

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2024.11.63-66>

Клинические проявления и инактивация X-хромосомы в случае дупликации Xq22.3q25

Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Суханова Н.Н., Агафонова А.А., Минайчева Л.И., Фонова Е.А., Васильева О.Ю., Федотов Д.А., Лебедев И.Н.

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

У большинства женщин патогенные варианты на X-хромосоме не проявляются либо проявляются в ослабленной форме, поскольку они являются гетерозиготами по патогенному варианту и одна из X-хромосом у женщин всегда инактивирована. Но 15–20% генов на X-хромосоме человека избегают инактивации и экспрессируются с обеих хромосом. У пациентки в возрасте 11 лет с энцефалопатией сочетанного генеза и задержкой речевого развития стандартным цитогенетическим анализом была выявлена дупликация на длинном плече X-хромосомы. С помощью хромосомного микроматричного анализа мы уточнили локализацию перестройки: $\text{arr}[\text{GRCh38}] \text{Xq22.3q25}(104563898_122794771)\times 3$. Дупликация имела размер 18 млн п.н. У пациентки наблюдалась экстремально асимметричная инактивация X-хромосомы (95%). В районе дупликации локализовано 9 генов, избегающих инактивации. Избыточная доза гена *ALG13*, патогенные варианты в котором ассоциированы с энцефалопатией развития и эпилептической энцефалопатией 36, может быть причиной клинических симптомов у пациентки.

Ключевые слова: дупликация Xq22.3q25, инактивация X-хромосомы, гены, избегающие инактивации, хромосомный микроматричный анализ.

Для цитирования: Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Суханова Н.Н., Агафонова А.А., Минайчева Л.И., Фонова Е.А., Васильева О.Ю., Федотов Д.А., Лебедев И.Н. Клинические проявления и инактивация X-хромосомы в случае дупликации Xq22.3q25. *Медицинская генетика* 2024; 23(11): 63-66.

Автор для корреспонденции: Толмачева Екатерина Николаевна; e-mail: kate.tolmacheva@medgenetics.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 21-65-00017.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 19.11.2024

Clinical manifestations and X-chromosome inactivation in case of duplication of the Xq22.3q25 region

Tolmacheva E.N., Kashevarova A.A., Sukhanova N.N., Agafonova A.A., Minaycheva L.I., Fonova E. A., Vasilyeva O. Yu., Fedotov D.A., Lebedev I.N.

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

In most women, pathogenic variants on the X chromosome are not expressed or are expressed in a weakened form, since they are heterozygotes for the pathogenic variant and one of the X chromosomes in women is always inactivated. However, 15–20% of genes on the human X chromosome escape from inactivation and are expressed from both chromosomes. In an 11-year-old patient with encephalopathy of combined genesis and delayed speech development, a duplication on the long arm of the X chromosome was detected by standard cytogenetic analysis. Using chromosomal microarray analysis, we clarified the localization of the rearrangement: $\text{arr}[\text{GRCh38}] \text{Xq22.3q25}(104563898_122794771)\times 3$. The duplication have size of 18 Mb. The patient had extremely asymmetric inactivation of the X chromosome (95%). Nine genes that escape from inactivation are localized in the duplication region. An excessive dose of the *ALG13* gene, pathogenic variants of which are associated with developmental encephalopathy and epileptic encephalopathy 36, may be the cause of the development of clinical symptoms in the patient.

Keywords: Xq22.3q25 duplication, X-chromosome inactivation, genes escape from inactivation, chromosomal microarray analysis.

For citation: Tolmacheva E.N., Kashevarova A.A., Sukhanova N.N., Agafonova A.A., Minaycheva L.I., Fonova E.A., Vasilyeva O.Yu., Fedotov D.A., Lebedev I.N. Clinical manifestations and X-chromosome inactivation in case of duplication of the Xq22.3q25 region. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2024; 23(11): 63-66. (In Russian)

Corresponding author: Ekaterina N. Tolmacheva, e-mail: kate.tolmacheva@medgenetics.ru

Funding. This study was supported by the Russian Science Foundation (project 21-65-00017).

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

Accepted: 19.11.2024

Введение

Хромосомные перестройки на X-хромосоме обычно вызывают более легкие клинические проявления у женщин из-за инактивации одной из X-хромосом. Инактивация X-хромосомы – эпигенетический процесс, который необходим для уравнивания дозы генов на X-хромосоме между полами. В норме сам процесс инактивации X-хромосомы происходит равновероятно в соматических клетках человека, но в некоторых случаях наблюдаются отклонения в сторону преимущественной инактивации одного из родительских гомологов. Причины асимметричной инактивации X-хромосомы весьма разнообразны: от мутаций в центре инактивации до мутаций в генах, регулирующих рост и развитие организма [1]. Независимо от количества X-хромосом в клетке, активной остается только одна из них. Но существуют гены, ускользающие от инактивации, их число составляет 15-20% от генов, локализованных на X-хромосоме [1]. Эти гены экспрессируются на обоих гомологах. Полная или частичная трисомия X-хромосомы приводит к увеличению экспрессии этих генов. Соответственно, клиническое проявление хромосомной перестройки на X-хромосоме будет зависеть от характера инактивации X-хромосомы и от генов, избегающих инактивации, локализованных в регионе перестройки.

Материал и методы

В Отделении наследственных болезней Медико-генетического центра (Генетической клиники) НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ проведено обследование пациентки в возрасте 11 лет с задержкой психо-речевого развития. Девочка наблюдалась у врача-невролога с рождения с диагнозом: резидуальное поражение ЦНС, атонически-атактический синдром, моторная диспраксия, дизартрия смешанного генеза, нестабильность шейного отдела позвоночника. Кроме того, у нее отмечалось нарушение пищевого поведения.

Анализ кариотипа проведен на хромосомных препаратах, полученных по стандартным протоколам из культуры лимфоцитов периферической крови. Хромосомный микроматричный анализ (ХМА) был выполнен с использованием чипов SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit (8×60K) с разрешением 41 т.п.н. (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). ПЦР в реальном времени проводили в стандартных условиях с олигонуклеотидными праймерами на гены *UBE2A*, *SEPT6* и на контрольный ген *HEXB*. Подбор оптимальных

праймеров для реакции производили с помощью программ Primer3 и базы данных Ensembl. Проверку качества выбранных праймеров проводили с помощью программы Primer-BLAST. Анализ статуса инактивации X-хромосомы проведен методом метилчувствительной ПЦР с эндонуклеазой рестрикции HpaII. Амплификацию участка гена *AR* проводили путём ПЦР с использованием последовательностей FAM-меченных олигонуклеотидных праймеров [3].

Результаты и обсуждение

В результате стандартного цитогенетического анализа у пациентки была выявлена дупликация на длинном плече X-хромосомы (рис. 1А). С помощью ХМА было проведено уточнение локализации хромосомной перестройки: частичная трисомия *arr[GRCh38]Xq22.3q25(104563898_122794771)x3*, протяженность перестройки составляет 18,1 млн п.н. (рис. 1Б). Анализ сегрегации перестройки методом ПЦР в реальном времени в семье пациентки (отец, мать и сибс пробанда) показал, что дупликация была *de novo* (рис. 1В). У пациентки наблюдалось экстремальное смещение инактивации X-хромосомы (95%), а у матери, которая не является носителем дупликации, инактивация X имела равновероятный характер (50%) (рис. 1Г).

В регионе перестройки локализовано 134 гена, в том числе гены *PRPS1*, *MID2*, *ACSL4*, *CXorf56*, *PAK3*, *UBE2A*, *UPF3B*, *NKAP*, *CUL4B*, которые связаны с X-сцепленными формами интеллектуальных нарушений. Но так как, вероятнее всего, у пациентки преимущественно инактивируется перестроенная хромосома X, то на клинический фенотип может влиять избыточная доза генов, избегающих инактивации. В регионе перестройки локализовано всего 9 таких генов [4]: *ALG13* (OMIM 300776), *AMMECR1* (OMIM 300195), *ATG4A* (OMIM 300663), *C1GALT1C1* (OMIM 300611), *CHRDL1* (OMIM 300350), *DOCK11* (OMIM 300681), *IL13RA1* (OMIM 300119), *MORC4* (OMIM 300970), *PGRMC1* (OMIM 300435). Все девять генов экспрессируются в различных тканях: в сердце, печени, поджелудочной железе, легких и мозге [5]. Ген *ATG4A* кодирует цистеиновую протеазу ATG4, связанную с аутофагией (OMIM 300663). Гемизиготные патогенные варианты гена *AMMECR1* связаны с гипоплазией средней части лица, нарушением слуха, эллиптоцитозом и нефрокальцинозом (OMIM 300884). Но только ген *ALG13* связан с нервно-психическими расстройствами. Патогенные варианты в этом гене ассоциированы с энцефалопатией

развития с эпилепсией (OMIM 300884). У пораженных людей наблюдается серьезная задержка психомоторного развития с плохой двигательной функцией, тяжелая умственная отсталость, плохая или отсутствующая речь и ограниченный зрительный контакт. Подавляющее большинство зарегистрированных пациентов были женщинами, хотя в редких случаях пациенты были мужского пола. В большинстве случаев клинические признаки были связаны с различными патогенными вариантами гена. Michaud с соавт. предположили, что мутации гена *ALG13* у девочек обладают либо доминантно-негативным эффектом, либо эффектом усиления функ-

ции [6]. В настоящее время нет данных, свидетельствующих о триплочувствительности этого гена.

На X-хромосоме локализованы гены, которые избегают инактивации у отдельных индивидов, и их около 15% [4]. Кроме того, такая большая дупликация может изменять трехмерную конформацию хроматина и способствовать формированию новых TADs – топологически ассоциированных доменов, что в свою очередь также может влиять на процесс инактивации и экспрессию близлежащих генов.

Мы проанализировали пересекающиеся дупликации размером от 10 до 20 млн п.н. в интернет ресурсе DECIPHER и нашли только пять таких дупликаций

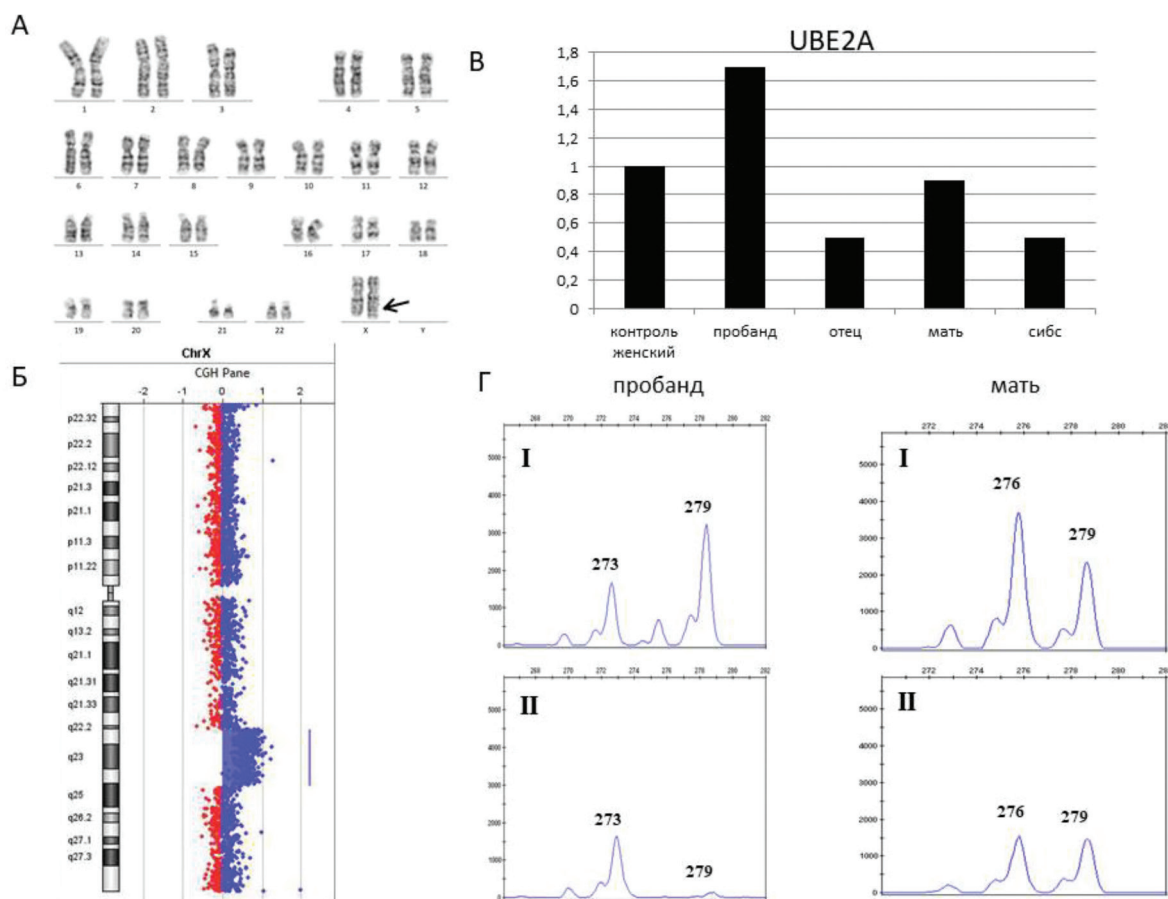


Рис. 1. А – результаты стандартного цитогенетического анализа; Б – результаты ХМА; В – результаты ПЦР в реальном времени гена *UBE2A*; Г – результаты анализа статуса инактивации X-хромосомы у пациентки и ее матери (I – нативная ДНК, II – ДНК после гидролиза метилчувствительной эндонуклеазой рестрикции HpaII).

Fig. 1. A – results of standard cytogenetic analysis; Б – chromosomal microarray analysis results; В – real-time PCR of the *UBE2A* gene results; Г – the X-chromosome inactivation status analysis results in the patient and her mother (I – native DNA, II – DNA after hydrolysis with methyl-sensitive restriction endonuclease HpaII).

у пациенток женского пола (ID 287183, 287183, 369118, 363883, 384987). У четырех из них наблюдались умеренная задержка интеллектуального развития, аномалии конечностей и задержка внутриутробного развития. У пациентки 369118 клинические признаки были более тяжелые и включали детский церебральный паралич, отклонения на электроэнцефалограмме, эпилептическую энцефалопатию, фокальные приступы, генерализованные приступы, глобальную задержку развития, гиперметропию, нистагм, микроцефалию, субдуральное кровоизлияние. К сожалению, не было данных о характере инактивации X-хромосомы у этих пациенток

Роль инактивации X-хромосомы как модифицирующего фактора в проявлении патогенных генетических и хромосомных вариантов, связанных с X-хромосомой, часто игнорируется при проведении диагностики. Между тем, благодаря этому эпигенетическому процессу, X-сцепленные заболева-

ния занимают особенное место среди других генетических болезней.

Литература/References

1. Migeon B. R. X-linked diseases: susceptible females. *Genet Med.* 2020; 22:1156-1174. DOI: 10.1186/s13072-021-00386-8
2. Bradley P.B., Fornes O., Wasserman W. W., et al. Cross-species examination of X-chromosome inactivation highlights domains of escape from silencing. *Epigenetics Chromatin.* 2021 17;14:12. DOI: 10.1186/s13072-021-00386-8
3. Mutter G. L., Boynton K. A. PCR bias in amplification of androgen receptor alleles, a trinucleotide repeat marker used in clonality studies. *Nucl. Acids Res.* 1995. 23 : 1411–1418.
4. Zito A., Roberts A. L., Visconti A., et al., Escape from X-inactivation in twins exhibits intra- and inter-individual variability across tissues and is heritable. *PLoS Genet.* 2023; 19:e1010556. DOI: 10.1371/journal.pgen.1010556
5. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/gene/2.11.24>
6. Michaud J. L., Lachance M., Hamdan F. F., et al. The genetic landscape of infantile spasms. *Hum. Molec. Genet.* 2014. 23; 4846-4858. DOI: 10.1093/hmg/ddu199