

ИНТЕРФАЗНАЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ (FISH) В МАТЕРИАЛЕ СПОНТАННЫХ АБОРТОВ ПЕРВОГО ТРИМЕСТРА БЕРЕМЕННОСТИ: АНАЛИЗ 1333 СЛУЧАЕВ

Ворсанова С.Г.^{1,2}, Юров Ю.Б.^{1,2}, Демидова И.А.^{1,2}, Колотий А.Д.^{1,2}, Куринная О.С.^{1,2}, Кравец В.С.^{1,2}, Зеленова М.А.^{1,2}, Васин К.С.^{1,2}, Лашков В.С.², Юров И.Ю.^{1,2}

¹ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, e-mail: ivan.iourov@gmail.com;

²ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва

Спонтанные аборты первого триместра беременности более чем в половине случаев связаны с хромосомными аномалиями (ХА). При этом преобладают численные ХА, встречающиеся, в том числе, в виде мозаичных форм, которые могут быть потенциально связаны с внутриутробной гибелью. Наиболее эффективным для выявления численных ХА и хромосомного мозаицизма является метод флуоресцентной гибридизации *in situ* – FISH. Проведено исследование материала от 1333 спонтанных абортусов (средний срок беременности – 8,1 недели) методом интерфазного FISH-анализа для выявления ХА. Использовались прицентромерные ДНК пробы на хромосомы 9, 13/21, 14/22, 15, 16, 18, X и Y. Численные ХА были обнаружены в 603 образцах (45,2%), из них 555 образцов с одной ХА (92%) и 48 образцов с сочетанием двух и более ХА (8%). Структура хромосомной патологии среди случаев с одной ХА была следующей: анеуплоидия аутосом была обнаружена в 304 образцах (54,8%), анеуплоидия гоносом, представленная в большинстве случаев хромосомой X, – в 130 образцах (23,4%), полиплоидия – в 121 образце (21,8%). Среди всех случаев (n=603) мозаичные формы ХА были обнаружены в 309 образцах, что составило 51,2%. Применение метода FISH позволило обнаружить, что более половины численных ХА в материале спонтанных абортов первого триместра беременности являются мозаичными. Таким образом, ошибки в митотическом расхождении хромосом, приводящие к мозаичным формам численных хромосомных аномалий, вероятно, являются одной из наиболее значимых генетических причин внутриутробной гибели плода. Результаты проведенного исследования могут способствовать корректному медико-генетическому консультированию семей, отягощенных наследственными (хромосомными) заболеваниями.

Ключевые слова: спонтанные аборты, FISH-исследование, численные хромосомные аномалии (анеуплоидия, полиплоидия), хромосомный мозаицизм.

INTERPHASE MOLECULAR CYTOGENETIC DIAGNOSIS OF CHROMOSOMAL ABNORMALITIES (FISH) IN THE FIRST TRIMESTER SPONTANEOUS ABORTION: ANALYSIS OF 1333 CASES

Vorsanova S.G.^{1,2}, Yurov Y.B.^{1,2}, Demidova I.A.^{1,2}, Kolotiy A.D.^{1,2}, Kurinnaya O.S.^{1,2}, Kravets V.S.^{1,2}, Zelenova M.A.^{1,2}, Vasin K.S.^{1,2}, Lashkov V.S.², Yurov I.Y.^{1,2}

¹Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russian Federation, Moscow, e-mail: ivan.iourov@gmail.com;

²Mental Health Research Center, Moscow

Spontaneous abortions in the first trimester of pregnancy are associated with chromosomal abnormalities (CA) in more than a half of cases. Numerical CA are the most prevalent and commonly manifest as mosaic forms, which can be associated with intrauterine death. One of the most effective techniques for detecting numerical CA and chromosomal mosaicism in interphase is fluorescent *in situ* hybridization (FISH). We have studied 1333 samples of spontaneous abortions (mean gestational age 8.1 weeks) by interphase FISH analysis with pericentromeric DNA probes for chromosomes 9, 13/21, 14/22, 15, 16, 18, X and Y. Numerical CA were found in 603 samples (45.2%), among which 555 samples presented with one CA (92%) and 48 samples were featured by a combination of two or more CA (8%). The CA were as follows: autosomal aneuploidy — 304 samples (54.8%), gonosomal aneuploidy (most cases are aneuploidy of chromosome X) – 130 samples (23.4%), polyploidy – 121 samples (21.8%). Among all cases (n=603), mosaic CA were found in 309 samples (51.2%). The use of the FISH revealed mosaicism in about a half of the numerical CA samples of the first trimester spontaneous abortions. Thus, errors of mitotic chromosome disjunction leading to mosaic numerical chromosomal abnormalities are probably one of the most significant genetic causes of fetal mortality. The results of the study may help to

perform correctly the genetic counseling in families suffering from the susceptibility to the formation of chromosomal abnormalities/diseases.

Keywords: spontaneous abortions, FISH, numerical chromosomal abnormalities (aneuploidy, polyploidy), chromosomal mosaicism.

Спонтанные аборт (СА) наблюдаются в 10–15% подтвержденных беременностей разных сроков [1–2]. Основной причиной СА первого триместра беременности в 50–70% являются хромосомные аномалии (ХА), среди которых преобладают численные нарушения (анеуплоидия и полиплоидия), встречающиеся в 92–97% случаев. Определение ХА в тканях СА проводится с 1960-х гг., т.е. с момента становления клинической цитогенетики [3, 4]. Определение кариотипа спонтанных абортусов необходимо для установления причин прерывания беременности, которое может помочь в генетическом и репродуктивном прогнозе данной семьи. Анализ кариотипа абортусов обычно осуществляется при цитогенетическом и молекулярно-цитогенетическом исследованиях хромосомных препаратов, полученных из культивированных или некультивированных клеток ворсин хориона. Цитогенетический метод исследования материала СА часто сопряжен с некоторыми проблемами, среди них – неудачи в получении хромосомных препаратов, контаминация материнскими клетками при культивировании, нарушение процесса деления аномальных клеток [5, 6]. Эти трудности могут быть успешно преодолены с использованием таких молекулярно-цитогенетических технологий, как флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH). FISH-метод позволяет проводить анализ ХА на интерфазных ядрах, минуя этапы получения хромосомных препаратов. При этом быстрый и эффективный анализ возможен на клетках практически всех тканей [7–10]. Одним из преимуществ интерфазной FISH является возможность выявления «скрытого» хромосомного мозаицизма благодаря анализу большого числа клеток, в отличие от стандартного цитогенетического исследования, при котором анализируется небольшое количество метафазных пластин. В связи с этим при анализе материала спонтанных абортов цитогенетическим методом выявляемость хромосомного мозаицизма крайне низка, хотя известно, что на ранних стадиях дробления зиготы хромосомный мозаицизм наблюдается с высокой частотой, что было доказано рядом исследований преимплантационных эмбрионов [11]. Известно также, что мутации хромосом в виде численных аномалий в зародышевых клетках ведут к образованию аберрантных гамет, в результате которых возможна гибель зигот, эмбрионов на ранних стадиях внутриутробного развития. Кроме того, последние исследования отмечают значительную этиологическую роль хромосомного мозаицизма, который представляет хромосомную нестабильность как в нарушении психического развития, так и в нарушении эмбрионального развития [12–15].

Можно предположить, что роль хромосомного мозаицизма в эмбриональном развитии не оценена в полной мере из-за анализа малого числа клеток при стандартном кариотипировании. Таким образом, флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) является более информативным методом для обнаружения мозаичных форм хромосомных аномалий, в том числе мозаицизма низкого уровня, что будет способствовать эффективному определению доли аномальных клеток и в дальнейшем – корректному медико-генетическому консультированию семей,отягощенных хромосомными болезнями и аномалиями. Мы представляем результаты FISH-исследования клеток от 1333 спонтанных абортусов первого триместра беременности с применением прицентромерных ДНК-зондов.

Материалы и методы исследования

Проведено FISH-исследование 1333 образцов материала СА первого триместра беременности (средний срок 8,1 недели). Средний возраст женщин составлял 31,9 года. Соотношение полов (мужской/женский) общего количества образцов СА (n=1333) составило 468/865 (0,54). Материалом для исследования СА являлись клетки ворсинчатого хориона или амниотической оболочки. Препараты некультивированных интерфазных клеток готовили по оригинальной, специально разработанной методике [16–18]. FISH-исследования осуществлялись с использованием ДНК проб из коллекции лаборатории цитогенетики и геномики психических заболеваний ФГБНУ НЦПЗ по ранее описанным протоколам [10, 19]. Использовались прицентромерные ДНК пробы на хромосомы: 9, 13/21, 14/22 (общие для пар хромосом 13 и 21, 14 и 22), 15, 16, 18, X и Y для выявления численных ХА. ДНК пробы, помеченные различным цветом, были сгруппированы парами для большей эффективности. Анализировали не менее 200 интерфазных клеток для каждой ДНК пробы. Мозаицизм учитывался от 5% аномальных клеток и более. Статистическая обработка проводилась согласно стандартным методикам анализа массива цитогенетических данных в соответствии с ранее описанными протоколами [17, 18]. Это исследование было одобрено этическим комитетом ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате интерфазного FISH-исследования клеток образцов материала 1333 СА (средний срок беременности 8,1 недели) с использованием ДНК проб на хромосомы 9, 13/21, 14/22, 15, 16, 18, X и Y численные ХА выявлены в 603 из 1333 образцов СА (45,2%), из которых 555 (41,6%) случаев были с одной ХА (анеуплоидией или полиплоидией) и 48 (3,6%) – с сочетанием двух и более ХА (рис. 1). Средний возраст женщин в исследовании

составлял 31,9 года. В группе с двумя и более ХА средний возраст женщин был несколько выше – 34,1 года, что согласуется с данными других публикаций [17, 18, 20].

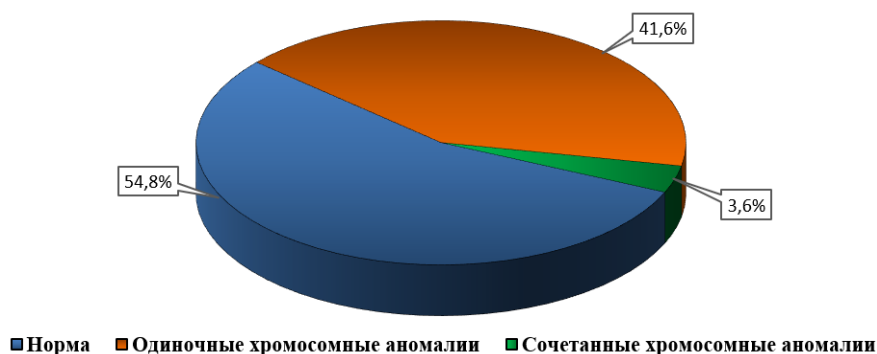


Рис. 1. Результаты FISH-исследования 1333 образцов СА

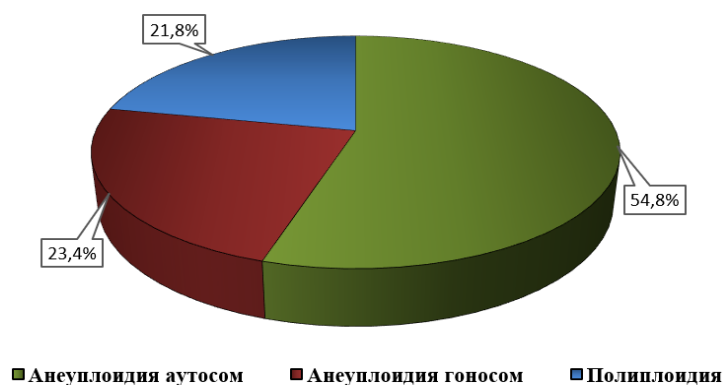


Рис. 2. Структура патологии с одной ХА среди СА (n=555)

Структура хромосомной патологии среди всех случаев с одной ХА была следующей: анеуплоидия аутосом была обнаружена в 304 образцах (54,8% от образцов с одной ХА, n=555), анеуплоидия гоносом – в 130 образцах (23,4%), полиплоидия – в 121 образце (21,8%) (рис. 2).

Среди случаев анеуплоидии аутосом (n=304) были обнаружены трисомии – в 274 образцах (90,1%), моносомии – в 30 образцах (9,9%). Трисомия аутосом встречалась среди следующих хромосом (рис. 3): 16 – в 119 образцах (43,4%), 14/22 – в 60 (21,9%), 13/21 – в 32 (11,7%), 15 – в 30 (10,9%), 9 – в 18 (6,6%), 18 – в 15 (5,5%). Среди моносомий наиболее часто, в 9 случаях (30,0%), наблюдалась моносомия хромосом 13/21, далее хромосомы 15 – в 8 (26,7%) случаях, хромосом 14/22 – в 5 (16,6%) случаях, хромосомы 18 – в 4 (13,3%) случаях, хромосом 9 и 16 – по 2 (6,7%) случая (рис. 3). Мозаичная анеуплоидия аутосом встречалась в 145 образцах, что составило 47,7% от всех случаев анеуплоидии аутосом. Результаты выявления регулярных и мозаичных случаев анеуплоидии аутосом представлены в таблице.

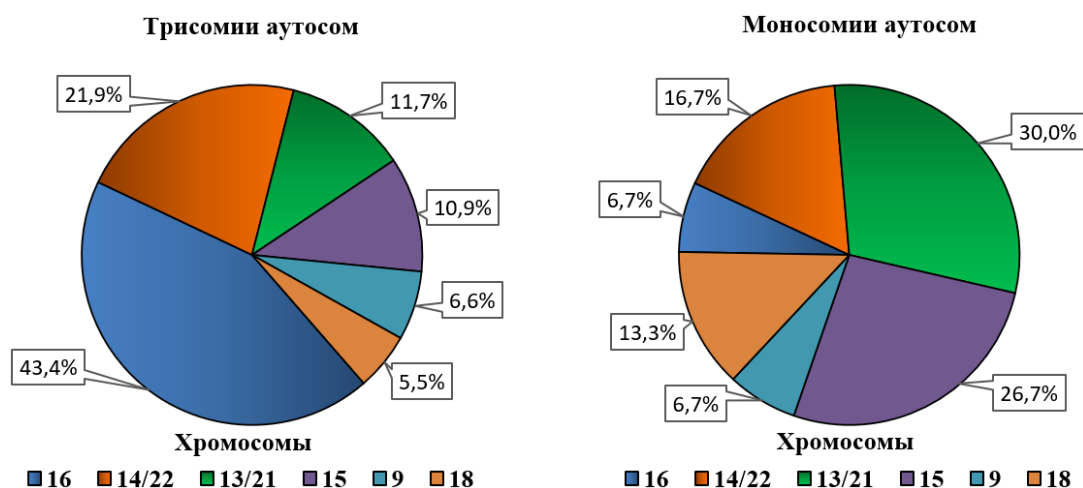


Рис. 3. Анализ ХА по анеуплоидии аутосом

Анализ регулярных и мозаичных форм анеуплоидии аутосом по разным хромосомам

| Хромосома | Трисомия | | Моносомия | |
|--------------|------------|------------|------------|-----------|
| | Регулярная | Мозаичная | регулярная | мозаичная |
| 16 | 82 | 37 | 1 | 1 |
| 13/21 | 14 | 18 | 9 | — |
| 14/22 | 19 | 41 | 2 | 3 |
| 9 | 10 | 8 | 1 | 1 |
| 15 | 12 | 18 | 4 | 4 |
| 18 | 5 | 10 | — | 4 |
| Итого | 142 | 132 | 17 | 13 |

По данным литературы, среди регулярной трисомии аутосом наиболее часто выявляется трисомия хромосомы 16, второй по частоте следует трисомия хромосом 14/22, несколько реже – трисомии хромосом 13/21, 15 и 18, остальные аутосомы вовлечены в трисомию при СА в меньшей степени. Наши результаты совпадают с данными литературы [5, 6, 20]. Мозаичные формы трисомии преобладали по аутосомам 14/22, 13/21, 15, 18 и составляли более половины случаев трисомии по этим хромосомам, как видно из таблицы. Моносомии аутосом наблюдались значительно реже. Наиболее часто встречалась моносомия хромосом 13/21 и 15 (табл.).

Анеуплоидия гоносом наблюдалась в 130 образцах с одной ХА (n=555) (23,4%) и в большинстве случаев была представлена хромосомой X. Среди этих 130 случаев регулярная моносомия с участием хромосомы X была обнаружена в 44 образцах (33,8%), регулярная дополнительная хромосома X – в 11 образцах (8,5%). Мозаичная анеуплоидия гоносом наблюдалась в 75 образцах (57,7%) (рис. 4а). В литературе часто упоминается о регулярной

моносомии хромосомы X в материале СА и редко – о мозаичной анеуплоидии хромосомы X. В нашем исследовании более половины случаев анеуплоидии с участием хромосомы X (57,7%) встречались в мозаичной форме (рис. 4а), что указывает на частые ошибки в митотическом расхождении с участием хромосомы X, описанные ранее разными авторами [21–23].

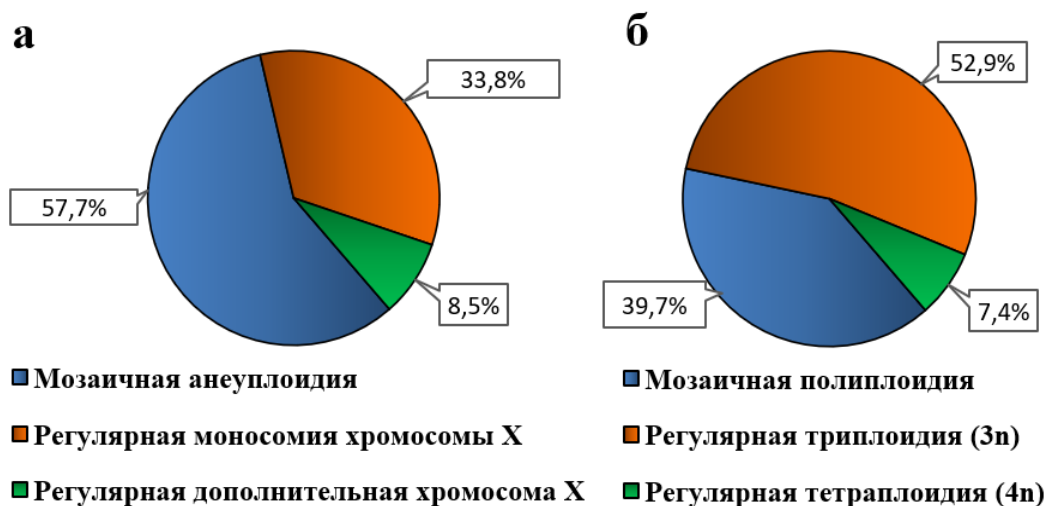


Рис. 4. Анализ анеуплоидии гоносом и полиплоидии: а – анеуплоидия гоносом; б – полиплоидия

Полиплоидия была обнаружена в 121 образце (21,8%). Регулярная триплоидия (3n) выявлена в 64 из 121 образца (52,9%), регулярная тетраплоидия (4n) – в 9 образцах (7,4%), мозаичная полиплоидия, представленная мозаицизмом 3n/4n/2n, 3n/2n и 4n/2n, наблюдалась в 48 образцах, что составило 39,7% от всех случаев полиплоидии (рис. 4б). По данным других авторов, полиплоидия наблюдается в материале СА с высокой частотой (21,5%), среди которой преобладает триплоидия (до 17%). Тетраплоидия встречается реже – с частотой до 9% [20, 24]. В нашем исследовании регулярная триплоидия встречалась во много раз чаще тетраплоидии (64/9), однако мозаичная полиплоидия была обнаружена в представленных случаях с высокой частотой (39,7%), что не описано в литературе.

Среди случаев сочетания двух и более ХА в одном образце (n=48) наиболее часто встречались мозаичные формы ХА, которые были выявлены в 41 случае, что составило 85,4% из всех сочетанных случаев. В анеуплоидиях этой группы участвовали следующие аутосомы: хромосома 16, хромосомы 13/21 и 14/22, хромосомы 18, 15 и 9. Анеуплоидия хромосомы X в сочетанных случаях встречалась в 22 образцах, причем в 21 образце – в мозаичной форме, что свидетельствует о высокой частоте постзиготического нерасхождения хромосомы X, о чем упоминалось выше при обсуждении анеуплоидии гоносом. Если

суммировать мозаичную анеуплоидию хромосомы X в образцах с одиночной и сочетанной ХА, то мозаичные формы анеуплоидии хромосомы X составляют 16,1% от всех ХА (n=603), что значительно выше, чем во всех других сообщениях по СА [6, 8, 20, 24]. В случаях с двумя и более ХА полиплоидия выявлена в 9 образцах. Примеры результатов FISH-исследований представлены на рисунках 5 и 6.

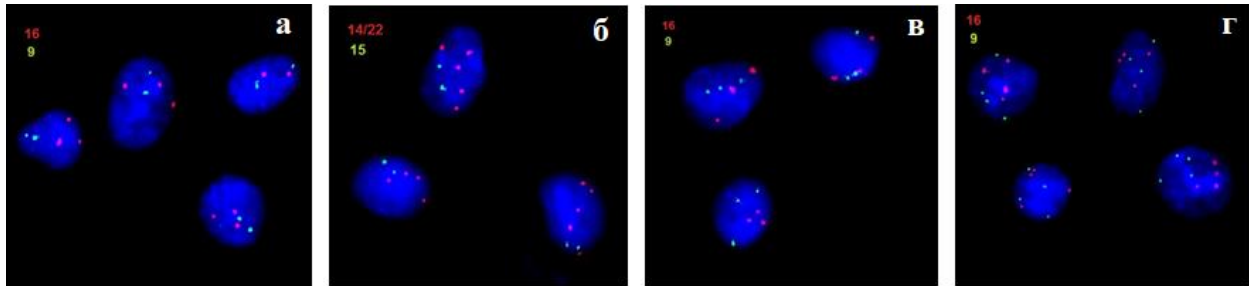


Рис. 5. Результаты интерфазного FISH-исследования образцов СА (исследуемые хромосомы указаны в верхнем левом углу каждой фотографии в соответствии с цветом ДНК пробы):

- а) мозаичная трисомия хромосомы 16; б) мозаичная трисомия хромосом 14/22; в) триплоидия; г) тетраплоидия*

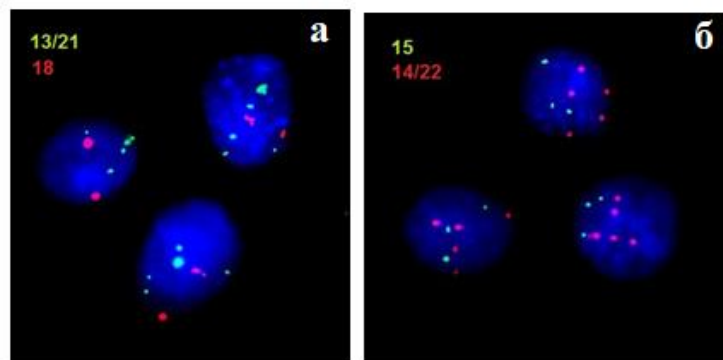


Рис. 6. Результаты интерфазного FISH-исследования образца СА сроком 6–8 недель с трисомией по хромосомам 15, 13/21, 14/22 (исследуемые хромосомы указаны в верхнем левом углу каждой фотографии в соответствии с цветом ДНК пробы):

- а) трисомия хромосом 13/21, б) трисомия хромосом 15 и 14/22*

Соотношение полов (мужской/женский) общего числа образцов СА (n=1333) составило 468/865 (0,54). Преобладание женского пола, вероятно, связано с тем, что при исследовании материала СА могла произойти некоторая контаминация и, возможно, в отдельных случаях анализированы и материнские клетки. Среди образцов с хромосомными аномалиями соотношение полов (мужской/женский) составило 230/373 (0,62), т.е. женский пол также значительно преобладал. Возможно, эмбрионы мужского пола с ХА элиминируются на более ранних сроках беременности, поэтому в соотношении полов с ХА

преобладает женский пол [17, 18]. При анализе соотношения полов при регулярных и мозаичных формах хромосомных аномалий также наблюдалось преобладание женского пола, причем в мозаичных случаях больше, чем в регулярных (рис. 7). Учитывая тот факт, что мозаичная анеуплоидия хромосомы X наблюдалась в большом числе случаев у абортусов женского пола, был проведен анализ соотношения полов при мозаичных формах анеуплоидии аутосом и полиплоидии (без анеуплоидии хромосомы X), который также показал преобладание женского пола. Результаты анализа соотношения полов по различным хромосомным аномалиям представлены на рисунках 8 и 9.

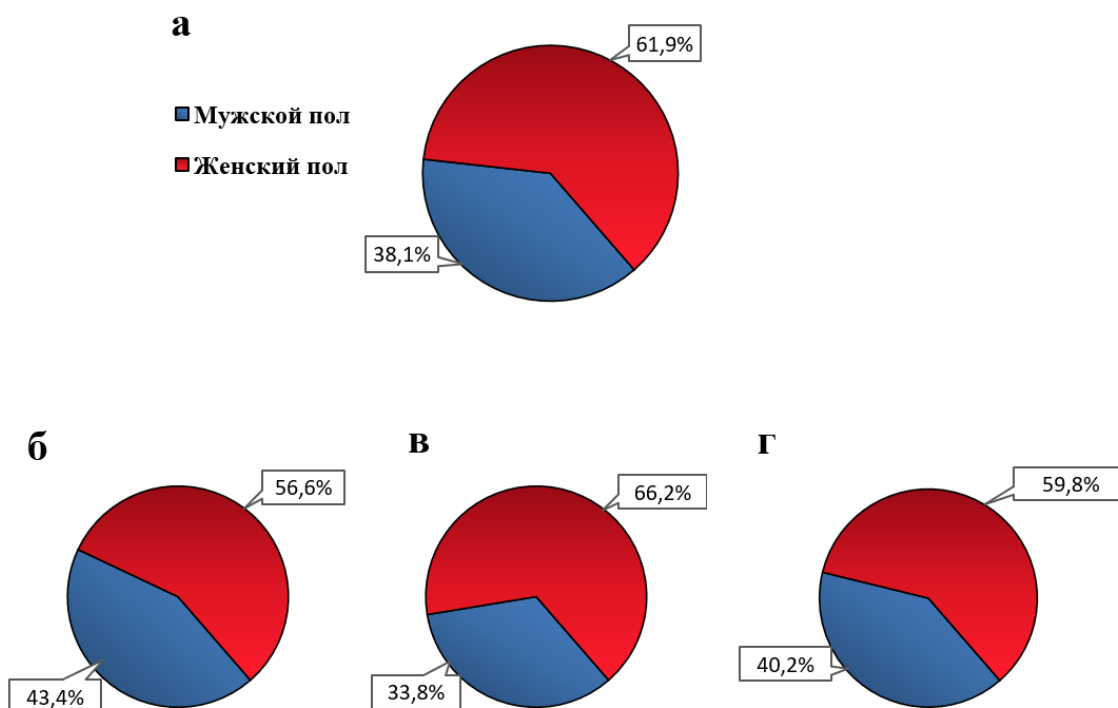


Рис. 7. Анализ соотношения полов среди случаев с ХА: а – все ХА (n=603); б – регулярные ХА; в – мозаичные ХА; г – мозаичные ХА без анеуплоидии хромосомы X

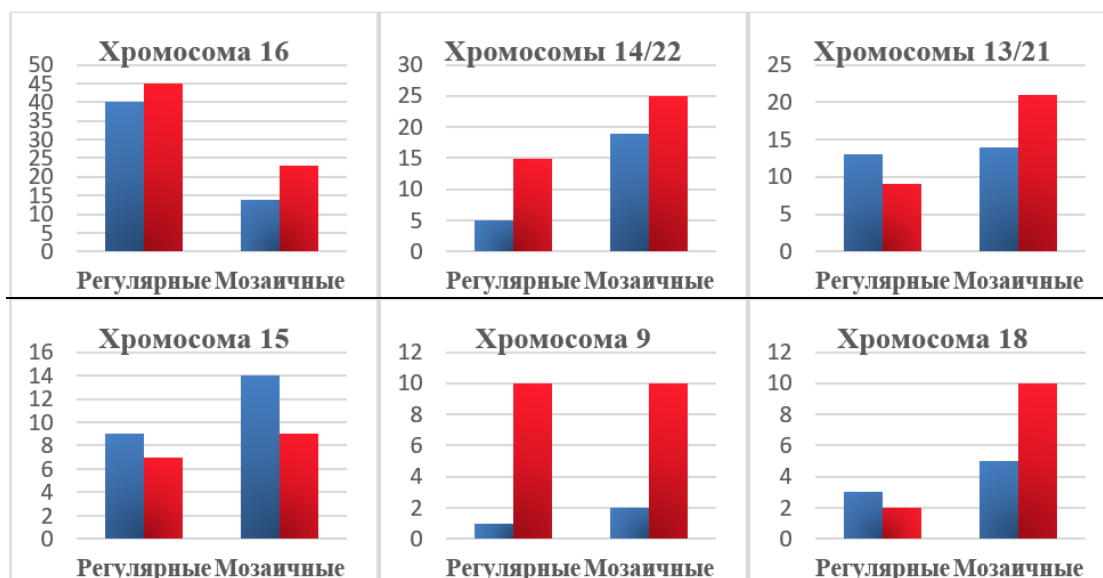


Рис. 8. Анализ соотношения полов по анеуплоидии различных аутосом

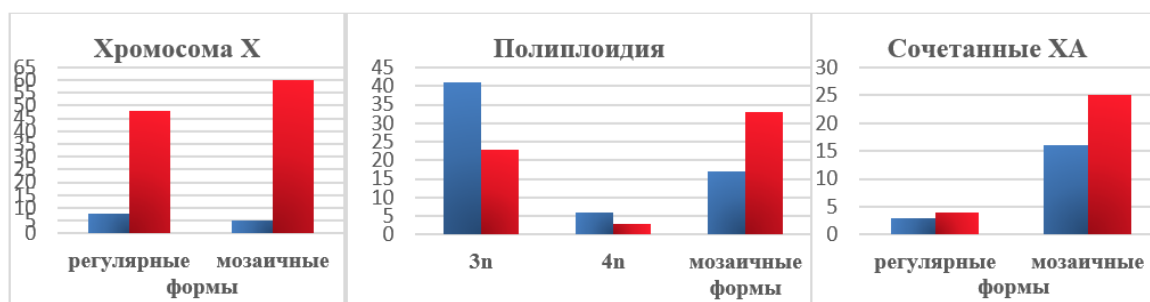


Рис. 9. Анализ соотношения полов по анеуплоидии хромосомы X, полиплоидии и сочетанных ХА

При анализе соотношения полов по анеуплоидии различных аутосом, среди которой выявлены как регулярные, так и мозаичные случаи, преобладали абортусы, в основном, женского пола. В мозаичных анеуплоидиях всех исследуемых аутосом, кроме хромосомы 15, также преобладали эмбрионы женского пола (рис. 8).

Таким образом, среди всех случаев ХА (n=603) мозаичные формы ХА были обнаружены в 309 образцах, что составило 51,2%, или 23,2% от общего числа всех СА (n=1333). При этом мозаичная анеуплоидия аутосом встречалась в 145 образцах (47,7% от случаев анеуплоидии аутосом, n=304) (рис. 2), мозаичная анеуплоидия хромосомы X наблюдалась в 75 образцах (57,7% от одиночных случаев анеуплоидии гоносом, n=130) (рис. 4а), мозаичная полиплоидия наблюдалась в 48 образцах (39,7% от случаев полиплоидии, n=121) (рис. 4б), мозаичные формы сочетанных ХА присутствовали в 41 образце (85,4% сочетанных случаев, n=48). Наши оригинальные данные по частоте мозаицизма указывают на то, что и регулярные, и в большей степени мозаичные формы численных ХА являются

значимой причиной СА. Исследования хромосомного мозаицизма с помощью метода FISH являются наиболее эффективными для выявления численных мозаичных форм ХА при СА и позволяют определить генетическую причину внутриутробной гибели плода, что будет способствовать более корректному медико-генетическому консультированию семьи, отягощенной наследственными (хромосомными) заболеваниями.

Заключение

В данной работе применение метода интерфазной FISH с использованием ДНК зондов на хромосомы 9, 15, 16, 18, 13/21, 14/22, X и Y при исследовании численных ХА среди 1333 образцов СА первого триместра беременности позволило обнаружить, что мозаичные формы ХА составляли 23,2% от общего числа спонтанных абортусов (n=1333), или 51,2% от случаев с ХА (n=603). Эти данные согласуются с нашими предыдущими FISH-исследованиями СА, где показано, что мозаичные формы в материале СА встречались при анеуплоидии всех исследуемых аутосом, анеуплоидии хромосомы X и полиплоидии с высокой частотой [17, 18]. Полученные данные, как демонстрируют наши зарубежные коллеги, имеют исключительное значение для изучения и диагностики хромосомных аномалий в клетках тканей плода [25, 26]. Таким образом, ошибки в митотическом расхождении хромосом, приводящие к мозаичным формам численных ХА, вероятно, являются одной из наиболее значимых генетических причин внутриутробной летальности плода. Исследования хромосомного мозаицизма с помощью метода FISH, который является наиболее эффективным для выявления численных ХА, как регулярных, так и мозаичных форм, смогут помочь в генетической интерпретации возможной причины внутриутробной гибели плода, что будет способствовать более корректной медико-генетической консультации семьи, отягощенной наследственными (хромосомными) заболеваниями.

Работа была поддержана ГОСЗАДАНИЕМ Минздрава России «Роль геномной нестабильности в этиологии и патогенезе недифференцированных форм умственной отсталости у детей» (№ 121031000238-1), а также Правительственным заданием Министерства науки и высшего образования России № АААА-А19-119040490101-6.

Список литературы

1. Hassold T., Abruzzo M., Adkins K., Griffin D., Merrill M., Millie E., Saker D., Shen J., Zaragoza M. Human aneuploidy: incidence, origin and etiology. Environ Mol Mutagen. 1996. V. 28. P. 167–175.
2. Van den Berg M.M., Van Maarle M.C., Van Wely M., Goddijn M. Genetics of early miscarriage. Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Molecular Basis of Disease. 2012. V. 1822. № 12. P. 1951-1959.

3. Bowen P., Lee C.S. Spontaneous abortion. Chromosome studies on 41 cases and an analysis of maternal age and duration of pregnancy in relation to karyotype. *Am J. Obstet Gynecol.* 1969. V. 104. № 7. P. 973-983.
4. Mikamo K. Anatomic and chromosomal anomalies in spontaneous abortion: Possible correlation with overripeness of oocytes. *Am J. Obstet Gynecol.* 1970. V. 106. № 2. P. 243-254.
5. Boue A.J., Boue A.A., Lazar P. Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous human abortions. *Teratology.* 1975. № 12. P. 11-26.
6. Dhillon R.K., Hillman S.C., Morris R.K., McMullan D., Williams D., Coomarasamy A., Kilby M.D. Additional information from chromosomal microarray analysis (CMA) over conventional karyotyping when diagnosing chromosomal abnormalities in miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *BJOG.* 2014. V. 121. № 1. P. 11-21.
7. Jobanputra V., Esteves C., Sobrino A., Brown S., Kline J., Warburton, D. Using FISH to increase the yield and accuracy of karyotypes from spontaneous abortion specimens. *Prenatal diagnosis.* 2011. V. 31. № 8. P. 755-759.
8. Russo R., Sessa A.M., Fumo R., Gaeta S. Chromosomal anomalies in early spontaneous abortions: interphase FISH analysis on 855 FFPE first trimester abortions. *Prenatal diagnosis.* 2016. V. 36. № 2. P. 186-191.
9. Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Iourov I.Y. Human interphase chromosomes: a review of available molecular cytogenetic technologies. *Mol Cytogenet.* 2010. V. 3. № 1. P. 1-15.
10. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. Interphase FISH for Detection of Chromosomal Mosaicism // in: *Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) — Application Guide* (Springer Protocols Handbooks). Second Edition. Edited by T. Liehr. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. 2017. P. 361-372.
11. Mastenbroek S., Twisk M., van der Veen F., Repping S. Preimplantation genetic screening: a systematic review and meta-analysis of RCTs. *Hum Reprod Update.* 2011. V. 17. № 4. P. 454-466.
12. D’Gama A.M., Walsh C.A. Somatic mosaicism and neurodevelopmental disease. *Nat Neurosci.* 2018. V. 21. P. 1504–1514.
13. Rohrback S., Siddoway B., Liu C.S., Chun, J. Genomic mosaicism in the developing and adult brain. *Dev neurobiol.* 2018. V. 78. № 11. P. 1026-1048.
14. Vorsanova S.G., Kolotii A.D., Kurinnaia O.S., Kravets V.S., Demidova I.A., Soloviev I.V., Yurov Y.B., Iourov I.Y. Turner's syndrome mosaicism in girls with neurodevelopmental disorders: a cohort study and hypothesis. *Mol Cytogenet.* 2021. V. 14. № 1. P. 1-9.
15. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Kutsev S.I. Ontogenetic and pathogenetic views on somatic chromosomal mosaicism. *Genes.* 2019. V. 10. № 379. P. 1-25.
16. Soloviev I.V., Yurov Y.B., Vorsanova S.G., Fayet F., Roizes G., Malet P. Prenatal diagnosis

of trisomy 21 using interphase fluorescence *in situ* hybridization of postreplicated cells with site-specific cosmid contig probes. *Prenatal Diagn.* 1995. V. 15. P. 237-238.

17. Vorsanova S.G., Kolotii A.D., Iourov I.Y., Monakhov V.V., Kirillova E.A., Soloviev I.V., Yurov Y.B. Evidence for high frequency of chromosomal mosaicism in spontaneous abortions revealed by interphase FISH analysis. *J. Histochem Cytochem.* 2005. V. 53. № 3. P. 375-380.

18. Vorsanova S.G., Iourov I.Y., Kolotii A.D., Beresheva A.K., Demidova I.A., Kurinnaya O.S., Kravets V.S., Monakhov V.V., Soloviev I.V., Yurov Y.B. Chromosomal mosaicism in spontaneous abortions: analysis of 650 cases. *Russian J. of Genetics.* 2010. V. 46. № 10. P. 1197-1200.

19. Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Kurinnaya O.S., Kolotii A.D., Iourov I.Y. Twenty-First Century FISH: Focus on Interphase Chromosomes // in: *Human Interphase Chromosomes (Biomedical Aspects) Second Edition.* Edited by Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. Springer, Cham. © Springer Nature Switzerland AG. 2020. P. 131-145.

20. Soler A., Morales C., Mademont-Soler I., Margarit E., Borrell A., Borobio V., Muñoz M., Sánchez A. Overview of Chromosome Abnormalities in First Trimester Miscarriages: A Series of 1,011 Consecutive Chorionic Villi Sample Karyotypes. *Cytogenet Genome Res.* 2017. V. 152. № 2. P. 81-89.

21. Madan K., Lundberg E.S. Low grade mosaicism for X aneuploidy in women referred for recurrent abortions. *Newsletter ECA.* 2015. V. 35. P. 9–12.

22. Homer L., Le Martelot M.-T., Morel F., Amice V., Kerlan V., Collet M., De Braekeleer M. 45,X/46,XX mosaicism below 30 % of aneuploidy: clinical implications in adult women from a reproductive medicine unit. *Eur J. Endocrinol.* 2010. V. 162. P. 617–623.

23. Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Iourov I.Y. Dynamic nature of somatic chromosomal mosaicism, genetic-environmental interactions and therapeutic opportunities in disease and aging. *Mol Cytogenet.* 2020. V. 13. P. 16.

24. Shearer B.M., Thorland E.C., Carlson A.W., Jalal S.M., Ketterling R.P. Reflex fluorescent *in situ* hybridization testing for unsuccessful product of conception cultures: a retrospective analysis of 5555 samples attempted by conventional cytogenetics and fluorescent *in situ* hybridization. *Genet Med.* 2011. V. 13. № 6. P. 545-552.

25. Middelkamp S., van Tol H.T.A., Spierings D.C.J., Boymans S., Guryev V., Roelen B.A.J., Lansdorp P.M., Cuppen E., Kuijk E.W. Sperm DNA damage causes genomic instability in early embryonic development. *Sci Adv.* 2020. V. 6. № 16. eaaz7602. P. 1-12.

26. Serapinas D., Valantinavičienė E., Machtejevienė E., Bartkevičiūtė A., Bartkevičienė D. Evaluation of Chromosomal Structural Anomalies in Fertility Disorders. *Medicina (Kaunas).* 2021. V. 57. № 37. P. 1-9.