

Редкий случай перестройки длинного плеча X-хромосомы — инвертированная дупликация/делеция у женщины с дисгенезией гонад

Антоненко В.Г.¹, Маркова Ж.Г.¹, Шилова Н.В.¹, Глазкова А.В.², Цаяук Ю.В.², Петрова О.В.²

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, ул. Москворечье, д. 1, тел.: +7 (499) 612 80 40

² ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии», Москва, ул. Покровка, дом 22а, тел.: +7 (495) 621 53 98

Представлен случай редкой хромосомной патологии — инвертированной дупликации/делеции длинного плеча X-хромосомы у женщины с дисгенезией гонад. Обсуждаются механизмы формирования подобных перестроек и особенности клинических проявлений при патологии длинного плеча X-хромосомы.

Ключевые слова: инвертированная дупликация/делеция, трисомия Xq, моносомия Xq, дисгенезия гонад, преждевременная недостаточность функции яичников.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

A rare case of Xq rearrangement — inverted duplication/deletion in a woman with gonadal dysgenesis

Antonenko V.G., Markova Zh.G., Shilova N.V., Glazkova A.V., Tsayuk Yu.V., Petrova O.V.

We report on a rare case of a chromosome abnormality — inverted Xq duplication/deletion in a woman with gonadal dysgenesis. Mechanisms of formation of such rearrangements and specifics of clinical signs in patients with Xq abnormalities are discussed.

Key words: inverted duplication/deletion, Xq partial trisomy, Xq partial monosomy, gonadal dysgenesis, premature ovarian failure.

Введение

Инвертированные дупликации/делеции относят к редким формам хромосомных перестроек. Диагностика их стала возможной в последние десятилетия в связи с широким применением в цитогенетических исследованиях молекулярных технологий. Детальное изучение района перестройки с использованием субтеломерных и локус-специфичных зондов, технологий сравнительной геномной гибридизации (CGH) позволяет сделать вывод о наличии или отсутствии делеции субтеломерной области, а также уточнить размер и ориентацию участка трисомии. При стандартном кариотипировании такие перестройки могут быть расценены как случаи дупликации. В настоящее время известны повторные случаи инвертированных дупликаций/делеций хромосом 8, 15 и 22, связанные с особенностями строения этих хромосом, а также отдельные случаи подобных перестроек других хромосом [1].

Описание случая

Пациентка 30 лет обратилась к врачу-генетику в связи с планированием беременности и отсутствием самостоятельной менструальной функции. При осмотре: телосложение правильное, рост 160 см, вес 52 кг. Наследственность не отягощена, является вторым ребенком в семье, старший брат и младшая сестра здоровы, брат женат,

имеет дочь, сестра не замужем. Родители здоровы, на момент рождения пациентки им было по 24 года. Кариотип матери нормальный. Раннее развитие без особенностей, училась хорошо, образование высшее. Менструации с 13 лет по 5—7 дней, нерегулярные, продолжались в течение года, затем прекратились. Наблюдалась у гинеколога, получала гормональную терапию. Половая жизнь с 18 лет, состоит в браке. В 19 лет был поставлен диагноз *дисгенезия гонад*. С 27 лет страдает сахарным диабетом 1-го типа и хроническим билиарным панкреатитом с желчнокаменной болезнью. В настоящее время менструальный цикл на фоне гормональной терапии.

При осмотре гинекологом отмечено: молочные железы гипоплазированы, форма соска не изменена; наружные половые органы развиты по женскому типу, оволосение по женскому типу. При осмотре с помощью зеркал патологии не выявлено. При бимануальном гинекологическом осмотре: тело матки меньше нормальных размеров, отклонено вправо, плотной консистенции, безболезненное. Своды влагалища глубокие. Придатки слева и справа не пальпируются. При ультразвуковом исследовании органов малого таза: размеры матки 52 × 44 × 54 мм, размеры яичников 18,6 × 10,6 мм (правый) и 20,0 × 15,2 (левый).

Результаты исследования гормонов крови (без приема гормональных препаратов): пролактин — 61,5 МЕ/л (норма 109—557 МЕ/л), фолликулостимулирующий гор-

мон — 60,4 мМЕ/мл (норма 1,5–10 мМЕ/мл), лютеинизирующий гормон — 20,4 МЕд/мл (норма 2,3–15 МЕд/мл), эстрадиол <37,0 пг/мл (норма 150–940 пг/мл), дегидроэпиандростерон — 7,7 нмоль/мл (норма 0,9–11,7 нмоль/мл), антимюллеров гормон — 0,1 нг/мл (норма 4–6,8 нг/мл), тиреотропный гормон — 1,75 мкМЕ/мл (норма до 4 мкМЕ/мл).

Согласно результатам гинекологического и эндокринологического обследования, поставлен диагноз: *дисгенезия гонад, гипергонадотропный гипогонадизм, гипопролактинемия. Бесплодие I, аменорея II*.

Для уточнения причин дисгенезии гонад и преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) пациентке было назначено цитогенетическое исследование.

Методы и результаты исследования

Цитогенетическое исследование проведено на культивированных лимфоцитах периферической крови по стандартной методике GTG-окрашивания. Визуальный анализ метафазных хромосом выполнен с использованием микроскопа OLYMPUS CX41 и анализирующей программы ВидеоТест-Карио 3.0 (производитель ООО «ВидеоТест», Россия). Выявлен дополнительный хромосомный материал на длинном плече X-хромосомы, который был расценен как инвертированная дупликация/делеция (рис. 1).

Для уточнения размера и характера перестройки применены методы флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). FISH проведена по протоколам фирмы-производителя. Денатурация и гибридизация проводились с использованием гибридизационной системы ThermoBrite (StatSpin). Для контрокрасивания хромосом применен флуоресцентный краситель DAPI. Анализировали препараты на эпифлуоресцентном микроскопе AxioImagerM.1 (CarlZeiss) с соответствующим набором светофильтров, оснащенный компьютерной программой обработки цифровых изображений Isis (MetaSystems). Были использованы субтеломерный зонд на длинное плечо X-хромосомы — Sub-Telomere Xqter (Kreatech) (рис. 2) и m BAND X (рис. 3).

Результаты FISH-исследования подтвердили наличие у пациентки инвертированной дупликации/делеции длинного плеча X-хромосомы с точками разрывов q21.2 и q27.2. Кариотип окончательно определен как 46,X,inv dup/del(X)(Xpter→q27.2::q27.2→q21.3). Таким образом установлено, что у пациентки присутствует частичная моносомия по району q27-qter и частичная трисомия по району q21.3-q27.2 длинного плеча X-хромосомы.

Обсуждение

Механизм образования хромосомных перестроек, представляющих собой сочетание инвертированной дупликации и делеции, был подробно рассмотрен О. Zuffardy с соавт. [1]. Одной из причин подобных пе-

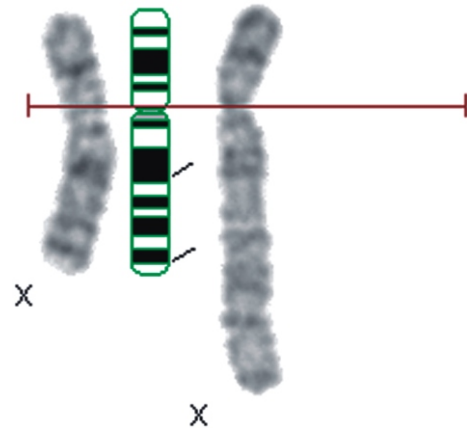


Рис. 1. X-хромосомы пациентки (перестроенная хромосома справа от идеограммы нормальной X-хромосомы), на идеограмме указано положение точек разрывов.

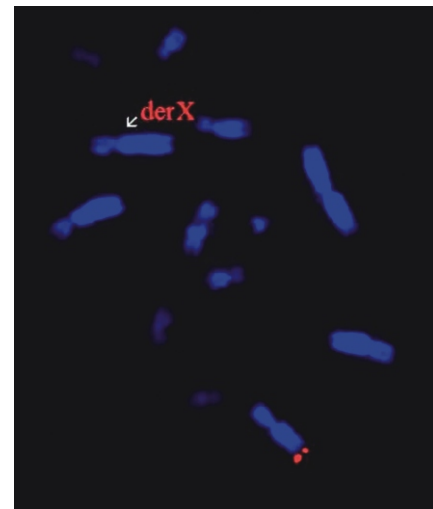


Рис. 2. Часть метафазной пластинки пациентки, FISH с субтеломерным зондом Xqter (красный сигнал). Субтеломерная область на длинном плече присутствует только на нормальной X-хромосоме. Перестроенная X-хромосома (derX) указана стрелкой.



Рис. 3. X-хромосомы пациентки (нормальная слева и перестроенная справа), при m BAND FISH, на перестроенной хромосоме присутствует инвертированная дупликация сегмента q21.2-q27.2.

реструктур может быть неаллельная гомологичная рекомбинация (NAHR — non-allelic homologous recombination) между районами хромосом, содержащими низкокопийные повторы (LCR — low copy repeats). Гипотетический механизм инвертированных дупликаций/делеций был рассмотрен на примере короткого плеча хромосомы 8, содержащего кластеры генов ольфакторных рецепторов, фланкированные низкокопийными повторами. Особенность строения короткого плеча хромосомы 8 — парацентрическая инверсия, широко распространенная в популяции (присутствующая у четверти индивидов). Если человек является гетерозиготным носителем данной инверсии, в результате мейотической рекомбинации могут образоваться дицентрическая хромосома ($qter \rightarrow p23.1::p23.1 \rightarrow qter$) и реципрокная ацентрическая хромосома ($pter \rightarrow p23.1::p23.1 \rightarrow pter$). В последующем ацентрический фрагмент утрачивается, в дицентрической же хромосоме может произойти асимметричный разрыв, в результате образуются хромосомы с делецией, а также с инвертированной дупликацией и делецией. И те, и другие перестройки хромосомы 8 были описаны.

Другой механизм предполагается для инвертированных дупликаций/делеций короткого плеча хромосомы 1. Две такие перестройки выявлены при детальном обследовании пациентов с синдромом частичной моносомии короткого плеча хромосомы 1. Этот механизм, названный «breakage — fusion — bridge» («разрыв — слияние — мост»), и описанный для эмбриональных и опухолевых клеток, относится к процессам репарации при двунитевых разрывах хромосом в случаях, когда не происходит репарации теломерной структуры. Он включает следующие

этапы: а) двунитевой разрыв хромосомы, б) слияние концов с образованием дицентрической хромосомы, в) асимметричный разрыв с образованием делетированной хромосомы и хромосомы с инвертированной дупликацией и делецией. В случае восстановления теломеры данное состояние может зафиксироваться (рис. 4).

Существует мнение, что подобные перестройки могут иметь не только мейотическое, но и соматическое происхождение, например, формироваться в результате субтеломерных разрывов и воссоединения сестринских хроматид. К настоящему времени известны описания инвертированных дупликаций/делеций во многих хромосомах: 1p, 1q, 2p, 2q, 3p, 4p, 4q, 5p, 7q, 9p, 9q, 10p, 10q, 11p, 14q, 15q, 18q, 21q и Xp. Возможно, в разных хромосомах реализуются различные пути формирования подобных перестроек, которые будут описаны в дальнейшем, но уже сейчас ясно, что подобные перестройки не являются уникальными или хромосомоспецифическими событиями. Так, например, показано, что в некоторых случаях кольцевых хромосом терминальная делеция сочетается с дупликацией, что свидетельствует о существовании различных способов формирования кольцевых хромосом, в том числе и через образование инвертированной дупликации/делеции [2, 3].

Таким образом, в нашем случае выявлена сочетанная аномалия X-хромосомы — частичная моносомия по сегменту $Xq27.2 \rightarrow qter$ и частичная трисомия по сегменту $Xq21.3 \rightarrow q27.2$. Описания подобной перестройки в литературе нам не встретилось. Рассмотрим возможное влияние данных анеусомий на фенотип пациентки, клиническими проявлениями у которой являются дисгенезия гонад и ПНЯ.

Дисгенезия гонад — нарушение развития репродуктивной системы, для которого характерна прогрессирующая потеря примордиальных половых клеток при эмбриональном развитии. Это приводит к формированию тяжелых дисгенетических гонад или гипопластичных яичников, в большей степени состоящих из фиброзной ткани. Такое состояние характерно для синдрома Шерешевского — Тернера, однако описано и при других нарушениях X-хромосомы, причинами также могут быть мутации генов и внешнесредовые факторы.

Синдром ПНЯ представляет собой первичный дефект развития яичников, приводящий к снижению овариального резерва. ПНЯ — полиэтиологическое состояние, причинами которого могут быть генетические факторы, аутоиммунные процессы, хирургические вмешательства, радио- и химиотерапия, внешние факторы (вирусы, токсины), метаболические факторы (галактоземия, 17 ОН-дефицит) и др.). Генетические факторы включают структурные перестройки X-хромосомы, мозаицизм по половым хромосомам и мутации аутосомных и X-сцепленных генов, среди которых гены, картированные в локусах $Xq21.3-q27$ и $Xq13-q21$ (*POF-1* и *POF-2* соответственно), в том числе ген *FMRI*, картированный в $Xq27.3$ и ответственный также за развитие

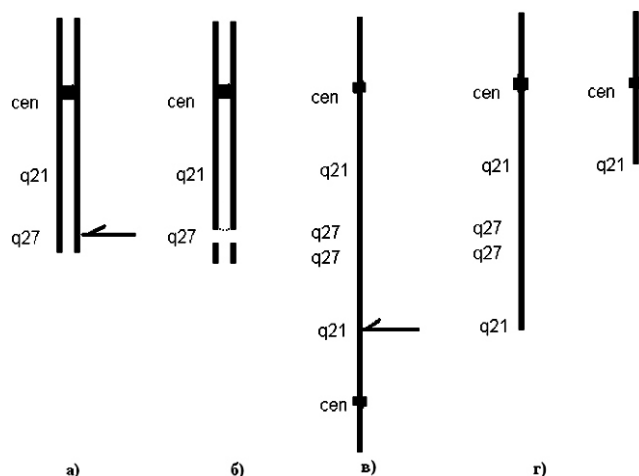


Рис. 4. Схема образования инвертированных дупликаций/делеций на примере перестройки X-хромосомы (по О. Zuffardy с соавт., 2009): а) происходит двунитевой разрыв хромосомы; б) концы хроматид «слипаются» с образованием дицентрической хромосомы, ацентрический фрагмент утрачивается; в) при делении клетки происходит асимметричный разрыв дицентрической хромосомы; г) образуются две хромосомы, одна из которых имеет терминальную делецию, а другая — инвертированную дупликацию/делецию.

синдрома Мартина-Белл у мальчиков [4]. Клинически ПНЯ характеризуется отсутствием менструаций (первичная аменорея) или прекращением менструаций в возрасте до 40 лет (вторичная аменорея). Это состояние встречается примерно у 1% женщин до 40 лет, 1:10000 женщин 20 лет и 1:1000 женщин 30 лет. Наиболее тяжелые формы представлены отсутствием полового развития и первичной аменореей (50% этих случаев связаны с дисгенезией гонад) [5]. Аномалии X-хромосомы являются значимой причиной ПНЯ.

В 1990 г. E. Therman, B. Susman [6] на основании анализа данных о пациентках с делециями короткого и длинного плеча X-хромосомы (с делецией короткого плеча — 57, делецией длинного плеча — 67, изохромосомой по короткому плечу — 10 и изохромосомой по длинному плечу — 9 случаев) показали, что пациентки с делециями, расположенными дистальнее Xq25, как правило, не имеют фенотипических проявлений, за исключением нескольких случаев ПНЯ. При делециях короткого плеча в 65%, а длинного плеча в 93% отмечена дисгенезия гонад, в то время как при изохромосомах по короткому и длинному плечу X-хромосомы наблюдалась вторичная аменорея. Авторы отметили, что для делеций Xq нет каких-то особых симптомов, отличных от наблюдающихся при делеции Xp. Так, небольшая субтеломерная делеция Xp сочеталась с низким ростом у 46 из 52 пациенток, однако низкий рост наблюдался и в 43% случаев делеции Xq. Авторы предположили, что район Xp11 остается активным в нормальной инактивированной X-хромосоме, однако инактивируется в делетированной, в особенности при делеции ее длинного плеча. В некоторых случаях инактивация распространяется до терминального отдела короткого плеча X-хромосомы, что может объяснить вариабельность проявлений Xq делеций. E. Therman с соавт. [7] на основании изучения точек разрывов у 118 пациенток с инверсиями и сбалансированными транслокациями X-хромосомы был сделан вывод о наличии двух критических районов для дисгенезии гонад — Xq13-q22 и Xq22-q26, разделенных непротяженным участком — локусом Xq22.

Влияние терминальных делеций X-хромосомы на функцию яичников детально проанализировано в обзоре J.L. Simpson, A. Rajkovic [8]. Авторы, в частности, делают вывод, что околоцентромерные локусы Xp и Xq содержат гены, важные для сохранения функции яичников. Терминальная делеция Xp11 в 50% случаев приводит к первичной аменорее и в 50% к ПНЯ. Делеция Xq13 обычно приводит к первичной аменорее. Терминальные делеции, расположенные ближе к теломерам, чаще приводят к ПНЯ, чем к полному отсутствию функции яичников. Суммарные данные по влиянию делеций X-хромосомы на функцию яичников представлены на рис. 5.

Из приведенной схемы очевидно, что небольшие терминальные делеции длинного плеча с точкой разрыва дистальнее Xq24 в большинстве случаев не приводят

к нарушению функции яичников, хотя у некоторых пациенток наблюдалась первичная или вторичная аменорея.

A. Marozzi с соавт. [9] с использованием высокоразрешающего цитогенетического исследования, микросателлитного анализа и FISH-исследования оценили вклад делеций длинного плеча X-хромосомы в спектр причин ПНЯ. Всего выявлено 6 пациенток с различными делециями Xq. Никто из них не имел проявлений симптомов синдрома Шерешевского—Тернера, время наступления менопаузы было различным. У 3 пациенток делеция сочеталась с трисомией Xp или 9p. Две делеции являлись терминальными (Xq26.2 и Xq21.2), одна интерстициальной — Xq23-q28. Перестроенные хромосомы были полностью инактивированы и размер делеции не коррелировал с тяжестью нарушения функции яичников. Наряду с предыдущими данными эти находки подтверждают, что делеция района, расположенного между локусами Xq26.2 (между маркерами *DXS8074* и *HIGM1*) и Xq28 (между маркерами *DXS1113* и *ALD*), размер которого составляет около 22 млн п.н., может быть ответственной за ПНЯ. Делеция, выявленная в нашем случае, частично находится в данном районе длинного плеча X-хромосомы, что подтверждает возможность ее ответственности за проявления нарушения функции яичников и фертильности у пациентки.

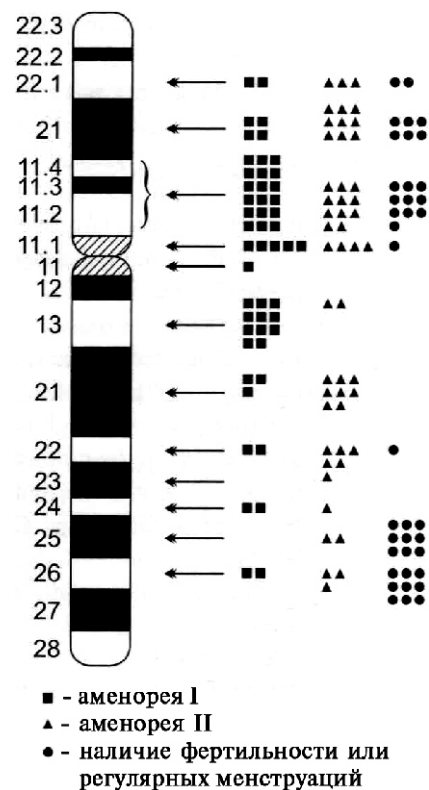


Рис. 5. Терминальные делеции короткого и длинного плеча X-хромосомы и их связь с нарушением функции яичников (по J.L. Simpson, A. Rajkovic, 1999).

Влияние частичной трисомии длинного плеча X-хромосомы на функцию яичников изучено в меньшей степени. При обследовании больших групп пациенток с дисгенезией гонад и ПНЯ находки случаев полной трисомии по X-хромосоме не являются редкими, однако связь их с данными проявлениями не всегда может быть доказана. Дупликации длинного плеча X-хромосомы относят к редким формам хромосомной патологии, и связь их с ПНЯ также достоверно не установлена. Описаны как «классические» (видимые при стандартном хромосомном анализе) прямые и инвертированные дупликации, так и микродупликации X-хромосомы, выявляемые с использованием молекулярных технологий. Они могут быть регулярными или встречаться в виде мозаичных форм. Большинство описаний посвящены пациентам с такими фенотипическими проявлениями дисомии и трисомии по X-хромосоме, как микроаномалии развития и умственная отсталость.

Дупликацию дистальной части длинного плеча X-хромосомы (Xq28), включающую ген *MECP2*, у мужчин рассматривают как клинически распознаваемый синдром [10]. Так как у мужчин X-хромосома всегда активна, дисомия по какому-либо ее участку, как правило, проявляется микроаномалиями развития и умственной отсталостью. У женщин обычно наблюдается избирательная инактивация перестроенной X-хромосомы, и подобный эффект дупликации отсутствует. Однако если по каким-то причинам это правило нарушается, микроаномалии развития и умственная отсталость могут быть отмечены и у женщин. Так, M.T. Gabbett с соавт. [11] описали мозаичную форму дупликации Xq21.1→q21.31 у женщины, имевшей в детстве речевые нарушения. Она была обследована в связи с обнаруженной дупликацией X-хромосомы у сына с лицевыми аномалиями и задержкой психомоторного развития. L. Armstrong с соавт. [12] наблюдали ребенка с кариотипом 46,X,dup(X)(q22.3q26) и аномалиями развития. Перестроенная хромосома была инактивирована, однако авторы предположили, что небольшой участок в районе дупликации мог избежать инактивации. P. Stankiewicz с соавт. [13] описан случай наследования дупликации (X)(q26.2q27.1) от матери к дочери, у обеих пациенток были отмечены низкий рост и дислалия. Нам встретился только один случай, когда у умственно отсталой женщины с дупликацией Xq22.1→q24 и фенотипическими аномалиями (низкий рост, общая мышечная гипотония, гипотрофия дистальных мышц нижних конечностей, удлиненные пальцы) были выявлены также дисгенезия гонад, скудное лобковое и аксиальное оволосение, гипоплазия наружных половых органов и вторичная аменорея. Точка разрыва была расположена в области гена *NXF* [14].

Фенотип представленной нами пациентки ограничивается дисгенезией гонад, гипергонадотропным гипо-

гонадизмом и бесплодием. Можно предположить, что в большинстве клеток перестроенная X-хромосома инактивирована. Вероятной причиной дисгенезии гонад является моносомия по району Xq27.2→qter, однако нельзя исключить и влияния частичной трисомии по району Xq21→q27.2 на степень проявления нарушений развития и функции яичников.

Заключение

Представленный случай может быть интересен и как первое описание инвертированной дупликации/делеции длинного плеча X-хромосомы, и как описание сочетания частичной моносомии и трисомии длинного плеча X-хромосомы у пациентки с дисгенезией гонад.

Список литературы

1. Zuffardi O, Bonaglia M, Ciccone R et al. Inverted duplications deletions: underdiagnosed rearrangements? Clin Genet. 2009;75:505-13.
2. Rossi E, Riegel M, Messa J et al. Duplications in addition to terminal deletions are present in a proportion of ring chromosomes: clues to the mechanisms of formation. Med Genet. 2008;45(3):147-54.
3. Guilherme RS, Meloni VFA, Kim Ch A et al. Mechanisms of ring chromosome formation, ring instability and clinical consequences. BMC Med Genet. 2011;12:171.
4. Vuiovic S. Aetiology of premature ovarian failure. Menopause Int. 2009;15(2):72-5.
5. Beck-Peccoz P, Persani L. Premature ovarian failure. Orphanet J Rare Dis. 2006;1:9.
6. Therman E, Susman B. The similarity of phenotypic effects caused by Xp and Xq deletions in the human female: a hypothesis. Hum Genet. 1990;85(2):175-83.
7. Therman E, Laxova R, Susman B. The critical region on the human Xq. Hum Genet. 1990;85(5):455-61.
8. Simpson JL, Rajkovic A. Ovarian differentiation and gonadal failure. Am J Med Genet. 1999;89:186-200.
9. Marozzi A, Manfredini E, Tibiletti MG et al. Molecular definition of Xq common- deleted region in patients affected by premature ovarian failure. Hum Genet. 2000;107(4):304-11.
10. Sanlaville D, Schluth-Bolard C, Turleau C. Distal Xq duplication and functional Xq disomy. Orphanet J Rare Dis. 2009;4:4.
11. Gabbett MT, Peters GB, Carmichael JM et al. Prader-Willi syndrome phenocopy due to duplication of Xq21.1-q21.31, with array CGH of the critical region. Clin Genet. 2008;73:353-9.
12. Armstrong L, McGowan-Jordan J, Brierley K et al. De novo dup(X)(q22.3q26) in a girl with evidence that functional disomy of X material is the cause of her abnormal phenotype. Am J Med Genet 2003;116A(1):71-6.
13. Stankiewicz P, Thiele H, Schlicker M et al. Duplication of Xq26.2-q27.1, including SOX3, in a mother and daughter with short stature and dyslaia. Am J Med Genet 2005;138(1):11-7.
14. Chen CP, Su YN, Lin HH et al. De novo duplication of Xq22.1→q24 with a disruption of the NXF gene cluster in a mentally retarded woman with short stature and premature ovarian failure. Taiwan J Obstet Gynecol. 2011;50(3):339-44.