гаметогенезе матери-носительницы сложной интрахромосомной перестройки.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Клинические данные

Пациентка — девочка 7 месяцев, направлена на обследование в медико-генетический научный центр им. Н. П. Бочкова в связи с задержкой психомоторного развития и особенностями фенотипа (черепно-лицевые дизморфии). В семье есть старший ребенок — девочка 5 лет — без видимых клинических проявлений, здорова (со слов родителей). Родители здоровы, брак некровнородственный, в гинекологическом анамнезе — две замершие беременности (рис. 2А).

Роды на 36-й неделе беременности. Оценка по шкале Апгар — 7/7 баллов. Масса тела при рождении составляла 2260 г, длина тела — 45 см, окружность головы — 32 см. После рождения ребенок был переведен в отделение патологии новорожденных с диагнозом церебральная ишемия 1–2-й степени, синдром двигательных нарушений. С рождения отмечались задержка моторного развития, двусторонняя тугоухость. На момент первого осмотра (в возрасте 7 месяцев) были отмечены следующие фенотипические особенности: глазной гипертелоризм, обратный эпикант, укороченные глазные щели, закругленный кончик носа, трапецевидная верхняя губа, удлинённый фильтр, высокое небо, длинные пальцы рук. Рост/вес: 68 см (50–75 перцентиль)/6000 г (<3 перцентиль). Моторное развитие с грубой задержкой: ребенок удерживал голову только в положении лежа на животе, не переворачивался. Повторный осмотр был проведен в 2 года, у пациентки сохранилась выраженная задержка моторного развития: села в 1,5 года, стоит

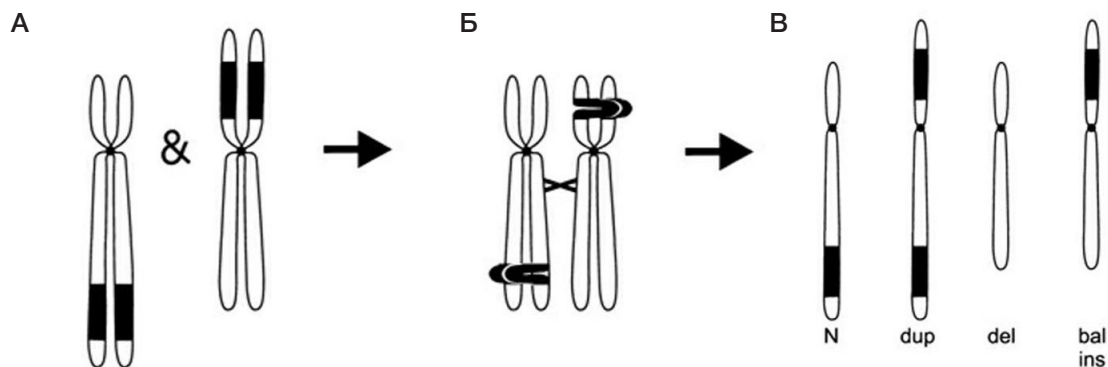


Рис. 1. Формирование гамет после рекомбинации между участками ХП при внутрихромосомной межплечевой инсерции. **А.** Слева нормальная хромосома, а справа хромосома с инсерцией. **Б.** Кроссинговер. **В.** Виды гамет (Адаптировано из: Gardner R. J., Amor D. J., 2018.)

Таблица. Нуклеотидные последовательности использованных в работе праймеров

Название	Последовательности ДНК-праймеров, 5'-3'	Длина ПЦР-продукта (п.н.)	Геномные координаты (hg19)
dup22q12.3_1	F:GTGGGGTGGAAATAGAGGAGGAAAAGTG	9118	chr22:36,911,962–36,938,387
	R: ACACAATAACGCAGAGAGTGAAATGGGT		
dup22q12.3_2	F: ACCCATTTCACTCTCTGCGTTATTGTGT	9818	
	R: CCAGCTTCATCTCATTCCTCTCTTGTC		
dup22q12.3_3	F: CACTCTTGCTGCTCTAGGGTTTCTTCTC	9964	
	R: ATGGGAATCTATTTTGTCTCCTGTCGCC		
22q13_1	F: GTCTCCCCCTCAAAAATGCTGGTGATAA	9874	chr22:41,525,966–41,555,314
	R: CAAGTAGCCTTCAGAGTTCATCTGCTC		
22q13_2	F: AAGACAGACGGATGGA AACCTAGTTGC	9002	
	R: GACATACTTGAGACACTGGAGCTTGACC		
22q13_3	F: AACTCTCCTATAATGCCTCCAGGGTCTC	9520	
	R: GCAACACACAAGTTCAGCAAAAACCAAC		
22q-invG-1	F: GTTCAAAGCCCCACAGTCTTCCAATG	9890	chr22:24,426,053–24,452,928
	R: AGGAGGAGGTCACAAGTCCATACCACT		
22q-invG-2	F: AGTGGTATGGACTTGTGACCTCCTCCT	9643	
	R: ACATGCTGGCGGGGAAAGAGACAGTTTA		
22q-invG-3	F: GAGTAGGGAGGGATGCTGCTGGGTTAAG	9182	
	R:GAGGAGACCAGAGAAGAGGGTGGCAATG		
22q-invR-1	F: GTGGAGAGGAGAGTGTGAATAGGGAAGT	9068	chr22:34,120,020–34,162,291
	R: GGTTGTTGCGAGATGAATGAAGCCAAAT		
22q-invR-2	F: CACCCACATTCTGAAGATGACACTAC	9095	
	R: TGAGTGAGTGATCGCCTCCTTTATGAGA		
22q-invR-3	F: AAACCTCTACCTCCAAAACCTATCCCA	9259	
	R: TCCCACATTCTCTCCATCCTCTTCTTGT		

и переступает у опоры с 2 лет. Навыки самообслуживания не сформированы, речевое развитие с легкой задержкой — говорит несколько простых слов.

Молекулярно-цитогенетические исследования

Для детекции CNV был проведен хромосомный микроматричный анализ образца ДНК периферической крови пациента, выполненный с использованием олигонуклеотидных микроматриц CytoScan HD Array (Affymetrix, Santa Clara, США) в соответствии с протоколами производителя. Анализ вариаций числа копий геномных участков проводили с помощью программного обеспечения Chromosome Analysis Suite (ChAS), версия 4.0 (Thermo Fisher Scientific Inc.; США), а результаты интерпретировали в соответствии с Международной системой цитогеномной номенклатуры (ISCN, 2020). Выявленные CNV сопоставляли с данными, опубликованными в научной литературе, а также с информацией из общедоступных баз данных: Database of Genomic Variants (DGV) (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>), DECIPHER (<http://decipher.sanger.ac.uk/>) и OMIM (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>). Геномные координаты представлены в соответствии со сборкой Human Genome February 2009 (GRCh37/hg19). Оценку клинической значимости вариантов проводили в соответствии со стандартами American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) [12].

FISH с коммерческими ДНК-зондами проводили на хромосомных препаратах из культивированных лимфоцитов периферической крови с локус-специфичным (22q11.2 LSI *TBX1*/ 22q13 *SHANK3*) и субтеломерным (Sub-telomere 22qter) ДНК-зондами (Kreatech, Нидерланды), а также с ДНК-зондом, специфичным для коротких плеч

acroцентрических хромосом (Acro-p) (MetaSystems, Германия) по соответствующим протоколам фирм-производителей. Денатурацию и гибридизацию проводили с использованием гибридизационной системы ThermoBrite (StatSpin, США), анализ — с помощью эпифлуоресцентного микроскопа «Axiomager M.1» (Carl Zeiss, Германия) и компьютерной программы обработки цифровых изображений «Isis» (MetaSystems, Германия).

Важным этапом исследования была разработка несерийных ДНК-зондов с целью уточнения структуры рекомбинантной хромосомы 22 у пациента и обследования родителей. Подбор праймеров осуществляли с помощью программы Primer-BLAST NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) и базы данных UCSC Genome Browser (<http://genome.ucsc.edu>). Для проверки специфичности выбранных праймеров использовали программу OligoAnalyzer™ Tool (<https://eu.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer/>). Праймеры были синтезированы в ЗАО «Евроген» (Россия). Нуклеотидные последовательности подобранных ДНК-праймеров представлены в таблице.

С помощью последовательностей подобранных ДНК-праймеров проводили LR-ПЦР с использованием набора BioMaster LR HS-PCR (2x) («БиолабМикс», Россия) на амплификаторе GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, США) в соответствии с протоколом производителя. Полученные ампликоны очищали на колонках с использованием набора diaGene для очистки ДНК из реакционных смесей (Диаэм, Россия) согласно инструкции производителя, с последующим объединением в одну пробирку очищенных продуктов ПЦР для получения ДНК-зонда размером 30 т.п.н. С целью введения флуоресцентной метки в ДНК-зонд использовали метод nick-трансляции. Для проведения FISH с несерийными

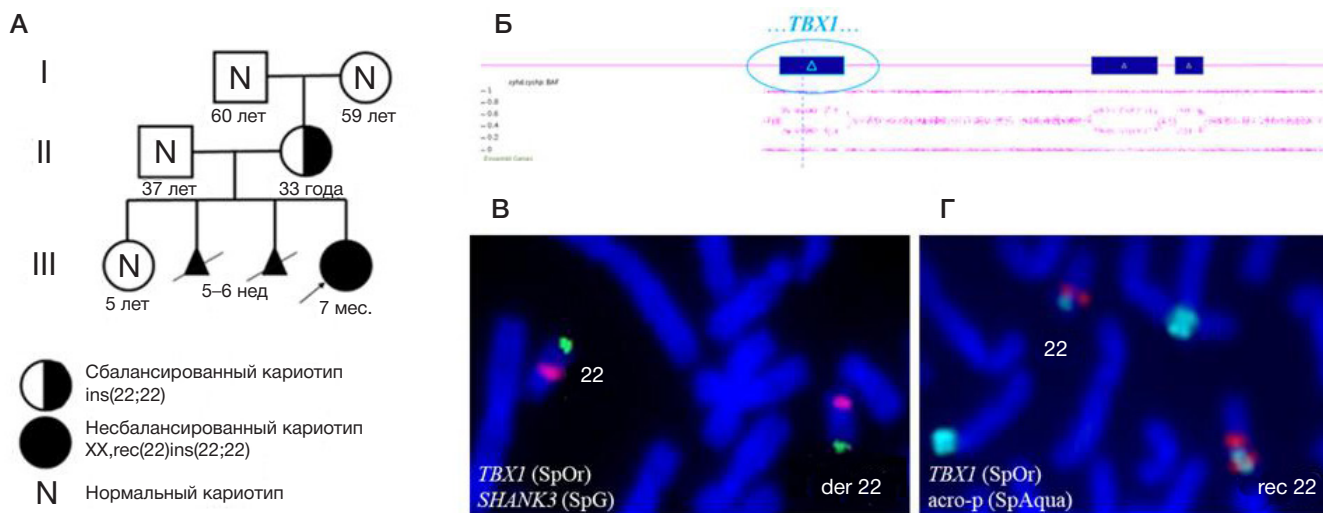


Рис. 2. Семейный случай внутрихромосомной ins(22;22). **А.** Родословная трех поколений семьи с *de novo* гетерозиготным носительством интрахромосомной инсерции 22. **Б.** Профиль гибридизации хромосомы 22, детектированный при XMA, демонстрирует три дупликации на хромосоме 22 у пациентки. **В.** Результат FISH-анализа матери на хромосомную область 22q11.2 (*TBX1* — SpOrange) с контрольным ДНК-зондом на ген *SHANK3* (SpGreen), не вовлеченный в хромосомную перестройку. **Г.** Результат FISH-анализа пациентки на хромосомную область 22q11.2: рекомбинантная хромосома 22 представлена инсерцией дуплицированного фрагмента с вовлеченным геном *TBX1* (SpOrange) в район ядрышкового организатора (p12) (acro-p — SpAqua).

ДНК-зондами использовали раздельную денатурацию ДНК на хромосомном препарате и ДНК-зонда [13–15].

Для контрокрашивания хромосом использовали DAPI I (Abbott Molecular, США) в растворе Vectashield (Vector Labs, США) в соотношении 1:20. Для анализа изображений метафазных хромосом применяли программу обработки цифровых изображений Isis (MetaSystems, Германия), установленную в комплексе с эпифлуоресцентным микроскопом Axiolmager M.1 (Carl Zeiss, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе молекулярно-цитогенетического обследования пациентки с задержкой моторного и психоречевого развития, черепно-лицевыми дизморфиями и тугоухостью провели ХМА, при котором выявили три интерстициальные микродупликации, локализованные на длинном плече хромосомы 22: arr[hg19] 22q11.21(18037572_21915207)x3,22q12.3q13.1(36793141_40756125)x3,22q13.2(41818449_43449759)x3 (рис. 2Б) размером 3,9 млн.п.н, 4 млн.п.н. и 1,6 млн.п.н. соответственно.

С целью верификации полученных данных проводили FISH-анализ хромосомных препаратов пациентки, родной сестры и их родителей с коммерческим ДНК-зондом на хромосомный локус 22q11.21 (ген *TBX1*). Установлено, что мать пациентки является носительницей внутривитаминной межплечевой инсерции участка 22q11.2 в район ядрышкового организатора (p12) (рис. 2В). Таким образом, дупликация, включающая ген *TBX1*, является следствием материнского мейотического кроссинговера в центромерном сегменте хромосом 22, что привело к формированию такой рекомбинантной хромосомы 22 у пациентки (рис. 2Г). При обследовании бабушки и дедушки по материнской линии инсерцию не выявили, что позволяет заключить, что хромосомная перестройка у матери была сформирована *de novo*.

Для верификации второй и третьей микродупликации была выдвинута гипотеза о существовании «единой» дупликации в регионе 22q12.3q13.2. Для этой задачи были разработаны несерийные локус-специфичные ДНК-зонды на два участка хромосомы 22: (hg19): 36,911,962–36,938,387 и (hg19):41,525,966–41,555,314. Дизайн праймеров

представлен в таблице. Проведенный FISH-анализ показал наличие у матери и внутриврохромосомной инсерции области q12.3q13.1 в район ядрышкового организатора (p12) хромосомы 22 (рис. 3Б). Таким образом, рекомбинантная хромосома 2 у пациентки содержит не только дупликацию, включающую ген *TBX1* (22q11.2), но и дупликацию q12.3q13.1 материнского происхождения (рис. 3В).

На основании полученных данных была выдвинута гипотеза о сложном механизме формирования хромосомной перестройки у матери пациентки. Между первой (22q11.21) и второй (22q12.3) дупликациям у пробанда была выявлена протяженная область дисомии размером 14,9 млн.п.н. (рис. 3А). Это позволило предположить, что у матери в длинном плече хромосомы 22 районы q11.21 и q12.3q13.1 могли оказаться рядом вследствие парацентрической инверсии (chr22(hg19):18,037,572–36,793,141). Поэтому обе эти области вместе были инсертированы в район ядрышкового организатора (p12) хромосомы 22 как следствие первоначальной *de novo* перестройки в мейозе одного из ее родителей, кариотипы которых были исследованы и оказались нормальными. Для верификации этой гипотезы были дополнительно разработаны еще два несерийных локус-специфичных ДНК-зонда на регионы q11.23 и q12.3 хромосомы 22 (chr22(hg19):24,426,053–24,452,928 и chr22(hg19):34,120,020–34,162,291 (таблица). Схема сложной хромосомной перестройки представлена на рис. 4.

В результате комплексного молекулярно-цитогенетического анализа с использованием как коммерческих, так и несерийных ДНК-зондов гипотеза сложного механизма формирования хромосомной перестройки у матери была подтверждена. Показано, что у пациентки рекомбинантная хромосома 22 с двумя микродупликациями явилась следствием двух последовательных событий в материнском мейозе: инициирующей парацентрической инверсией 22q11.21q12.3 и последующей межплечевой инсерцией районов 22q11.21 и 22q12.3q13.1 в область ядрышкового организатора 22p12. В рамках настоящей работы исследование третьей дупликации не проводилось, изучение планируется продолжить с целью объяснения полного механизма формирования сложной ХП у матери пациентки.

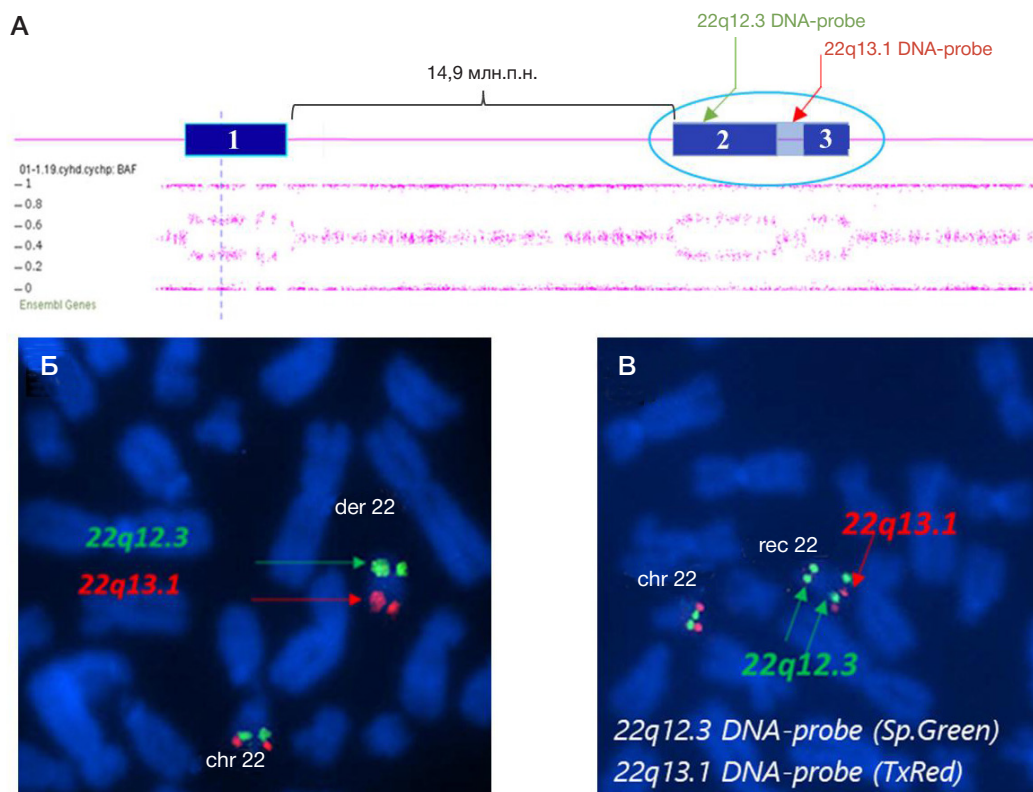


Рис. 3. Результат FISH с несериальными ДНК-зондами, опровергающий гипотезу о «единой» дупликации. **А.** Профиль гибридизации хромосомы 22, детектированный при ХМА у пациента и схема геномной локализации несериальных ДНК-зондов, разработанных для гипотезы «единой» дупликации. **Б.** Результат FISH-исследования с несериальными ДНК-зондами на метафазных хромосомах матери: дериватная хромосома 22 представлена инсерцией фрагмента 22q12.3 в район ядрышкового организатора (p12). Хромосомная область 22q13.1 не вовлечена в ХП. **В.** Результат FISH-исследования с несериальными ДНК-зондами на метафазных хромосомах пациентки: рекомбинантная хромосома 22 представлена инсерцией дуплицированного фрагмента 22q12.3 в район ядрышкового организатора (p12). Хромосомная область 22q13.1 не вовлечена в дупликацию и представлена одной копией на каждом гомологе

Таким образом, сочетание ХМА и FISH с коммерческими и несериальными ДНК-зондами позволило визуализировать механизм формирования хромосомного дисбаланса. Согласно родословной семьи, включающей три поколения, эмпирический риск повторного рождения ребенка с хромосомным/геномным дисбалансом или спонтанного прерывания беременности оценивается в 75%, что является высоким генетическим риском (рис. 2А).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Представленный случай демонстрирует редкий пример формирования рекомбинантной хромосомы 22 вследствие мейотической сегрегации сложной материнской внутривхромосомной перестройки — сочетания инверсии и инсерции. Похожие механизмы ранее описывались в исследованиях *rec(22)*, возникающих вследствие материнских внутривхромосомных перестроек. Так, описаны случаи *rec(22)*, при которых материнские внутривхромосомные инверсии приводили к дупликации дистальных участков 22q у потомства [16, 17]. Есть сообщение о пациентке с дупликацией 22q13.1q13.2, размером 7 млн.п.н., которая оказалась продуктом материнской инсерции [18]. Наш случай дополняет эти наблюдения, демонстрируя возможность образования рекомбинантной хромосомы 22 с несколькими CNV в результате наследования материнской комплексной внутривхромосомной межглычевой инсерции в сочетании с инверсией.

Акроцентрическая хромосома 22 является одной из самых коротких хромосом человека и при этом имеет самую высокую плотность LCR в ее длинном плече.

LCR представляют собой блоки ДНК размером 10–400 т.п.н., имеющие высокую степень (95–97%) идентичности нуклеотидных последовательностей, вследствие чего в этих районах происходит неаллельная гомологичная рекомбинация (НАГР), лежащая в основе типичных делеций и дупликаций 22q11.2 [6, 19]. Оптическое геномное картирование подтвердило значительную вариабельность LCR22 в популяции, что повышает вероятность нерекуррентных и сложных хромосомных перестроек [20]. В то же время для объяснения сложных многоэтапных событий, подобных описанному нами, полагают, что имеют место и другие, репликационно-опосредованные механизмы их формирования, а именно остановка вилки репликации и переключение микроматрицы (Fork Stalling and Template Switching - FoSTeS) или репликация, индуцированная микрогомлогией в точках разрыва (Microhomology-Mediated Break-Induced Replication (MMBIR) [3, 9, 10, 21].

В нашем случае у матери выявлена сложная внутривхромосомная перестройка: сочетание инициирующей парацентрической инверсии 22q11.21q12.3 (с координатами chr22(hg19):18,037,572–36,793,141) и последующей межглычевой инсерции районов 22q11.21 и 22q12.3q13.1 в область ядрышкового организатора 22p12. Проксимальная точка разрыва инверсии локализуется в зоне LCR22 A–B (~18–21 млн.п.н.), являющейся одной из «горячих точек» геномной нестабильности, приводящей к хромосомным перестройкам, опосредованным НАГР. Инверсии, охватывающие блоки низкокопийных повторов LCR22A–B или LCR22B–D/C, по данным литературы способны инициировать нерекуррентные хромосомные перестройки [6, 22]. Дистальная точка разрыва инверсии

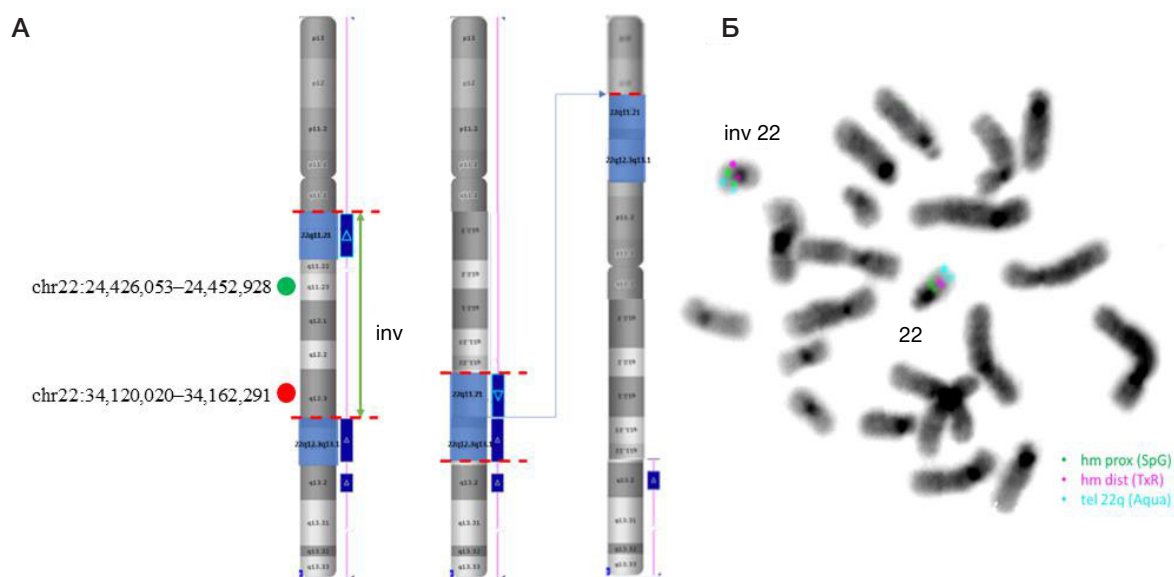


Рис. 4. А. Схема механизма формирования *de novo* материнской сложной ХП. **Б.** Результат FISH-анализа с дистальным несерийным ДНК-зондом (TxRed), проксимальным ДНК-зондом (SpGreen) на область инверсии (chr22(hg19):18,037,572–36,793,141) и коммерческим ДНК-зондом на субтеломерный район длинного плеча хромосомы 22 (SpAqua)

в длинном плече хромосомы 22 (~36,8 млн.п.н.) выходит за пределы классических LCR22 и расположена в области уникальных последовательностей 22q12.3, что делает вероятным участие репликационно-опосредованных механизмов (FoStEs/MMBIR) [21–23]. Инсерция протяженного хромосомного участка 22q в короткое плечо хромосомы 22 (22p) тоже объяснима. Известно, что *p*-плечи акроцентрических хромосом, содержащие район ядрышкового организатора (ЯОР) и многочисленные блоки повторов — динамические регионы генома [24]. Таким образом, сочетание инверсии с участием LCR22 и инсерции в ЯОР-область 22p формирует уникальный структурный фон, способный приводить к множественным дупликациям при мейотической сегрегации.

Наш случай расширяет спектр ранее описанных *rec(22)* и демонстрирует, что при сложной материнской ХП возможно формирование нескольких интерстициальных дупликаций у потомства. Этот механизм объединяет два ключевых момента — варибельную архитектуру генома вследствие обогащенности хромосомы 22 блоками низкокопийных повторов ДНК с одной стороны, и динамичность рибосомных повторов района ядрышкового организатора ее короткого плеча, с другой стороны.

Клинические проявления у нашего пациента с множественными CNV на хромосоме 22 включают задержку моторного и психоречевого развития, краниофациальные дизморфии, гипотонию и тугоухость, соответствующие фенотипическому спектру 22q11.2 дупликационного синдрома, для которого характерны задержка развития, поведенческие расстройства, нарушения слуха, черепно-лицевые аномалии и варибельная степень когнитивных нарушений. Аномалии фенотипа при дупликациях 22q11.2 отличаются выраженной гетерогенностью, что связывают как с дозозависимыми эффектами ключевых генов, включая *TBX1*, так и с влиянием дополнительных дуплицированных сегментов 22q12–q13, которые могут вносить вклад в нейроразвитие и слуховую функцию [8, 25, 26].

С точки зрения методологии, представленный случай подчеркивает необходимость комплексного цитогеномного анализа. Стандартное кариотипирование не позволяет выявлять CNV размером менее 10 млн.п.н., поэтому

в данном исследовании ключевую роль сыграли XMA и FISH. XMA продемонстрировал наличие трех интерстициальных микродупликаций, однако не дал ответа на вопрос об их механизме формирования. Только применение FISH с использованием как коммерческих, так и разработанных несерийных ДНК-зондов позволило определить топологию хромосомной перестройки и показать, что две из трех дупликаций возникли вследствие патологической мейотической сегрегации материнской сложной внутривхромосомной ХП. Важно подчеркнуть, что применение несерийных локус-специфичных ДНК-зондов, полученных методом ПЦР длинных фрагментов, оказалось принципиально значимым: они позволили дифференцировать гипотезу о «единой» дупликации от наличия двух отдельных дупликаций и подтвердить парацентрическую инверсию в длинном плече хромосомы 22 как ключевой, стартовый момент в формировании комплексной хромосомной перестройки у матери.

Таким образом, цитогеномный подход при использовании как коммерческих, так и разработанных собственных несерийных ДНК-зондов, позволил определить происхождение, механизм формирования и реконструировать сложную внутривхромосомную перестройку у пациентки с задержкой моторного и психоречевого развития и признаками дисэмбриогенеза. Полученные данные позволили также установить высокий повторный риск рождения ребенка с хромосомной патологией в данной семье.

ВЫВОДЫ

Настоящее исследование представляет собой молекулярно-цитогенетическую характеристику редкого случая формирования множественных интерстициальных дупликаций хромосомы 22 в результате мейотической сегрегации сложной внутривхромосомной инсерции, возникшей *de novo* у матери пробанда. Показано, что сочетание парацентрической инверсии и последовательных инсерционных событий может приводить к формированию рекомбинантных хромосом с несколькими CNV, определяющими клинически значимый хромосомный дисбаланс.

Литература

- Liehr T, Weise A, Mrasek K, Ziegler M, Padutsch N, Wilhelm K, et al. Recombinant chromosomes resulting from parental pericentric inversions — two new cases and a review of the literature. *Front Genet.* 2019; 10: 1165. DOI: 10.3389/fgene.2019.01165.
- Madan K, Menko FH. Intrachromosomal insertions: a case report and a review. *Hum Genet.* 1992; 89 (1): 1–9. DOI: 10.1007/BF00207032.
- Carvalho CM, Lupski JR. Mechanisms underlying structural variant formation in genomic disorders. *Nat Rev Genet.* 2016; 17 (4): 224–38. DOI: 10.1038/nrg.2015.25.
- Gardner RJ, Amor DJ. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counselling. 5th ed. Oxford: Oxford University Press, 2018; 440 p.
- Nowakowska BA, de Leeuw N, Ruivenkamp CA, Sikkema-Raddatz B, Crolla JA, Thoelen R, et al. Parental insertional balanced translocations are an important cause of apparently de novo CNVs in patients with developmental anomalies. *Eur J Hum Genet.* 2012; 20 (2): 166–70. DOI: 10.1038/ejhg.2011.157.
- Vervoort L, Vermeesch JR. The 22q11.2 low copy repeats. *Genes (Basel).* 2022; 13 (11): 2101. DOI: 10.3390/genes13112101.
- Demaerel W, Hosseinzadeh M, Nouri N, Sedghi M, Dimitriadou E, Salehi M, et al. Reciprocal 22q11.2 deletion and duplication in siblings with karyotypically normal parents. *Cytogenet Genome Res.* 2016; 148 (1): 1–5. DOI: 10.1159/000445089.
- Portnoi MF. Microduplication 22q11.2: a new chromosomal syndrome. *Eur J Med Genet.* 2009; 52 (2–3): 88–93. DOI: 10.1016/j.ejmg.2009.02.008.
- Arlt MF, Wilson TE, Glover TW. Replication stress and mechanisms of CNV formation. *Curr Opin Genet Dev.* 2012; 22 (3): 204–10. DOI: 10.1016/j.gde.2012.01.009.
- Liu P, Carvalho CM, Hastings PJ, Lupski JR. Mechanisms for recurrent and complex human genomic rearrangements. *Curr Opin Genet Dev.* 2012; 22 (3): 211–20. DOI: 10.1016/j.gde.2012.02.012.
- Li S, Han X, Ye M, Chen S, Shen Y, Niu J, et al. Prenatal diagnosis of microdeletions or microduplications in the proximal, central, and distal regions of chromosome 22q11.2: ultrasound findings and pregnancy outcome. *Front Genet.* 2019; 10: 813. DOI: 10.3389/fgene.2019.00813.
- Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of ACMG and ClinGen. *Genet Med.* 2020; 22 (2): 245–57. DOI: 10.1038/s41436-019-0686-8.
- Minzhenkova ME, Yurchenko DA, Semenova NA, Markova ZG, Tarlycheva AA, Shilova NV. Characterization of a complex chromosomal rearrangement in a girl with PURA syndrome. *Genet Mol Res.* 2022; 21 (4). DOI: 10.4238/gmr19065.
- Юрченко Д. А., Миньженкова М. Е., Твеленева А. А., Воронцова Е. О., Харченко Т. В., Шилова Н. В. Цитогеномный подход в диагностике инвертированных дупликаций со смежными терминальными делециями. *Медицинская генетика.* 2023; 22 (5): 54–62.
- Юрченко Д. А. Молекулярно-цитогенетические характеристики и особенности диагностики вариаций числа копий участков ДНК (CNV) [диссертация]. М., 2022.
- Tonk VS, Jesurun CA, Morgan DL, Lockhart LH, Velagaleti GV. Molecular cytogenetic characterization of a recombinant chromosome rec(22)dup(22q)inv(22)(p13q12.2). *Am J Med Genet A.* 2004; 124A (1): 92–95. DOI: 10.1002/ajmg.a.20384.
- Boyd LJ, Livingston JS, Brown MG, Lawce HJ, Gilhooly JT, Wildin RS, et al. Meiotic exchange event within the stalk region of an inverted chromosome 22 results in a recombinant chromosome with duplication of the distal long arm. *Am J Med Genet A.* 2005; 138 (4): 355–60. DOI: 10.1002/ajmg.a.30895.
- Pramparo T, de Gregori M, Gimelli S, Ciccone R, Frondizi D, Liehr T, et al. A 7 Mb duplication at 22q13 in a girl with bipolar disorder and hippocampal malformation. *Am J Med Genet A.* 2008; 146A (13): 1754–60. DOI: 10.1002/ajmg.a.32326.
- Stankiewicz P, Lupski JR. Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. *Trends Genet.* 2002; 18 (2): 74–82. DOI: 10.1016/s0168-9525(02)02592-1.
- Pastor S, Tran O, Jin A, Carrado D, Silva BA, Uppuluri L, et al. Optical mapping of the 22q11.2DS region reveals complex repeat structures and preferred locations for NAHR. *Sci Rep.* 2020; 10 (1): 12235. DOI: 10.1038/s41598-020-69134-4.
- Zhang F, Khajavi M, Connolly AM, Towne CF, Batish SD, Lupski JR. The DNA replication FoSTeS/MMBIR mechanism can generate genomic, genic and exonic complex rearrangements in humans. *Nat Genet.* 2009; 41 (7): 849–53. DOI: 10.1038/ng.399.
- Demaerel W, Mostovoy Y, Yilmaz F, Vervoort L, Pastor S, Hestand MS, et al. The 22q11 low copy repeats are characterized by unprecedented size and structural variability. *Genome Res.* 2019; 29 (9): 1389–401. DOI: 10.1101/gr.248682.119.
- Guo T, Diacou A, Nomaru H, McDonald-McGinn DM, Hestand M, Demareel W, et al. Deletion size analysis of 1680 22q11.2DS subjects identifies a new recombination hotspot on chromosome 22q11.2. *Hum Mol Genet.* 2018; 27 (7): 1150–63. DOI: 10.1093/hmg/ddy028.
- van Sluis M, van Vuuren C, Mangan H, McStay B. NORs on human acrocentric chromosome p-arms are active by default and can associate with nucleoli independently of rDNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020; 117 (19): 10368–77. DOI: 10.1073/pnas.2001812117.
- Purow J, Waidner L, Ale H. Review of the pathophysiology and clinical manifestations of 22q11.2 deletion and duplication syndromes. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2025; 68 (1): 23. DOI: 10.1007/s12016-025-09035-4.
- Deepika M, Tella S, Avvari S, Pratibha N, Ananthapur V. A rare case of dysmorphism with duplication in chromosome 22. *Indian J Clin Biochem.* 2022; 37 (4): 504–6. DOI: 10.1007/s12291-020-00945-y.

References

- Liehr T, Weise A, Mrasek K, Ziegler M, Padutsch N, Wilhelm K, et al. Recombinant chromosomes resulting from parental pericentric inversions — two new cases and a review of the literature. *Front Genet.* 2019; 10: 1165. DOI: 10.3389/fgene.2019.01165.
- Madan K, Menko FH. Intrachromosomal insertions: a case report and a review. *Hum Genet.* 1992; 89 (1): 1–9. DOI: 10.1007/BF00207032.
- Carvalho CM, Lupski JR. Mechanisms underlying structural variant formation in genomic disorders. *Nat Rev Genet.* 2016; 17 (4): 224–38. DOI: 10.1038/nrg.2015.25.
- Gardner RJ, Amor DJ. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counselling. 5th ed. Oxford: Oxford University Press, 2018; 440 p.
- Nowakowska BA, de Leeuw N, Ruivenkamp CA, Sikkema-Raddatz B, Crolla JA, Thoelen R, et al. Parental insertional balanced translocations are an important cause of apparently de novo CNVs in patients with developmental anomalies. *Eur J Hum Genet.* 2012; 20 (2): 166–70. DOI: 10.1038/ejhg.2011.157.
- Vervoort L, Vermeesch JR. The 22q11.2 low copy repeats. *Genes (Basel).* 2022; 13 (11): 2101. DOI: 10.3390/genes13112101.
- Demaerel W, Hosseinzadeh M, Nouri N, Sedghi M, Dimitriadou E, Salehi M, et al. Reciprocal 22q11.2 deletion and duplication in siblings with karyotypically normal parents. *Cytogenet Genome Res.* 2016; 148 (1): 1–5. DOI: 10.1159/000445089.
- Portnoi MF. Microduplication 22q11.2: a new chromosomal syndrome. *Eur J Med Genet.* 2009; 52 (2–3): 88–93. DOI: 10.1016/j.ejmg.2009.02.008.
- Arlt MF, Wilson TE, Glover TW. Replication stress and mechanisms of CNV formation. *Curr Opin Genet Dev.* 2012; 22 (3): 204–10. DOI: 10.1016/j.gde.2012.01.009.
- Liu P, Carvalho CM, Hastings PJ, Lupski JR. Mechanisms for recurrent and complex human genomic rearrangements. *Curr Opin Genet Dev.* 2012; 22 (3): 211–20. DOI: 10.1016/j.gde.2012.02.012.
- Li S, Han X, Ye M, Chen S, Shen Y, Niu J, et al. Prenatal diagnosis of microdeletions or microduplications in the proximal, central,

- and distal regions of chromosome 22q11.2: ultrasound findings and pregnancy outcome. *Front Genet.* 2019; 10: 813. DOI: 10.3389/fgene.2019.00813.
12. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of ACMG and ClinGen. *Genet Med.* 2020; 22 (2): 245–57. DOI: 10.1038/s41436-019-0686-8.
 13. Minzhenskova ME, Yurchenko DA, Semenova NA, Markova ZG, Tarlycheva AA, Shilova NV. Characterization of a complex chromosomal rearrangement in a girl with PURA syndrome. *Genet Mol Res.* 2022; 21 (4). DOI: 10.4238/gmr19065.
 14. Yurchenko DA, Minzhenskova ME, Tveleneva AA, Voroncova EO, Harchenko TV, Shilova NV. Citogenomnyj podhod v diagnostike invertirovannyh duplikacij so smezhnymi terminal'nymi delecijami. *Medicinskaya genetika.* 2023; 22 (5): 54–62. Russian.
 15. Yurchenko DA. Molekulyarno-citogeneticheskie harakteristiki i osobennosti diagnostiki variacij chisla kopij uchastkov DNK (CNV) [dissertaciya]. M., 2022. Russian.
 16. Tonk VS, Jesurun CA, Morgan DL, Lockhart LH, Velagaleti GVN. Molecular cytogenetic characterization of a recombinant chromosome rec(22)dup(22q)inv(22)(p13q12.2). *Am J Med Genet A.* 2004; 124A (1): 92–95. DOI: 10.1002/ajmg.a.20384.
 17. Boyd LJ, Livingston JS, Brown MG, Lawce HJ, Gilhooly JT, Wildin RS, et al. Meiotic exchange event within the stalk region of an inverted chromosome 22 results in a recombinant chromosome with duplication of the distal long arm. *Am J Med Genet A.* 2005; 138 (4): 355–60. DOI: 10.1002/ajmg.a.30895.
 18. Pramparo T, de Gregori M, Gimelli S, Ciccone R, Frondizi D, Liehr T, et al. A 7 Mb duplication at 22q13 in a girl with bipolar disorder and hippocampal malformation. *Am J Med Genet A.* 2008; 146A (13): 1754–60. DOI: 10.1002/ajmg.a.32326.
 19. Stankiewicz P, Lupski JR. Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. *Trends Genet.* 2002; 18 (2): 74–82. DOI: 10.1016/s0168-9525(02)02592-1.
 20. Pastor S, Tran O, Jin A, Carrado D, Silva BA, Uppuluri L, et al. Optical mapping of the 22q11.2DS region reveals complex repeat structures and preferred locations for NAHR. *Sci Rep.* 2020; 10 (1): 12235. DOI: 10.1038/s41598-020-69134-4.
 21. Zhang F, Khajavi M, Connolly AM, Towne CF, Batish SD, Lupski JR. The DNA replication FoSTeS/MMBIR mechanism can generate genomic, genic and exonic complex rearrangements in humans. *Nat Genet.* 2009; 41 (7): 849–53. DOI: 10.1038/ng.399.
 22. Demareel W, Mostovoy Y, Yilmaz F, Vervoort L, Pastor S, Hestand MS, et al. The 22q11 low copy repeats are characterized by unprecedented size and structural variability. *Genome Res.* 2019; 29 (9): 1389–401. DOI: 10.1101/gr.248682.119.
 23. Guo T, Diacou A, Nomaru H, McDonald-McGinn DM, Hestand M, Demareel W, et al. Deletion size analysis of 1680 22q11.2DS subjects identifies a new recombination hotspot on chromosome 22q11.2. *Hum Mol Genet.* 2018; 27 (7): 1150–63. DOI: 10.1093/hmg/ddy028.
 24. van Sluis M, van Vuuren C, Mangan H, McStay B. NORs on human acrocentric chromosome p-arms are active by default and can associate with nucleoli independently of rDNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020; 117 (19): 10368–77. DOI: 10.1073/pnas.2001812117.
 25. Purow J, Waidner L, Ale H. Review of the pathophysiology and clinical manifestations of 22q11.2 deletion and duplication syndromes. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2025; 68 (1): 23. DOI: 10.1007/s12016-025-09035-4.
 26. Deepika M, Tella S, Awari S, Pratibha N, Ananthapur V. A rare case of dysmorphism with duplication in chromosome 22. *Indian J Clin Biochem.* 2022; 37 (4): 504–6. DOI: 10.1007/s12291-020-00945-y.