https://doi.org/10.23946/2500-0764-2021-6-4-142-150

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ПРАКТИКЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ЧАСТЬ I: ИСТОРИЯ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЦИТОГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

ВОЛКОВ А.Н.*, НАЧЕВА Л.В.

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Кемерово, Россия

Резюме

Цитогенетика является важным научно-практическим разделом генетики человека. В ее задачи, в числе прочего, входит изучение структуры отдельных хромосом и их полного набора, кариотипа. Цитогенетические методы нашли широкое применение в фундаментальных биологических исследованиях при изучении организации, активности и эволюции наследственного аппарата клетки. Анализ состояния и структуры хромосом в различных условиях открывает возможность для изучения физиологических процессов, протекающих в клетке в норме и при патологии. Наоборот, частота и спектр хромосомных аномалий могут служить индикатором мутагенного воздействия на клетку и организм в целом.

В медицине исследование хромосом является незаменимым методом установления генетических причин ряда заболеваний и функциональных нарушений у человека на разных этапах онтогенеза. Геномные и хромосомные мутации являются распространенной причиной возникновения пороков развития в раннем неонатальном периоде, снижения репродуктивной функции, аномального течения беременности. Генетический скрининг хромосомных аномалий и пороков развития плода является мощным инструментом для снижения генетического груза в популяциях человека, уменьшения материальной, психологической и социальной нагрузки на отдельно взятую семью и общество. Предлагаемая статья начинает цикл лекций о цитогенетике человека, ее теоретических основах и практическом применении в медико-биологических исследованиях. Она познакомит читателей с краткой историей науки, теоретическими принципами, лежащими в основе цитогенетического исследования, и техникой проведения таких исследований. Обсуждается строение хромосом человека, их классификация и структура нормального кариотипа человека. Лекция ориентирована, прежде всего, на студентов медико-биологических специальностей, молодых специалистов, планирующих использовать в своей практической деятельности цитогенетические методы исследований, и врачей, сталкивающихся с необходимостью анализировать и интерпретировать результаты цитогенетического анализа.

Ключевые слова: цитогенетика человека, хромосомы, кариотип, мутации

Конфликт интересов

Конфликт интересов не заявляется.

Источник финансирования

Собственные средства.

Для цитирования:

Волков А.Н., Начева Л.В. Цитогенетические методы в практике современных медико-биологических исследований. Часть I: История и теоретические основы цитогенетики человека. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2021;6(4): 142-150. https://doi.org/10.23946/2500-0764-2021-6-4-142-150

Корреспонденцию адресовать:

Волков Алексей Николаевич, 650056, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а, E-mail: volkov_alex@rambler.ru

© Волков А.Н., Начева Л.В.

LECTURES

CYTOGENETIC TECHNIQUES IN CURRENT BIOMEDICAL RESEARCH. PART I: HISTORY AND THEORETICAL BASIS OF HUMAN CYTOGENETICS

ALEXEY N. VOLKOV**, LYUBOV V. NACHEVA

Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

Abstract

Cytogenetics is an essential part of human genetics which studies the structure of chromosomes and their collection which is called karyotype. Cytogenetic techniques are employed while interrogating DNA organisation and compaction. Analysis of the chromosomal structure contributes to uncovering the molecular basis of various cellular processes in normal and pathological conditions. Furthermore, spectrum and frequency of chromosome abnormalities serves as an indicator of mutagenic effects. Cytogenetic techniques became indispensable for discovering the genetic causes of human diseases at different stages of ontogenesis. Genetic abnormalities are a common cause of impaired reproductive function, abnormal pregnancy, and neonatal malformations. Genetic screening for chromosomal abnormalities and congenital anomalies is a powerful tool for reducing the genetic load in human populations as well as disease, psychological and social burden on families and societies. This paper begins the cycle of lectures on molecular basis of human cytogenetics, cytogenetic techniques, and the corresponding research and clinical applications. The lecture is primarily aimed at biomedical students and physicians who often have an unmet need to analyse and interpret the results of cytogenetic analyses.

Keywords: human cytogenetics, chromosomes, karyotype, mutations

Conflict of Interest

None declared.

Funding

There was no funding for this project.

◀ English

For citation:

Alexey N. Volkov, Lyubov V. Nacheva. Cytogenetic techniques in current biomedical research. Part I: History and theoretical basis of human cytogenetics. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2021;6(4): 142-150. https://doi.org/10.23946/2500-0764-2021-6-4-142-150

Corresponding author:

Dr. Alexey N. Volkov, 22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation, E-mail: volkov_alex@rambler.ru

© Alexey N. Volkov and Lyubov V. Nacheva

Введение

Количество и морфологические особенности хромосом типичной клетки живого объекта составляют одну из фундаментальных биологических характеристик вида, называемую кариотипом. Исследование кариотипа человека является основной задачей цитогенетики. В наши дни, как и десятилетия назад, «золотым стандартом» цитогенетики человека остается микроскопический анализ препаратов метафазных хромосом. Цитогенетический анализ кариотипа человека незаменим при выявлении мутаций геномного и хромосомного типов. Использование разнообразных биологических материалов и техник культивирования клеток in vitro, разных способов фиксации и окрашивания препаратов позволяет выявлять в образцах многочисленные числовые и структурные изменения хромосом [1–4].

Этот подход нашел широкое применение как в фундаментальных, так и в прикладных медико-биологических исследованиях. Сопоставление кариотипов человека и приматов стало значительной вехой в развитии теории эволюции и изучении происхождения нашего вида [5, 6]. Анализ спектральных характеристик мутаций при различных эндо- и экзогенных воздействиях на организм человека способствовал установлению мутагенности и канцерогенности ряда физических, химических и биологических агентов [7]. Использование клеточной культуры лимфоцитов как генетической тест-системы для скрининга и мониторинга мутагенного воздействия стало популярным исследователь-

ским методом в экологической генетике и генетической токсикологии [7–9].

Исследование кариотипа стало незаменимым методом установления генетических причин ряда заболеваний и функциональных нарушений у человека на разных этапах онтогенеза [4]. Наиболее частым поводом для назначения цитогенетического исследования является выявление пороков развития в раннем неонатальном периоде [2]. Хромосомные мутации являются распространенной причиной нарушения репродукции, что служит показанием для кариотипирования при супружеском бесплодии [10]. С другой стороны, численные и структурные аномалии хромосом обнаруживаются у более чем 70% спонтанных абортусов, что позволяет считать мутации важнейшей причиной самопроизвольного прерывания беременности в ранние сроки, а тест на их выявление – важной диагностической процедурой [11].

Отдельного упоминания заслуживает использование цитогенетического исследования в рамках скрининговых программ, что имеет отношение к обширным группам населения. Согласно действующим медицинским регламентам, беременные женщины Российской Федерации должны участвовать в процедуре пренатальной генетической диагностики для раннего выявления тяжелых пороков развития плода[1]. В рамках скрининга для части женщин предусмотрена процедура цитогенетического исследования плодного материала с целью выявления генетических нарушений у плода. Результаты исследования доводятся до сведения женщины и ее врача, что позволяет своевременно принять решение о продолжении или прерывании беременности. Данная скрининговая программа является мощным инструментом для снижения генетического груза в популяциях человека, уменьшения материальной, психологической и социальной нагрузки на отдельно взятую семью и общество в целом [12, 13].

[1] *Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология»: Приказ Минздрава России от 20.10.2020 №1130н [Электронный ресурс] // Гарант: информационно-правовой портал. – URL: https://base.garant.ru/74840123/ (дата обращения: 06.11.2021)*

Предлагаемый цикл лекций познакомит читателей с теоретическими принципами, лежащими в основе цитогенетического исследования, техникой проведения таких исследований, их практической полезностью и ограничениями. Лекция ориентирована, прежде всего, на студентов медико-биологических специальностей, а также молодых специалистов, планирующих использовать цитогенетические методы в своей практической деятельности.

Краткая история становления цитогенетики человека

Первые попытки разработать методы приготовления препаратов хромосом человека предпринимались на стыке XIX–XX веков. При этом обычно осуществляли манипуляции с твердыми биологическими образцами с использованием хорошо отработанных к тому времени гистологических техник. Получаемые препараты не обладали достаточным качеством не только для исследования структуры хромосом, но и для простого подсчета их количества. Метафазные пластинки часто повреждались под влиянием давления или режущих инструментов, а хромосомы имели тенденцию к взаимному наложению и образованию больших хроматиновых комков. Кроме того, обнаружение в препарате делящихся клеток на нужной стадии клеточного цикла с хорошо визуализируемыми хромосомами было большой удачей [14].

Без малого два десятка опубликованных к 1920 году исследований демонстрировали непостоянные результаты. В большинстве случаев изученный кариотип человека имел заниженное хромосомное число, что, вероятно, связано с потерей части хромосом при манипуляциях. Заметной вехой в цитогенетике стали исследования Т. С. Пейнтера (Theophilus Shickel Painter). Изучая препараты тестикул человека, ученый не только показал, что мужской пол у Homo sapiens определяется наличием Y-хромосомы, но и с некоторой долей сомнения постулировал наличие 46 или 48 хромосом в нормальном мужском кариотипе [15].

Не вполне ясно, почему данная неопределенность не была разрешена вплоть до 50-х годов XX столетия. Даже в 1952 г., публикуя результаты своих цитогенетических исследований образцов культивируемой эмбриональной кожи и селезенки, Т. Хсу (Tao-Chiuh Hsu) выявляет 48(!) хромосом в кариотипе человека [16]. Настоящая заслуга ученого, однако, заключается

в оптимизации старой техники приготовления препаратов хромосом путем введения дополнительного этапа – гипотонической обработки клеток. Кратковременный гипотонический шок позволяет увеличить объем клетки и способствует разбросу хромосом на препаратах [17].

Другое важное техническое новшество одним из первых предложил Д. А. Леван (Johan Albert Levan) [18]. Для увеличения количества клеток, находящихся в стадии метафазы, оптимальной для цитогенетического анализа, в клеточную культуру добавлялся колхицин, нарушающий формирование веретена деления и препятствующий завершению клеточного цикла. Другим эффектом колхицина является повышение компактности хромосом и уменьшение вероятности их наложений. Комбинация двух ноу-хау (гипотонического шока и колхицина) при культивировании и фиксации клеток человека позволили ученым к середине 1950-х получить, наконец, цитогенетические препараты надлежащего для надежных исследований качества.

Приоритет точного подсчета хромосомного числа человека принадлежит Д. Х. Тио (Joe Hin Tjio), который в соавторстве с Д. А. Леваном опубликовал в 1956 г. в малоизвестном шведском журнале Hereditas статью под заголовком «The chromosome number of man» [19]. Для исследования были использованы клеточные культуры фибробластов легких, полученные от эмбрионов человека. В каждой из 261 проанализированной метафазной пластинки были обнаружены 46 хромосом **(рисунок 1)**. Авторы даже предложили схематическую кариограмму хромосомного набора нескольких изученных клеток. И хотя Д. Х. Тио и Д. А. Леван были осторожны в выводах и допустили, что данный кариотип специфичен для изучаемого типа тканей, стало очевидным, что исследование заложило технологическую и идеологическую основу для новой цитогенетики человека.

Техника цитогенетического исследования

Как становится ясным из сказанного, для цитогенетического анализа хромосом человека в медико-биологических исследованиях могут использоваться различные типы клеток и тканей в зависимости от поставленных исследователем задач. Теоретически, пригодной является любая клетка организма, содержащая ядро. Однако в рутинной практике медицинской цитогенетической лаборатории в большинстве случаев анализируются хромосомы лейкоцитов крови, предварительно культивируемых *in vitro*. Основным преимуществом данного материала является доступность при минимальной травматичности и болезненности процедуры забора венозной крови [2, 7, 10].

Рисунок 1.

Метафазная пластинка (А) и кариограмма хромосом человека (Б) по Д.Х. Тио [19].

Figure 1.

Metaphase plate (A) and karyogram of human chromosomes (B) according to J.H. Tjio [19].

Для стимуляции клеточного деления в культуру клеток цельной венозной крови вводят стимулятор клеточного деления – митоген. Эту функцию обычно выполняет растительный лектин фитогемагглютинин (ФГА), который, по-видимому, имитирует антигенную атаку на иммунные клетки. Для накопления достаточного количества лимфоцитов требуется 48–72 часа культивирования при 37^{0}С в атмосфере с повышенным содержанием углекислого газа. За это время стимулированные клетки успевают пройти синтетическую стадию, и содержание молекул ДНК в них возрастает с 2с до 4с **(рисунок 2)**. С этого момента каждая хромосома состоит из двух идентичных нитей, соединенных в области центромеры вплоть до начала анафазы. Цитогенетическое исследование хромосом возможно уже на стадии поздней профазы, однако максимальная компактность молекул достигается в метафазе [2, 20].

Метафазные хромосомы обладают четкой морфологией и наиболее удалены друг от друга, поэтому большинство исследователей отдают предпочтение изучению именно метафазных хромосом. Очевидно, что в процессе культивирования лимфоциты крови делятся асинхронно и в момент приготовления цитогенетического препарата могут находиться на разных стадиях клеточного цикла. Для остановки клеточно-

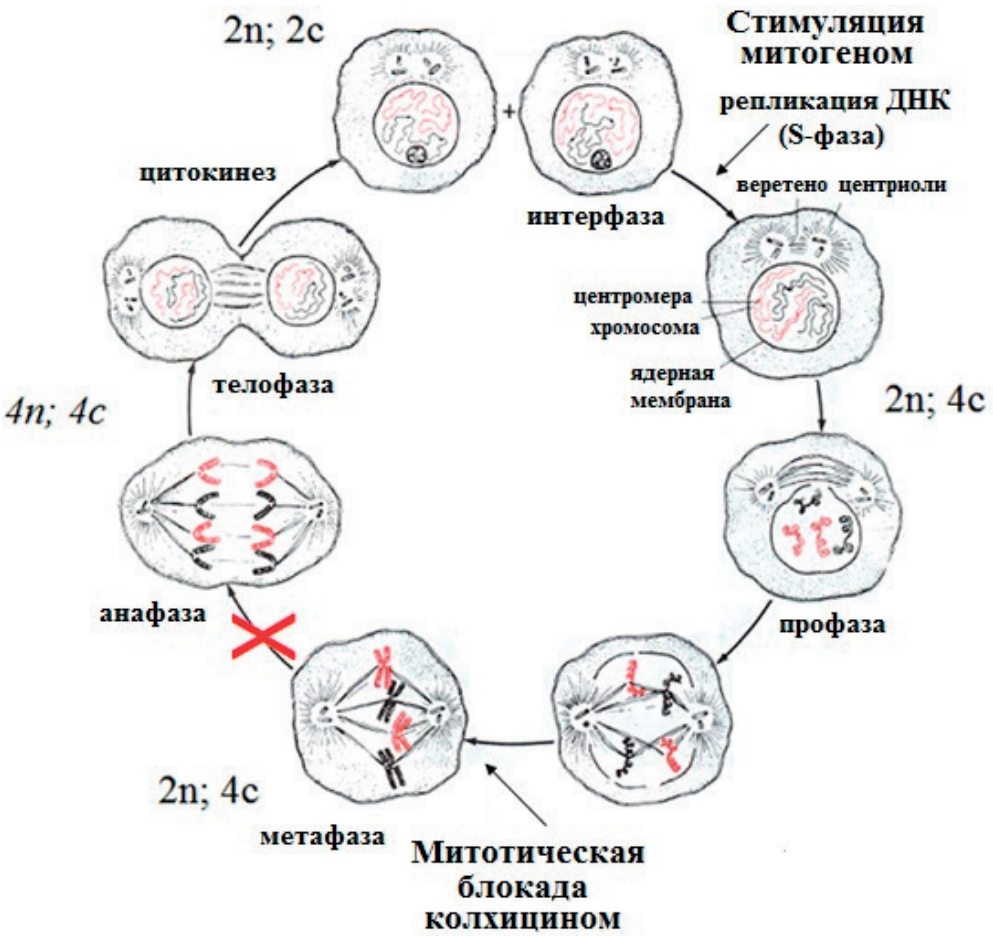

Рисунок 2.

Принцип получения метафазных хромосом человека из лимфоцитов периферической крови для приготовления цитогенетических препаратов.

Figure 2.

The principle of obtaining human metaphase chromosomes from peripheral blood lymphocytes for the preparation of samples for cytogenetic analysis.

го деления в фазе метафазы в клеточную культуру незадолго до фиксации добавляют колхицин, препятствующий формированию веретена деления. На завершающей стадии культуральный материал фиксируют спиртово-уксусной смесью, раскапывают на предметные стекла и окрашивают одним из способов, наиболее подходящих для текущих задач [2, 3, 7].

Лимфоциты периферической крови популярный, но не единственный источник клеток для кариотипирования. В настоящее время широко проводятся цитогенетические исследования на пренатальной стадии индивидуального развития человека, позволяющие оценить генетическое здоровье еще не родившегося индивидуума. Как и лимфоциты периферической крови, лимфоциты из пуповины плода относятся к культивируемым биоматериалам. Хотя в настоящее время существуют методики цитогенетических исследований этих клеток на стадии интерфазы, метафазные хромосомы можно получить только в результате культивирования [2, 21].

В целом условия выполнения технологии соответствуют таковым при работе с периферической кровью. Но дополнительным этапом является проверка материала на отсутствие загрязнения (контаминации) материнской кровью, которое может произойти в ходе инвазивного получения крови плода через брюшную стенку матери (трансабдоминальный кордоцентез). Попадание материнских клеток в культуру и их последующий рост могут привести к искажению результатов цитогенетического анализа и выдачи неверного медицинского заключения.

Амниоцентез – еще одна методика получения плодного клеточного материала из амниотической полости. Осуществляется во II триместре беременности (оптимально, на 15–17-й неделе беременности) по мере накопления достаточного количества околоплодной жидкости. Прямой анализ хромосом амниоцитов без культивирования возможен при наличии дорогостоящего оборудования, а основной подход – флуоресцентная гибридизация *in situ* (Fluorescence In Situ Hybridization, FISH) доступен только опытным специалистам. Поэтому зачастую прибегают к культивированию клеток для последующего получения метафазных хромосом и классического цитогенетического анализа [2, 22].

Клетки амниотической жидкости являются разнородной группой клеток плода. Среди них преобладают эпителиоциты, для которых характерно образование прикрепленных колоний в культуральном флаконе. Поэтому для постановки культуры амниоцитов используют прямоугольные плоские флаконы с площадью поверхности 25 см^2. Для имитации условий нахождения в организме матери, клетки культивируют при 37^{0}С в атмосфере с повышенным содержанием углекислого газа (5%). Для колоний амниоцитов характерен длительный период развития и накопления клеток, поэтому клеточная культура поддерживается на протяжении 10–14 дней при периодическом обновлении питательной среды. Последний факт объясняет особые требования, предъявляемые к чистоте материалов и рабочих зон при манипуляциях с клетками амниотической жидкости [2].

Хорион является экстраэмбриональной тканью развивающегося зародыша и предоставляет возможность изучать состояние его хромосомного аппарата даже на более ранних сроках беременности (с 8–9 недель), чем при изучении клеток амниотической жидкости. Существуют методики кратковременного культивирования ворсин хориона, однако с целью сокращения времени анализа допустимо использовать и прямые способы получения цитогенетических препаратов из этой ткани. В таком случае количество подходящих для исследования делящихся клеток полностью зависит от индивидуальных особенностей самого образца хориона. В частности, критичным является срок беременности, а наибольшей пролиферативной активностью характеризуется ткань, взятая в I триместре [2, 23].

Перечисленные биологические материалы не ограничивают список всех пригодных для цитогенетического анализа источников клеток. Выбор материала зависит от направления медико-биологического исследования и текущих задач. Так, для анализа кариотипа злокачественных клеток пригодны как живые клетки костного мозга или биоптата, так и фиксированные препараты ткани. Для изучения генетических особенностей половых клеток могут использоваться сперматозоиды эякулята и полярные тельца, сопутствующие яйцеклетке. В отдельных случаях целесообразным оказывается использование культуры фибробластов кожи.

Вне зависимости от типа используемого клеточного материала классическое цитогенетическое исследование завершается микроскопическим анализом кариотипа. При этом морфология хромосом в норме остается постоянной (за исключением случаев естественных вариаций), что и делает возможным использование их в качестве эталона при выявлении генетических аномалий [1, 2].

Строение хромосом и структура кариотипа человека

Как было отмечено ранее, оптимальной для изучения хромосом стадией клеточного цикла является метафаза. На этом этапе кариотип содержит удвоенное количество ДНК (2с), а каждая хромосома представлена двумя сестринскими хроматидами, соединенными в области центромеры **(рисунок 3)**. Центромера делит каждую из сестринских хроматид на два участка, или плеча. Большинство метафазных хромосом выглядят асимметричными, таким образом, что одно из плеч оказывается коротким (p-плечо) относительно другого длинного плеча (q-плечо).

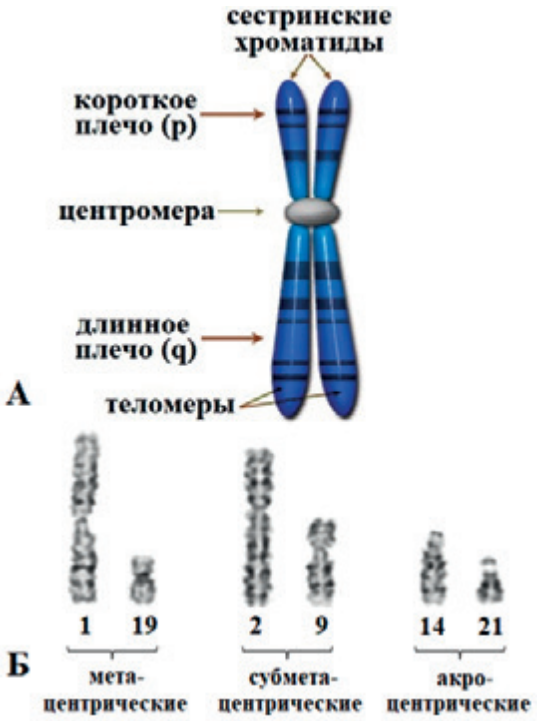

Рисунок 3.

Строение метафазной хромосомы (А) и примеры хромосом различной морфологии с указанием индивидуальных номеров (Б).

Figure 3.

The structure of a metaphase chromosome (A) and examples of distinct chromosome types (B).

Для различения и классификации хромосом используют два морфологических критерия: абсолютный размер хромосомы и соотношение длин плеч. Последний параметр, называемый центромерным индексом, определяется как отношение длины короткого плеча хромосомы к ее полной длине. Если плечи практически одинаковы по длине (центромерный индекс более 46%) хромосома считается метацентрической.

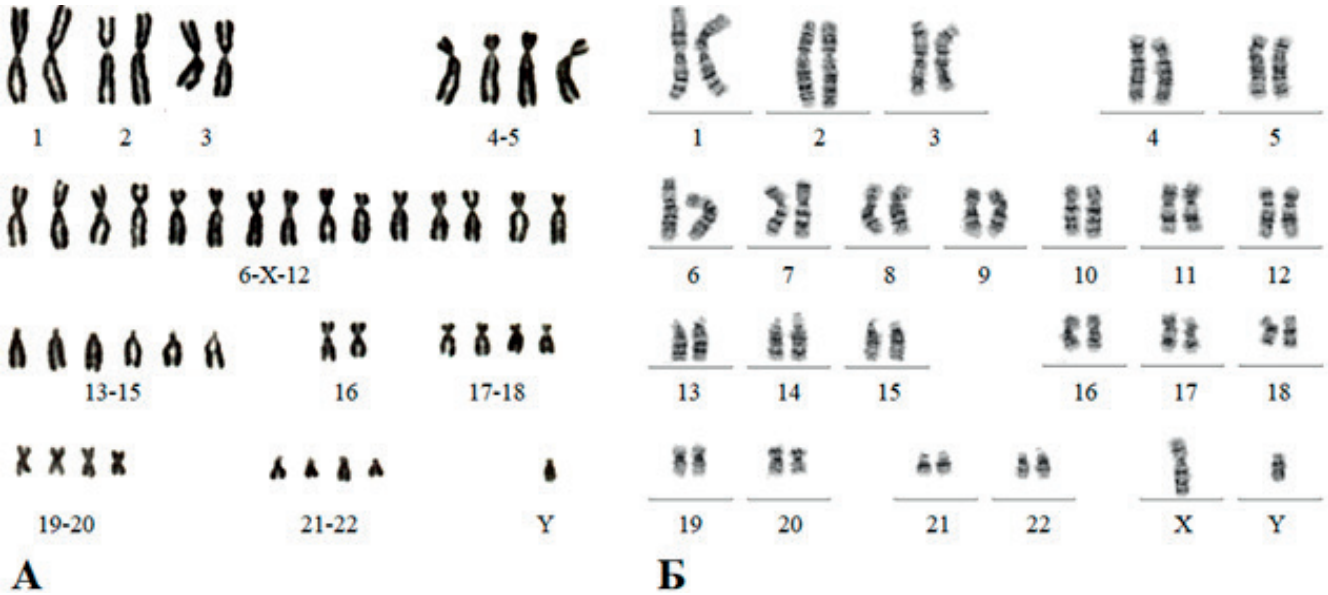

Рисунок 4.

Кариограмма хромосом человека (нормальный мужской кариотип 46,XY) при рутинном окрашивании (А) и дифференциальном окрашивании (Б).

Figure 4.

Karyogram of human chromosomes (normal male karyotype 46,XY) with routine (A) and differential (B) staining.

При заметной разнице в длине плеч (центромерный индекс 26% – 46%) хромосому относят к субметацентрическим. Наконец, если короткие плечи хромосомы очень малы, она является акроцентрической [2].

Нормальный кариотип человека состоит из 23 пар хромосом **(рисунок 4)**. Каждая пара включает две гомологичные хромосомы, одна из которых унаследована от отца, другая – от матери. Как следует из названия, гомологичные хромосомы должны нести идентичные гены (но не обязательно идентичные аллели!) и выполнять сходную информационную функцию при хранении и реализации наследственной информации. Человек, как и все другие биологические объекты с удвоенным хромосомным набором, является диплоидным видом. Диплоидия – важное эволюционное изобретение, присущее прогрессивным биологическим системам. Она обеспечивает защиту жизненно важной наследственной информации от повреждения за счет создания ее «резервной копии» во второй гомологичной хромосоме. С другой стороны, возникает новая возможность для комбинативной изменчивости у потомства за счет сочетания в генотипе аллелей двух родителей.

Хромосомы человека традиционно делят на аутосомы и гоносомы. Аутосомы включают хромосомы 1–22 пар, они идентичны у мужчин и женщин. С другой стороны, сочетание гоносом, или половых хромосом, специфично для каждого пола. У человека мужской пол является гетерогаметным, так как нормальный мужской кариотип содержит различные половые хромосомы, X и Y, и описывается формулой 46,XY. Женский пол гомогаметен при кариотипе 46,XX, содержащем две X-хромосомы.

Согласно Международной цитогенетической номенклатуре человека (The International System for Human Cytogenomic Nomenclature, ISCN), хромосомы человека нумеруются в порядке уменьшения их размеров (от 1 до 22) и подразделены на 7 групп (от A до G):

группа A (1–3) – большие метацентрические хромосомы 1, 3 и субметацентрическая хромосома 2;

группа B (4 и 5) – большие субметацентрические хромосомы;

группа C (аутосомы 6–12 и половая X-хромосома) – средние субметацентрические хромосомы;

группа D (13–15) – большие акроцентрические хромосомы;

группа E (16–18) – малые субметацентрические хромосомы;

группа F (19–20) – малые метацентрические хромосомы;

группа G (21–22) – малые акроцентрические хромосомы.

Y-хромосома является акроцентрической и по морфологии близка к хромосомам группы G. При равномерном (рутинном) окрашивании цитогенетического препарата X-хромосома неотличима от многих хромосом группы C, а Y-хромосома теряется среди прочих акроцентриков из группы G.

Данная классификация была разработана в период широкого использования рутинного окрашивания хромосом красителем Романовского-Гимзе. Такая обработка препаратов дела-

ет невозможным индивидуальное различение хромосом и анализ структуры самой хромосомы, что сужает область применения данного метода. Современные требования к идентификации и исследованию хромосом в медицине выполняются с помощью иных подходов. Наиболее популярным является дифференциальное окрашивание препаратов хромосом тем же красителем, но после предварительной их обработки раствором трипсина (GTG-окрашивание). В этом случае исследователю доступны детали строения хромосом, необходимые для выявления многочисленных структурных изменений, ассоциированных с различными патологиями человека [2, 3, 10, 11].

Визуальный анализ кариотипа в ходе цитогенетического исследования с использованием даже наиболее современных технологий приготовления и окрашивания препаратов позволяет выявить численные аномалии кариотипа и хромосомные перестройки, затрагивающие относительно протяженные участки генома длиной 5–10 млн пар оснований и содержащие, вероятно, десятки и сотни генов. Очевидно, при таком исследовании невозможно изучение тонкой структуры хромосом и тем более генов. Для этих целей используются высокотехнологичные, наукоемкие и дорогостоящие молекулярно-цитогенетические методы [13]. Их возможности фактически располагаются на границе цитогенетики и молекулярно-генетического исследования. Они заслуживают отдельного обсуждения за рамками данной лекции.

В дальнейших эпизодах предлагаемого лекционного цикла речь пойдет о практическом применении классического цитогенетического анализа в медицинских и биологических исследованиях. Будет обсуждаться этиологическое значение как численных, так и структурных изменений в кариотипе человека и диагностическая ценность их выявления в различных клинических ситуациях.

Литература:

1. Hochstenbach R, Liehr T, Hastings RJ. Chromosomes in the genomic age. Preserving cytogenomic competence of diagnostic genome laboratories. *European Journal of Human Genetics*. 2021;29(4):541-552. https:// doi.org/10.1038/s41431-020-00780-y
2. Баранов В.С., Кузнецова Т.В. *Цитогенетика эмбрионального развития человека*. Санкт-Петербург: Изд-во Н-Л; 2007.
3. Söhner F, Hansson N. Placing women in cytogenetics: Lore Zech and the chromosome banding technique. *Mol Cytogenet*. 2021;14(1):40. https://doi.org/10.1186/s13039-021-00560-3
4. Jackson M, Marks L, May GHW, Wilson JB. The genetic basis of disease. *Essays Biochem*. 2018;62(5):643-723. https://doi.org/10.1042/EBC20170053
5. Suntsova MV, Buzdin AA. Differences between human and chimpanzee genomes and their implications in gene expression, protein functions and biochemical properties of the two species. *BMC Genomics*. 2020;21(Suppl 7):535. https://doi.org/10.1186/s12864-020-06962-8
6. Catacchio CR, Maggiolini FAM, D'Addabbo P, Bitonto M, Capozzi O. Inversion variants in human and primate genomes. *Genome Res*. 2018;28(6):910-920. https://doi.org/10.1101/gr.234831.118
7. Registre M, Proudlock R. The in vitro chromosome aberration test. In: *Genetic toxicology testing: a laboratory manual*. Cambridge: Academic Press; 2016. 207-267. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800764-8.00007-0
8. Волков А.Н., Дружинин В.Г. Многолетняя динамика цитогенетических нарушений у подростков из крупного промышленного города. *Генетика*. 2001;37(9):1296-1299.
9. Минина В.И., Дружинин В.Г., Головина Т.А., Толочко Т.А., Мейер А.В., Волков А.Н., Баканова М.Л., Савченко Я.А., Рыжкова А.В., Титов Р.А., Ларин С.А., Кулемин Ю.Е. Динамика уровня хромосомных аберраций у жителей промышленного города в условиях изменения загрязнения атмосферы. *Экологическая генетика*. 2014;12(3):60-70.
10. Stormont GD, Deibert CM. Genetic causes and management of male infertility. *Transl Androl Urol*. 2021;10(3):1365-1372. https://doi.org/10.21037/tau.2020.03.34
11. Волков А.Н., Рытенкова О.И., Бабарыкина Т.А., Лысенко Д.И. Цитогенетическая диагностика хромосомных аномалий при неразвивающейся беременности. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017;62(9):553-556. https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-9-553-556
12. Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn*. 2011;31(1):7-15. doi: 10.1002/pd.2637
13. Chai H, DiAdamo A, Grommisch B. Integrated FISH, karyotyping and aCGH analyses for effective prenatal diagnosis of common aneuploidies and other cytogenomic abnormalities. *Med Sci*. 2019;7:16. https://doi.org/10.3390/medsci7020016
14. Gartler SM. The chromosome number in humans: a brief history. *Nat Rev Genet*. 2006;7:655-660. https://doi.org/10.1038/nrg1917
15. Painter TS. The Y-chromosome in mammals. *Science*. 1921;53(1378):503-504. https://doi.org/10.1126/science.53.1378.503
16. Hsu TC. Mammalian chromosomes in vitro: I. The karyotype of man. *Journal of Heredity*. 1952;43(4)167-172.
17. Hsu TC, Pomerat CM. Mammalian chromosomes in vitro: II. A method for spreading the chromosomes of cells in tissue culture. *Journal of Heredity*. 1953;44(1):23-29.
18. Levan A. The effect of colchicine on root mitosis in Allium. *Heredity*. 1938;24(4):471-486. https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1938.tb03221.x
19. Tjio JH, Levan A. The chromosome number of man. *Hereditas*. 1956;42:1-6.
20. Paulson JR, Hudson DF, Cisneros-Soberanis F, Earnshaw WC. Mitotic chromosomes. *Semin Cell Dev Biol*. 2021;117:7-29. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2021.03.014
21. Peddi N, Avanthika C, Vuppalapati S, Balasubramanian R, Kaur J. A review of cordocentesis: percutaneous umbilical cord blood sampling. *Cureus*. 2021;13(7): e16423. https://doi.org/10.7759/cureus.16423
22. Wilson RD, Gagnon A, Audibert F. Prenatal diagnosis procedures and techniques to obtain a diagnostic fetal specimen or tissue: maternal and fetal risks and benefits. *J Obstet Gynaecol Can*. 2015;37(7):656-668. https://doi.org/10.1016/S1701-2163(15)30205-X.
23. Jorge P, Mota-Freitas MM, Santos R, Silva ML, Soares G, Fortuna AM. A 26-year experience in chorionic villus sampling prenatal genetic diagnosis *J. Clin. Med*. 2014; 3:838-848. https://doi.org/10.3390/jcm3030838

References:

1. Hochstenbach R, Liehr T, Hastings RJ. Chromosomes in the genomic age. Preserving cytogenomic competence of diagnostic genome laboratories. *European Journal of Human Genetics*. 2021;29(4):541-552. https:// doi.org/10.1038/s41431-020-00780-y
2. Baranov VS. Kuznecova TV. *Citogenetika jembrional'nogo razvitija cheloveka*. Saint Petersburg: Izd-vo N-L; 2007. (in Russ).
3. Söhner F, Hansson N. Placing women in cytogenetics: Lore Zech and the chromosome banding technique. *Mol Cytogenet*. 2021;14(1):40. https://doi.org/10.1186/s13039-021-00560-3
4. Jackson M, Marks L, May GHW, Wilson JB. The genetic basis of disease. *Essays Biochem*. 2018;62(5):643-723. https://doi.org/10.1042/EBC20170053
5. Suntsova MV, Buzdin AA. Differences between human and chimpanzee genomes and their implications in gene expression, protein functions and biochemical properties of the two species. *BMC Genomics*. 2020;21(Suppl 7):535. https://doi.org/10.1186/s12864-020-06962-8
6. Catacchio CR, Maggiolini FAM, D'Addabbo P, Bitonto M, Capozzi O. Inversion variants in human and primate genomes. *Genome Res*. 2018;28(6):910-920. https://doi.org/10.1101/gr.234831.118
7. Registre M, Proudlock R. The in vitro chromosome aberration test. In: *Genetic toxicology testing: a laboratory manual*. Cambridge: Academic Press; 2016. 207-267. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800764-8.00007-0
8. Volkov AN, Druzhinin VG. Mnogoletnjaja dinamika citogeneticheskih narushenij u podrostkov iz krupnogo promyshlennogo goroda. *Genetics. 2001;*37(9):1296-1299. (In Russ.)
9. Minina VI, Druzhinin VG, Golovina TA, Bakanova ML, Savchenko YA, Ryzhkova AV, Larin SA, Titov RA, Kulemin YE, Tolochko TA, Meyer AV, Volkov AN. Dynamics of chromosomal aberrations level in residents of an industrial city in conditions of changing atmosphere pollution. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2014;12(3):60-70. (In Russ.)
10. Stormont GD, Deibert CM. Genetic causes and management of male infertility. *Transl Androl Urol*. 2021;10(3):1365-1372. https://doi.org/10.21037/tau.2020.03.34
11. Volkov AN, Rytenkova OI, Babarykina TA, Lysenko DI. The cytogenetic diagnostic of chromosome anomalies under non-developing pregnancy. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2017;62(9):553-556. (In Russ.) https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-9-553-556
12. Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn*. 2011;31(1):7-15. doi: 10.1002/pd.2637
13. Chai H, DiAdamo A, Grommisch B. Integrated FISH, karyotyping and aCGH analyses for effective prenatal diagnosis of common aneuploidies and other cytogenomic abnormalities. *Med Sci*. 2019;7:16. https://doi.org/10.3390/medsci7020016
14. Gartler SM. The chromosome number in humans: a brief history. *Nat Rev Genet*. 2006;7:655-660. https://doi.org/10.1038/nrg1917
15. Painter TS. The Y-chromosome in mammals. *Science*. 1921;53(1378):503-504. https://doi.org/10.1126/science.53.1378.503
16. Hsu TC. Mammalian chromosomes in vitro: I. The karyotype of man. *Journal of Heredity*. 1952;43(4)167-172.
17. Hsu TC, Pomerat CM. Mammalian chromosomes in vitro: II. A method for spreading the chromosomes of cells in tissue culture. *Journal of Heredity*. 1953;44(1):23-29.
18. Levan A. The effect of colchicine on root mitosis in Allium. *Heredity*. 1938;24(4):471-486. https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1938.tb03221.x
19. Tjio JH, Levan A. The chromosome number of man. *Hereditas*. 1956;42:1-6.
20. Paulson JR, Hudson DF, Cisneros-Soberanis F, Earnshaw WC. Mitotic chromosomes. *Semin Cell Dev Biol*. 2021;117:7-29. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2021.03.014
21. Peddi N, Avanthika C, Vuppalapati S, Balasubramanian R, Kaur J. A review of cordocentesis: percutaneous umbilical cord blood sampling. *Cureus*. 2021;13(7): e16423. https://doi.org/10.7759/cureus.16423
22. Wilson RD, Gagnon A, Audibert F. Prenatal diagnosis procedures and techniques to obtain a diagnostic fetal specimen or tissue: maternal and fetal risks and benefits. *J Obstet Gynaecol Can*. 2015;37(7):656-668.
23. Jorge P, Mota-Freitas MM, Santos R, Silva ML, Soares G, Fortuna AM. A 26-year experience in chorionic villus sampling prenatal genetic diagnosis *J. Clin. Med*. 2014; 3:838-848. https://doi.org/10.3390/jcm3030838

Сведения об авторах

***Волков Алексей Николаевич**, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии с основами генетики и паразитологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650025, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).*
***Вклад в статью:** написание статьи.*
***ORCID:** 0000-0003-1169-715X*

***Начева Любовь Васильевна,** доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биологии с основами генетики и паразитологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650025, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).*
***Вклад в статью:** написание статьи.*
***ORCID:** 0000-0002-3148-8788*

Authors

***Dr. Alexey N. Volkov**, PhD, Associate Professor, Department of Biology, Genetics and Parasitology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, 650056, Russian Federation).*
***Contribution:** wrote the manuscript.*
***ORCID:** 0000-0003-1169-715X*

***Prof. Lyubov V. Nacheva**, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Biology, Genetics, and Parasitology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, 650056, Russian Federation).*
***Contribution:** wrote the manuscript.*
***ORCID:** 0000-0002-3148-8788*

Статья поступила: 03.08.2021г.
Принята в печать: 31.08.2021 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Received: 03.08.2021
Accepted: 31.08.2021

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.