

Фенотипическая вариабельность у пациентов с *de novo* X-аутосомными несбалансированными транслокациями

Маркова Ж.Г., Миньженкова М.В., Тарлычева А.А., Цветкова Т.Г., Галкина В.А., Шилова Н.В.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, zhmark71@mail.ru

Транслокации с участием хромосомы X и аутосомы являются довольно редким событием и характеризуются значительной вариабельностью фенотипа. Несбалансированные X-аутосомные транслокации могут приводить как к множественным врожденным порокам и задержке развития, так и вызывать только дисгенезию гонад без умственной отсталости и других аномалий фенотипа. Представлены данные клинического, цитогенетического и молекулярно-цитогенетического исследования двух пациентов с несбалансированными X-аутосомными транслокациями *de novo* с различными фенотипическими проявлениями, которые могут быть объяснены характером инактивации перестроенной X хромосомы.

Ключевые слова: X-аутосомная транслокация, FISH, инактивация X хромосомы.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Phenotypic variability in patients with *de novo* unbalanced X-autosomal translocations

Markova Zh.G., Minzhenkova M.V., Tarlicheva A.A., Tsvetkova T.G., Galkina V.A., Shilova N.V.

Federal Budgetary State Institution «Research Centre for Medical Genetics», Moscow, Russian Federation, zhmark71@mail.ru

Translocations involving an X chromosome and an autosome are rare and are associated with a variable phenotype. Most unbalanced X-autosomal translocations result in multiple abnormalities; a smaller proportion cause gonadal dysgenesis without other anomalies or mental retardation. We present clinical, cytogenetic and molecular cytogenetic findings of two patients with *de novo* unbalanced X-autosomal translocations with different phenotypic features which may be explained by the pattern of inactivation of the derivate chromosome X.

Key words: unbalanced X-autosome translocations, FISH, chromosome X inactivation.

Введение

Транслокации между хромосомой X и аутосомами достаточно редки и встречаются с частотой 1:300000 [1]. Как сбалансированные, так и несбалансированные варианты X-аутосомных транслокаций отличаются большой вариабельностью клинических проявлений и имеют особенности, связанные с феноменом инактивации хромосомы X [2–4].

Как известно, в соматических клетках здоровых женщин одна хромосома X подвергается инактивации, компенсируя дозу генов у двух полов. Инактивация происходит в период раннего эмбрионального развития. Транскрипционный сайленсинг инициируется случайным образом в центре инактивации (XIC), расположенном в районе Xq13 на любой из двух хромосом X и распространяется в обоих направлениях вдоль хромосомы. Это приводит к мозаицизму по двум клонам клеток, экспрессирующим аллели отцовских или материнских хромосом X. При этом не все гены в X-хромосоме инактивированы. Примерно 15% генов не подвергается инактивации и экспрессируется как в активных, так и неактивных хромосомах X. Большинство генов, избегающих инактивации, расположены на коротком плече хромосомы, меньшее количество — на длинном плече [5].

При несбалансированных X-аутосомных транслокациях инактивация дериватной хромосомы сопровождается распространением транскрипционного сайленсинга на аутосомный фрагмент [3]. При этом наблюдается неслучайная инактивация, когда в большинстве соматических клеток организма дериватная хромосома инактивируется, а нормальная хромосома X остается активной, что отражает вторичную селекцию против генетически несбалансированных клеток в период раннего эмбрионального развития [4].

Материалы и методы

Хромосомные препараты для цитогенетического (GTG-banding) и молекулярно-цитогенетического (FISH) анализа получали из ФГА-стимулированной культуры лимфоцитов периферической крови по стандартным методикам.

Флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) проводили по протоколам фирм-производителей. Использовались ДНК-зонды: на центромерный район хромосомы 18 (SE 18 (D18Z1), Kreatech, Нидерланды), субтеломерные районы хромосом 18 и X (Sub Telomere 18pter, Sub Telomere 18qter, Sub Telomere XYpter, Sub Telomere XYqter, Kreatech, Нидерланды), а также mBAND X, mBAND

12, mBAND 18 и mFISH (MetaSystems, Германия). Для гибридизации ДНК-зондов использовалась система ThermoBrite (Abbott Molecular, США). FISH-анализ проводился на люминисцентном микроскопе AxioImager.M1 (ZEISS, Германия) с использованием программы анализа изображения Isis (MetaSystems, Германия).

Результаты

Представлены клинические, цитогенетические и молекулярно-цитогенетические данные двух пациентов с несбалансированными X-аутосомными транслокациями, возникшими *de novo*.



Рис. 1. Фрагмент метафазной пластинки с дериватной хромосомой X в результате транслокации 46,X,der(X)t(X;18)(p22.3;p11.32)dn.

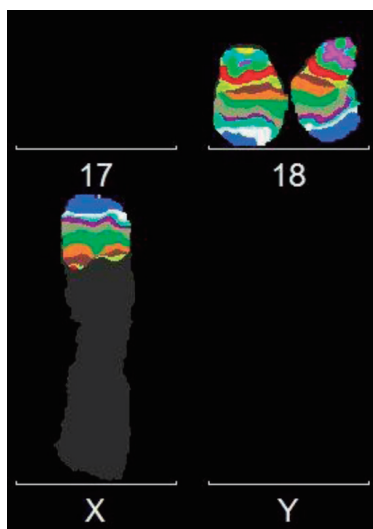


Рис. 2. Результат mBAND 18 — дериватная хромосома X вследствие t(X;18).

Случай 1. Пробанд, 14-летняя девочка, с подозрением на синдром Шерешевского—Тернера. При осмотре пациента врачом-генетиком отмечены низкий рост, укороченная шея, расширенная и уплощенная грудная клетка, гипертелоризм сосков, деформация и укорочение предплечий, специфическое строение ногтевого ложа (ногтевая пластинка узкая, ноготь гипоплазирован), клинодактилия 2-х пальцев рук, отсутствие вторичных половых признаков, нормальный интеллект.

Цитогенетический анализ выявил аномальный кариотип — 46,X,der(X)t(X;18)(p22.3;p11.32)dn, (рис. 1).

При FISH-анализе с ДНК-зондами на центромерный район хромосомы 18, субтеломерные районы хромосом 18 и X установлено наличие в дериватной хромосоме неактивной центромеры хромосомы 18, отсутствие субтеломерных районов короткого плеча хромосомы 18 и материала короткого плеча хромосомы X. Таким образом, у пробанда выявлены делеция района p22.3→pter короткого плеча хромосомы X и дупликация района p11.32→qter хромосомы 18, подтвержденная mBAND 18 (рис. 2).

Случай 2. Пробанд, 2-летняя девочка с задержкой психомоторного и речевого развития и множественными врожденными аномалиями: постаксиальной полидактилией левой кисти, низко расположенными ушными раковинами, приросшей мочкой ушей, гипертелоризмом, широкой плоской переносицей, широкими первыми пальцами стоп, плосковальгусной установкой стоп, ангиомой на спине.

При стандартном цитогенетическом анализе культивированных лимфоцитов периферической крови выявлен аномальный кариотип с дополнительным материалом неизвестного происхождения на длинном плече хромосомы X. Анализ профиля гибридизации дериватной хромосомы X при mFISH показал, что на длинное плечо хромосомы X транслоцирован материал хромосомы 12 (рис. 3).

Дуплицированный район хромосомы 12 был идентифицирован при mBAND 12 как 12q23→12qter (рис. 4).

Кариотипы родителей нормальные. Таким образом, в результате комплексного молекулярно-цитогенетического исследования кариотип пробанда определен как 46,X,der(X)t(X;12)(q26;q23)dn.

Обсуждение

Фенотип пациентов с несбалансированными X-аутосомными транслокациями значительно отличается от случаев, когда в транслокации участвуют две аутосомы.

Транслокации с участием хромосомы X и аутосомы являются уникальными в силу особенностей их генетического функционирования, которое связано с явлением асимметричной инактивации хромосомы или транскрипционного сайленсинга [1].

Механизм асимметричной инактивации при носительстве несбалансированной X-аутосомной перестройки может выглядеть следующим образом. В раннем эмбриональном развитии происходит случайная инактивация одной из хромосом X в каждой клетке. При инактивации перестроенной хромосомы X транскрипционный сайленсинг, инициированный в центре инактивации (Xq13), распространяется в обоих направлениях, в том числе и на аутосомный фрагмент, подавляя экспрессию генов и преобразуя структурную частичную трисомию в функциональную дисомию. В клетках с инаktivированной нормальной хромосомой все аутосомные гены останутся активны, и эти клетки будут функционально не сбалансированы. Впоследствии соотношение клеточных линий изменяется за счет преимущественного выживания клеток с минимальным геномным дисбалансом, вплоть до полной элиминации всех клеток с активной дериватной хромосомой X.

Степень тяжести клинических проявлений частичной трисомии зависит от соотношения клонов клеток с активной и неактивной дериватной хромосомой X. Фенотип пациентов при 100%-ной инактивации перестроенной хромосомы X и максимальной инактивацией аутосомных генов может быть практически нормальным [6, 7]. Однако, по данным Шмид и соавт., до 25% носителей X-аутосомных перестроек имеют аномальный фенотип из-за присутствия клона с активной перестроенной хромосомой. Также отмечен тканеспецифичный мозаицизм, при котором у носителей X-аутосомных перестроек с аномальным фенотипом соотношение клонов составляло от 80:20 в крови до 30:70 в фибробластах кожи [8].

Вторым фактором, влияющим на формировании клинической картины у пациентов с несбалансированными X-аутосомными перестройками, является характер распространения и сохранения транскрипционного сайленсинга в аутосомном фрагменте перестроенной X-хромосомы. Известно, что транслоцированные аутосомные локусы инаktivируются менее эффективно, чем собственные гены хромосомы X. Часть аутосомных ге-

нов остаются активными даже в инаktivированной хромосоме X: они изначально избегают инаktivации или неспособны достаточно эффективно сохранять инаktivацию в процессе онтогенеза и подвергаются реинаktivации [9].

Анализ данных литературы показывает корреляцию между ослаблением клинических проявлений частичной аутосомной трисомии и увеличением полноты инаktivации аутосомных генов (таблица). В работе Sharp с соавт. проведен анализ распределения инаktivации в аутосомном фрагменте перестроенной хромосомы X в 5 случаях несбалансированных X-аутосомных транслокаций (случаи 1—5). Во всех наблюдениях перестроенная хромосома X была инаktivирована, но распределение инаktivации в аутосомных фрагментах в каждом из пяти случаев было различным, что может отражать сложность каскада инаktivации [10]. В случае 6 отмечалась поздняя репликация перестроенной X хромосомы и транслоцированного фрагмента хромосомы 18 в 98% клеток [11].

В сообщении White с соавт. [12] описывается несбалансированная транслокация между длинными плечами хромосом X и 4 у женщины с нормальным фенотипом (случай 7), при которой предполагается инаktivация избыточного материала хромосомы 4. Авторы обнаружили, что 14 из 20 исследованных аутосомных локусов были инаktivированы, при этом 6 локусов оставались

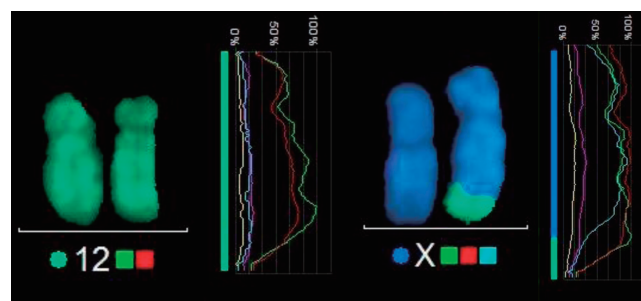


Рис. 3. Результат mFISH и профили гибридизации хромосом 12 и дериватной хромосомы X.

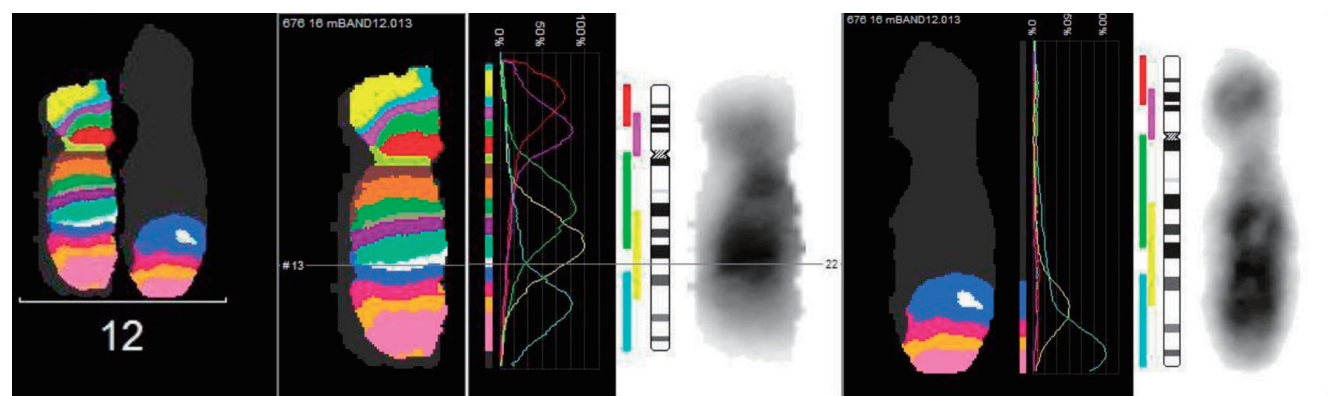


Рис. 4. Результат mBAND 12.

**Фенотипические проявления и результаты анализа инактивации X хромосомы
у пациентов с несбалансированными X-аутосомными транслокациями**

№	Кариотип	Фенотип	Источник	Анализ инактивации
1	46,X,der(X)t(X;11) (q26.3;p12) <i>de novo</i> (pat)	Легкая задержка развития, крупное телосложение, короткая шея и незначительные лицевые дизморфии	Sharp, 2002	Непрерывная, почти полная
2	46,X,der(X)t(X;7) (q27.3;q22.3) mat	Ряд серьезных фенотипических аномалий с глубокой задержкой моторного развития и тяжелой степенью умственной отсталости	Sharp, 2002	Непрерывная, неполная, не во всех клетках
3	46,X,der(X)t(X;6) (p11.2;p21.1) mat	Умеренная задержка развития, трудности с обучением (IQ = 75) и низкий рост	Sharp, 2002	Прерывистая, неполная
4	46,X,der(X)t(X;6) (q28;p12) <i>de novo</i> (pat)	Задержка психомоторного и речевого развития, лицевые дизморфии	Sharp, 2002	Прерывистая, неполная
5	46,X,der(X)t(X;10) (q26.3;q23.3) mat	Вторичная аменорея	Sharp, 2002	Непрерывная, почти полная
6	der(X)t(X;18)(q27;q22)	Сниженный овариальный запас	Fusco, 2011	В 98% клеток
7	46, X, der (X) t (X; 4) (q22;q24)	Вторичная аменорея	White, 1998	Неполная
8	46,X,der(X)t(X;10) (q21.2;q11.2)	Задержка речи, лицевые дизморфии	Mononen, 2003	Почти полная

активными. Инактивированные гены были распределены вдоль всего аутосомного сегмента, что указывает на то, что инактивация распространилась на расстояние более 100 млн п.н. вдоль хромосомы. Пять из шести активных генов располагались интерстициально, с фланкированием инактивированными последовательностями с обеих сторон.

Исследования поздней репликации и анализ экспрессии транслоцированных аутосомных генов в случае 8 показали сложное распределение инактивации. Поздняя репликация отмечалась в медиальном районе (10q23-q25), но не в каждой клетке, а в наиболее проксимальной части транслоцированного хроматина длинного плеча хромосомы 10 — в каждой клетке [13].

Прерывистое распределение экспрессии аутосомных генов может быть связано с невосприимчивостью некоторых генов к сигналу инактивации или с неспособностью поддерживать инактивацию, что, в свою очередь, приводит к реактивации генов [2, 9]. Данное утверждение согласуется с исследованиями Hall с соавт. [14], когда при введении трансгенного XIST в аутосому человека в культуре клеток со временем наблюдалось уменьшение признаков инактивации. Вероятнее всего, к неполной инактивации аутосомных генов при X-аутосомных транслокациях может приводить сочетание нескольких факторов.

Представленные случаи несбалансированных X-аутосомных транслокаций *de novo* с различными фенотипическими проявлениями могут быть объяснены характером инактивации производной хромосомы X. Можно предположить, что в первом случае преимущественно инактивируется дериватная X хромосома. Распространение инактивации на транслоцированный

аутосомный сегмент объясняет отсутствие фенотипического эффекта дубликации значительного фрагмента хромосомы 18. Наличие делеции района p22.3→pter короткого плеча хромосомы X и, как следствие, функциональная моносомия локализованных в нем генов могут вносить вклад в клиническую картину, приводя к фенотипическим проявлениям синдрома Тернера.

У второго пациента фенотип в большей мере обусловлен дубликацией района q24→qter хромосомы 12 и делецией района q23→qter хромосомы X, что позволяет предположить в данном случае меньшее влияние инактивации дериватной хромосомы X, что может обуславливать аномалии фенотипа, сопровождающиеся задержкой психомоторного и речевого развития.

Таким образом, у пациентов с *de novo* X-аутосомными несбалансированными транслокациями отмечается значительная вариабельность фенотипических проявлений, степень тяжести которых невозможно спрогнозировать.

Список литературы

1. Chromosome abnormalities and genetic counseling. Oxford monographs of medical genetics no. 6, Gardner RJ, Sutherland G, Shaffer LG (eds); Int. Oxford press 2012.
2. Lyon MF. Do LINEs have a role in X-chromosome inactivation? J Biomed Biotechnol. 2006; 2006(1):59746.
3. Минайчева ЛИ, Суханова НН, Назаренко ЛП, Вовк СЛ, Тимошевский ВА, Лебедев ИН, Кохно ТС. Случай редкой сбалансированной транслокации между хромосомами X и 13. Медицинская генетика. 2008. Том(5):38-40.

4. Pinheiro I, Heard E. X chromosome inactivation: new players in the initiation of gene silencing. Version 1. F1000Re. 2017; 6: F1000 Faculty Rev-344.
5. White WM, Willard HF, Van Dyke DL, Wolff DJ. The spreading of X inactivation into autosomal material of an X;autosome translocation: evidence for a difference between autosomal and X-chromosomal DNA. *The American Journal of Human Genetics*. 1998;63(1):20-28.
6. Szvetko A, Martin N, Joy C, Hayward A, Watson B, Cary A, Withers S. Detection of Chromosome X;18 Breakpoints and Translocation of the Xq22.3;18q23 Regions Resulting in Variable. *Case Rep Genet*. 2012;2012:681747.
7. Sills ES, Cotter PD, Marron KD, Shkrobot LV, Walsh HM, Salem RD. Ovarian dysgenesis associated with an unbalanced X;6 translocation: first characterisation of reproductive anatomy and cytogenetic evaluation in partial trisomy 6 with breakpoints at Xq22 and 6p23. *Mol Med Rep*. 2012;5(1):29-31.
8. Schmidt M, Du Sart D. Functional disomies of the X chromosome influence the cell selection and hence the X inactivation pattern in females with balanced X-autosome translocations: a review of 122 cases. *Am J Med Genet* 42 : 161 — 169 , 1992 .
9. Popova BC, Tada T, Takagi N, Brockdorff N, Nesterova TB. Attenuated spread of X-inactivation in an X;autosome translocation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103(20):7706-7711.
10. Sharp AJ, Spotswood HT, Robinson DO, Turner BM, Jacobs PA. Molecular and cytogenetic analysis of the spreading of X inactivation in X;autosome translocations. *Hum Mol Genet*. 2002;11 (25): 3145-3156.
11. Fusco F, Paciolla M, Chen E, Xu Li, Genesio R, Conti A, Jones J, Poeta L, Lioi MB, Ursini MV, Mian MG. Genetic and molecular analysis of a new unbalanced X;18 rearrangement: localization of the diminished ovarian reserve disease locus in the distal Xq POF1 region. *Hum Reprod*. 2011; 26(11):3186-3196.
12. White WM, Willard HF, Van Dyke DL, Wolff DJ. The spreading of X inactivation into autosomal material of an X;autosome translocation: evidence for a difference between autosomal and X-chromosomal DNA. *The American journal of Human Genetics*. 1998;63(1):20-28.
13. Mononen T, Sharp A , Laakso, R-L Meltoranta M, Valve-Dietz A-K, Heinonen K Partial trisomy 10q with mild phenotype caused by an unbalanced X;10 translocation *J Med Genet* 2003;40:e61(<http://www.jmedgenet.com/cgi/content/full/40/5/e61>)
14. Hall LL, Clemson CM, Byron M, Wydner K, Lawrence JB. Unbalanced X;autosome translocations provide evidence for sequence specificity in the association of XIST RNA with chromatin. *Hum Mol Genet*. 2002;11(25):3157-65.