

Гоносомные аномалии и CNV, и их диагностика

Черных В.Б.^{1,2}

¹ — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», г. Москва

² — ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, г. Москва
e-mail: chernykh@med-gen.ru

Численные и цитогенетически идентифицируемые структурные аномалии половых хромосом, их несбалансированные микроструктурные перестройки — вариации числа копий (CNV) и генные варианты являются частой причиной нарушения формирования пола, гипогонадизма, аномалий роста, умственной отсталости, нарушений гаметогенеза и фертильности. В связи со стремительным развитием молекулярных технологий анализа генома в последние годы получены данные о «тонкой структуре» генома и его вариациях, в том числе половых хромосом, их рекомбинации и мутаций, описаны многочисленные CNV. Многообразие гоносомных мутаций, частое сочетание изменений генома различного уровня и наличие мозаицизма по половым хромосомам, а также отсутствие универсального подхода в их диагностике требует комплексного, а во многих случаях и индивидуального алгоритма медико-генетического обследования пациентов с аномалиями пола, физического и умственного развития, репродуктивной функции. В статье приведен краткий обзор аномалий половых хромосом и CNV человека, а также современные возможности их диагностики.

Ключевые слова: анеуплоидия, бесплодие, вариации числа копий (CNV), гаметогенез, мозаицизм, нарушение формирования пола (НФП), половые хромосомы (гоносомы), химеризм.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Sex chromosomes abnormalities and CNVs, and their diagnosis

Chernykh V.B.^{1,2}

¹ — Research Centre for Medical genetics, Moscow

² — Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow
e-mail: chernykh@med-gen.ru

Numerical and cytogenetically identifiable structural abnormalities of sex chromosomes, their unbalanced microstructural rearrangements — copy number variations (CNVs) and gene variants are a common cause of disorders of sex differentiation and reproductive organs development, hypogonadism, growth abnormalities, mental retardation, defects of gametogenesis and fertility. Due to rapid development of molecular technologies of genome analysis in recent years, data on the «fine structure» of the genome and its variations, including sex chromosomes, their recombination and mutations, and numerous CNVs were obtained. The variety of gonosomal mutations, the frequent combination of changes in different levels of the genome and the presence of sex chromosome mosaicism, also as the lack of a universal approach to their diagnosis requires a comprehensive, and in many cases, an individual algorithm of medical and genetic examination of patients with abnormalities of sex development, physical and mental development, reproductive function. The article provides a brief overview of human sex chromosomes and CNVs, as well as modern possibilities of their diagnosis.

Key words: aneuploidy, infertility, copy number variation (CNV), gametogenesis, mosaicism, disorders of sex development (DSD), sex chromosomes (gonosomes), chimerism.

Введение

Численные и структурные аномалии половых хромосом (X и Y) человека, а также несбалансированные микроструктурные перестройки гоносом являются частой причиной нарушения формирования пола, задержки полового и физического развития, аномалий роста, умственной отсталости, гипогонадизма, нарушений сперматогенеза и оогенеза, бесплодия или снижения фертильности [1–4].

Цитогенетически идентифицируемые аномалии половых хромосом (гоносом) обнаруживают с частотой примерно 1,5–2,5 на 1000 новорожденных [1, 4].

В большинстве случаев они представлены анеуплоидиями. Численные аномалии половых хромосом вызывают хромосомные болезни, например, синдром Клайнфельтера, Шерешевского—Тернера, трисомии X, дисомии Y [1–4]. Несбалансированные структурные перестройки половых хромосом также могут вызывать гоносомные синдромы, а также быть причиной различных несиндромальных нарушений, вызванных изменениями копийности и экспрессии X- и Y-сцепленных генов.

В последние годы с изучением генома человека и развитием молекулярных технологий и методов исследования, получены данные о вариабельности генома, в том

числе о последовательности ДНК хромосом X и Y, особенностях строения их различных участков и X-Y рекомбинации. Идентифицированы многочисленные микроструктурные перестройки гоносом, имеющие различные фенотипические эффекты и клиническое значение [5–12]. Рост возможностей детекции изменений на различных уровнях организации генома позволяет существенно улучшить диагностику различных нарушений, связанных с ними, однако остаются актуальными многочисленные проблемы, связанные с интерпретацией выявленных аномалий и генетических вариантов [13].

Численные и структурные аномалии половых хромосом

Аномалии количества половых хромосом в кариотипе приводят к гоносомным синдромам: Клайнфельтера (СК), Шерешевского—Тернера (СШТ), дисомии Y, трисомии X, полисомии по гоносомам [1–4]. Данные синдромы являются одними из первых хромосомных болезней, описанных до появления молекулярно-цитогенетических и молекулярно-генетических методов исследования, позволяющих оценивать копийность половых хромосом в геноме. Их постнатальная и пренатальная диагностика в большинстве случаев не вызывает трудностей и может быть осуществлена при стандартном цитогенетическом исследовании (СЦИ), флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) или количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (КФ-ПЦР) [3].

Не только анеуплоидии половых хромосом, но и несбалансированные цитогенетически идентифицируемые структурные аномалии гоносом с потерей материала X-хромосомы, реже Y-хромосомы, могут приводить к нарушению физического и умственного развития, нарушению формирования пола (НФП), низкому росту, дисгенезии гонад, гипогонадизму, аменорее и нарушению репродуктивной функции [2, 4, 13–15]. Они часто встречаются при СШТ и/или связаны с частичной моносомией X, крайне редко — с несбалансированной перестройкой Y-хромосомы, например, изохромосомой или изодицентрической хромосомой Yq [1, 4]. Структурные аномалии гоносом редко отмечают при СК (например, изодицентрическая хромосома X), они не характерны для полисомий по половым хромосомам. Наличие в кариотипе хромосомы X и хромосомы i(Yq) или idic(Yq) характерно для редких цитогенетических вариантов дисгенезии гонад с признаками СШТ вследствие моносомии по X-Y идентичным (псевдоаутосомному региону PAR1) и некоторым X-Y гомологичным генам вследствие потери материала короткого плеча хромосомы Y [4, 15]. Точки разрыва при этом располагаются проксимально от гена *SRY*, в центромерной области (i(Yq)) или локусе Yp11.2 (idic(Yq)). Отсутствие у данных пациентов гена *SRY* вызывает нарушение дифференцировки пола и дисгенезию гонад, а потеря Y-копии гена *SHOX* (*Short stature homeobox gene on X*), локализованного в дистальной части реги-

она PAR1, приводит к низкому росту как при регулярной форме моносомии X [4, 14].

Структурные аномалии половых хромосом, особенно несбалансированные перестройки, часто predisполагают к постзиготическому нерасхождению или отставанию перестроенных хромосом в анафазе, приводя к возникновению мозаицизма [4, 15]. Фенотипическая картина численных и структурных аномалий половых хромосом в значительной степени обусловлена не только дисбалансом в количестве материала гоносом, но и выраженностью гоносомного мозаицизма, представленностью в различных органах и тканях нормального и аномального(ых) клеточных клонов, в частности клона 45,X [16]. Наличие мозаицизма, особенно при выраженных его межтканевых различиях, может затруднять диагностику и оценку его клинической значимости.

В отличие от несбалансированных гоносомных аномалий, сбалансированные перестройки половых хромосом редко приводят к выраженным фенотипическим изменениям. Так, например, перичентрические инверсии Y хромосомы в большинстве случаев не приводят к нарушению процессов мейоза, сперматогенеза и репродуктивной функции у мужчин [15]. Инверсии X-хромосомы встречаются намного реже и также могут наследоваться, не нарушая фертильность их носителей [4]. В отличие от инверсий хромосом X и Y, сбалансированные гоносомно-аутосомные транслокации часто нарушают фертильность (особенно у мужчин), что связано с нарушением сперматогенеза и мейоза, повышенным количеством гамет с несбалансированным кариотипом, например, у носителей X-аутосомных транслокаций [4]. Сбалансированные аномалии хромосом могут быть выявлены при СЦИ, но не детектируются методами «молекулярного» кариотипирования [3, 6].

Сбалансированные микроперестройки зачастую являются микроструктурными вариантами — полиморфизмами, не оказывающими влияния на экспрессию генов и фенотип. Особое место занимают перестройки с вовлечением хромосом X и Y и аутосом, они могут быть сбалансированными и несбалансированными. При этом их фенотипические эффекты обусловлены изменением копийности материала аутосом и гоносом, и влиянием на экспрессию генов, например, в случаях X-аутосомных транслокаций [4].

Численные аномалии половых хромосом, в том числе мозаичные, структурные перестройки аутосом и гоносом с вовлечением локусов, контролирующих дифференцировку гонад и развитие половой системы, приводят к аномалиям дифференцировки гонад, формирования пола и полового развития. НФП часто вызваны аномалиями половых хромосом, но могут быть и при нормальном мужском (46,XY НФП) или при нормальном женском кариотипе (46,XX НФП) [14]. Однако следует отметить, что ряд форм 46,XY и 46,XX НФП могут быть вызваны несбалансированными микроструктурными перестройками или точковыми мутациями генов/локу-

сов половых хромосом, вовлеченных в контроль половой дифференцировки и формирования пола, например, *SRY*, *SOX3*, *DAX1*, *AR*. Кроме того, часть случаев НФП связана с низкоуровневым или скрытым гоносомным мозаицизмом. Зачастую он не выявляется при СЦИ из-за исследования относительно небольшого количества метафазных пластинок (20—30) и ограниченностью анализа только одной тканью (лимфоцитов периферической крови).

С развитием молекулярных методов анализа хромосом для детекции гоносомных анеуплоидий часто применяют такие методы, как FISH, КФ-ПЦР, ПЦР в реальном времени, хромосомный микроматричный анализ, секвенирование и другие. Молекулярные методы в цитогенетике позволили обнаруживать микроструктурные перестройки хромосом, повысить разрешающую способность детекции структурных aberrаций, верифицировать аномалии хромосом, выявляемые при СЦИ, выявлять скрытый мозаицизм и химеризм, однородительскую дисомию по хромосоме X, эпигенетические изменения (например, преимущественную или выборочную X-инактивацию/лайонизацию) [6, 17, 18].

Вариации числа копий (CNV) половых хромосом

Несбалансированные микроструктурные варианты хромосом характеризуются изменением копийности фрагментов ДНК — вариациями числа копий (copy number variation, CNV), имеющими различное клиническое значение и влияние на фенотип [3, 4, 8]. Размер CNV варьирует от нескольких десятков пар нуклеотидов до нескольких миллионов нуклеотидов, наиболее крупные из которых могут быть детектированы при цитогенетическом исследовании. Поэтому отсутствует четкая граница между наиболее крупными CNV и структурными несбалансированными аномалиями хромосом. Геном каждого индивидуума отличается от референсного генома примерно 1000 вариантами числа копий, имеющих размер 450 п.н. и более. Согласно патогенности их подразделяют на: патогенные, вероятно патогенные, варианты с неустановленной патогенностью («variant of uncertain significance», VOUS), вероятно доброкачественные и доброкачественные CNV. Около 5% всех описанных CNV располагаются на половых хромосомах, при этом более 230 вариантов — на хромосоме X, 30% которых являются патогенными [4]. Информация по вариантам числа копий содержится в ряде баз данных, наиболее часто используемые среди них: DECIPHER (the Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources, интернет-страница <http://decipher.sanger.ac.uk>) и DGV (the Database of Genomic Variants, интернет-страница <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>).

С разработкой и внедрением в практику методов сравнительной гибридизации (CGH), в частности хро-

мосомного микроматричного анализа (ХМА), начато их активное использование в поиске несбалансированных изменений генома, а также для анализа структурных перестроек хромосом, их точек разрыва, в том числе у пациентов с различными нарушениями развития и функции репродуктивной системы [5, 6]. ХМА с использованием технологий сравнительной геномной гибридизации на чипах (aCGH) и генотипированием однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) позволяет обнаруживать делеции и дупликации размером менее 5 млн п.н., т.е. за пределами разрешающей способности СЦИ. Вследствие высокой эффективности детекции CNV предложено использовать ХМА в качестве первоочередного генетического анализа при подозрении на наличие микроделеционных и микродупликационных синдромов, для детекции несбалансированных хромосомных aberrаций и диагностики несиндромальных МБПР и умственной отсталости неясного генеза [3, 4]. В последние годы технологии ХМА и секвенирования нового поколения (next-generation sequencing, NGS) также широко используют не только в постнатальной диагностике генетических заболеваний, но и в преимплантационной генетической диагностике для скрининга анеуплоидий у эмбриона (ПГС), и при невынашивании беременности [3, 4, 6].

Анализ кариотипа по лимфоцитам периферической крови и ПЦР-анализ гена *SRY* (*Sex-determining Region Y*) являются наиболее распространенными методами диагностики гоносомных аномалий формирования пола. В настоящее время ХМА часто заменяет СЦИ или используется в комплексе с ним, например, как дополнительное цитогенетическое исследование у пациентов с НФП, сопровождающимся пороками развития других органов и систем [5]. Примерно у 20% пациентов с НФП обнаруживают CNV, чаще при синдромальных формах [18]. Вариации числа копий при этом могут затрагивать как аутосомы, так и половые хромосомы. Ряд генов, вовлеченных в контроль половой дифференцировки и формирования пола, в том числе X- и Y-сцепленных, имеют дозозависимый эффект. Так, дупликации генов *FGF9*, *SOX3* и *SOX9* вызывают 46,XX НФП, а дупликации генов *DAX1*, *WNT4* и делеции генов *ATRX*, *DMRT1*, *EMX2* и *WT1* — 46,XY НФП [14, 18].

При наличии ряда преимуществ перед СЦИ и FISH, ХМА, КФ-ПЦР и другие методы молекулярного кариотипирования имеют и ряд ограничений, например, невозможность детектировать сбалансированные перестройки хромосом, дифференцировать X-Y гомологичные гены, копии генов, гены и псевдогены [7], выявлять сложный мозаицизм (с тремя и более линиями клеток) и некоторые случаи простого мозаицизма (только с двумя линиями клеток) с наличием моносомии и трисомии по гоносомам (45,X/47,XXX и 45,X/47,XYY), а также низкоуровневый мозаицизм [19].

Изменения в копийности генов (или их фрагментов) могут быть детектированы различными молекулярными

методами. Для таргетного анализа определенных фрагментов ДНК широко используют мультиплексную лигазозависимую амплификацию зондов (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA), КФ-ПЦР и ПЦР в реальном времени [17, 18]. Метод MLPA в настоящее время используют для целенаправленной детекции делеций и дупликаций, полностью или частично (отдельные экзоны) затрагивающих ген, а ХМА позволяет обнаружить CNV по всему геному [3]. По сравнению с технологией aCGH с использованием олигонуклеотидных чипов, анализ геномной ДНК на SNP-чипах может детектировать изменения копийности фрагментов хромосом, имеющие меньший размер CNV, а также выявлять участки потери гетерозиготности (loss of heterozygosity, LOH). Эти методы позволяют выявлять внутригенные делеции, которые не всегда возможно обнаружить методом секвенирования ДНК. Использование ХМА, SNP-чиповых технологий и метода MLPA в ряде случаев более эффективно по сравнению с прямым секвенированием ДНК по Сэнгеру.

Одними из частых и широко изученных CNV при мужском бесплодии, являются микроделеции Y-хромосомы в локусе Yq11.2 — AZF (*Azoospermia factor*, «фактор азооспермии») [5, 7, 10, 11, 13]. Клинически значимые микроделеции Y-хромосомы обнаруживают у 0,1—0,2% мужчин [15, 20, 21]. Полные делеции, захватывающие его регионы AZFa, AZFb и AZFc, приводят к секреторной азооспермии или к олигозооспермии тяжелой степени, при этом около 75% микроделеций Y-хромосомы затрагивают AZFc регион [13, 20]. AZF-делеции обнаружены с максимальной частотой (20—30%) при синдроме «только клетки Сертоли» и при блоке сперматогенеза в профазе I мейоза [20, 22]. Ряд генов регионов AZFb и AZFc представлен в двух или нескольких копиях, например, *BPY*, *CDY*, *DAZ*, *HSFY*, *PRY/VCY*, *RBMY* и *HKRY*, поэтому потеря некоторых из копий может не оказывать выраженного негативного эффекта на сперматогенез и не приводить к азооспермии/олигозооспермии [7, 11, 20—23]. Однако изменение соотношения копий Y-сцепленных генов может оказывать влияние на концентрацию и общее количество, количество подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов, предрасполагая к снижению мужской фертильности [20, 21, 23]. Дупликации региона AZFc выявлены у 9% пациентов с мейотическим блоком сперматогенеза [22]. Фенотипическое проявление частичных AZF делеций может зависеть и не только от типа делеции, но и генетического фона, в частности от наличия на Y-хромосоме других генетических факторов, влияющих на сперматогенез, от Y-гаплотипа [5, 11, 13]. Так, количество копий в генном кластере *TSPY1* влияет на эффект gr/gr (частичных AZFc) делеций на сперматогенез и мужскую фертильность [24].

В последние годы начато активное исследование CNV X-хромосомы у мужчин и у женщин с бесплодием, вызванным нарушением гаметогенеза [12, 13, 25—30].

Среди мужчин с бесплодием выявлены более 70 микродупликаций и микроделений X-хромосомы размером от 1,4 т.п.н. до 1,6 млн п.н., в том числе потенциально клинически значимые CNV [12]. Обнаруженные крупные (>300 т.п.н.) перестройки представлены дупликациями и только 17% микроделений являлись относительно крупными. Средний размер микроделений и их количество на индивидуума в группе у мужчин с бесплодием выше, чем у фертильных (11,8 т.п.н. против 8,1 т.п.н. и 0,6 против 0,2, соответственно). В некоторых областях X-хромосомы (Xp11.12-q21.1) обнаружены только дупликации, в других (Xq27.1-q27.3) — только делеции.

Наибольшая плотность CNV на хромосоме X отмечена в X-Y идентичных (PAR-регионах) и гомологичных областях, что обусловлено высокой частотой их рекомбинации, в частности, несбалансированной с образованием микроделений и микродупликаций гоносом [12, 22, 29]. Вследствие 99,99% идентичности PAR-регионов для CNV, располагающихся в них, не представляется возможным по данным молекулярного кариотипирования точно установить их локализацию (на X или на Y хромосоме). Наличие структурных аномалий хромосом может влиять на процесс деления незрелых половых клеток на уровне конъюгации, синапсиса и рекомбинации гомологичных хромосом в мейозе. Большое количество делеций и дупликаций, обнаруженных в наиболее активных областях рекомбинации — регионах PAR1 (большинство), PAR2 и «PAR3» у мужчин с бесплодием, свидетельствует, что одним из механизмов их патогенного действия на сперматогенез может являться нарушение рекомбинации хромосом X и Y в профазе I мейоза [13, 30].

Тяжелыми формами женского бесплодия, связанными с нарушением оогенеза, являются XX-дисгенезия гонад и синдром преждевременной недостаточности яичников — СПНЯ (premature ovarian failure, POF). Среди их генетических причин — аномалии аутосом, X-аутосомные и X-X транслокации, несбалансированные цитогенетические и микроструктурные перестройки хромосомы X, гоносомный мозаицизм, генные мутации [25—28]. Ряд аутосомных и X-сцепленных генов, в том числе: *BMP15* (Xp11.2), *USP9X* (Xp11.4), *ZFX* (Xp22.1-21.3), *AR* (Xq12), *FOXO4* (Xq13.1), *CHM* и *POF1B* (Xq21.1), *DACH2* и *ZFX* (Xq21.3), *DIAPH2* (Xq22), *CENPI* и *NXF5* (Xq22.1), *COL4A6* (Xq22.3), *PGRMC1* (Xq24), *XPNPEP2* и *UTP14A* (Xq25) и *FMR1* (Xq27), определены как ответственные или кандидатные для СПНЯ [4]. Участки длинного плеча хромосомы X, критичные для развития СПНЯ: регион POF1, простирающийся от локуса Xq21 до Xqter, и регион POF2 располагающийся в интервале Xq13.3-Xq21.1 [27].

В дополнение к СЦИ при диагностике причин СПНЯ может быть использована FISH, например, для верификации и детекции мозаицизма, в том числе межканевого и скрытого, а также другие молекулярно-цитогенетические и молекулярно-генетические методы. Ис-

пользование сравнительной геномной гибридизации, в том числе таргетного анализа (X-хромосомы) [26, 27] и aCGH на чипах высокого разрешения с проведением SNP-генотипирования и полноэкзомного секвенирования [28], позволяет существенно повысить эффективность диагностики СПНЯ. Так, методом ХМА у 39% пациентов с СПНЯ и у 47% пациенток с ХХ-дисгенезией гонад, имеющих нормальный женский кариотип, выявлены неописанные или редкие CNV, представленные как микроделециями, так и микродупликациями ауто-сом и хромосомы X [25].

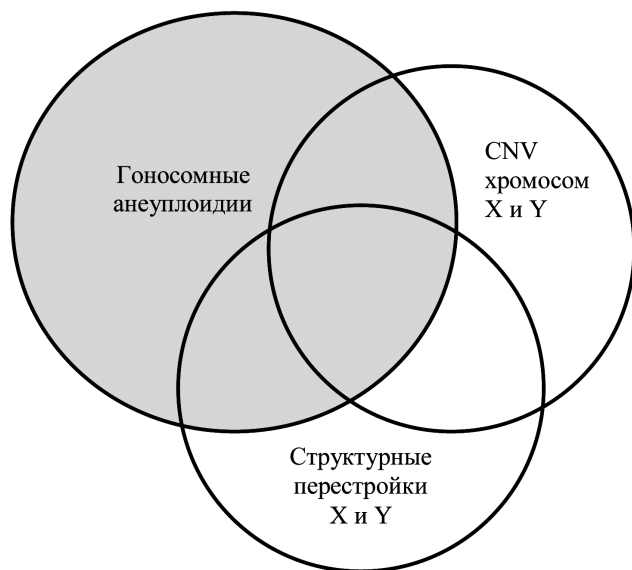
Анализ встречаемости численных аномалий, цитогенетически идентифицируемых и микроструктурных перестроек хромосом свидетельствует о возможных сочетаниях двух и более изменений одного или разных уровней у одного пациента, при этом это могут быть взаимосвязанные или независимые нарушения (рис. 1). Такие аномалии характерны для несбалансированных перестроек хромосом X и Y, гоносомных НФП (например, при СШТ, смешанной дисгенезии гонад, тестикулярном дисгенезе), связанных со структурными и микроструктурными перестройками, сопровождающимися мозаицизмом по гоносомам (X/XX, X/XU и другим). Так, у 19–47% пациентов с мозаицизмом по Y-хромосоме (45,X/46,XU и его варианты) обнаруживают цитогенетические несбалансированные перестройки с потерей части эухроматина длинного плеча Y-хромосомы и микроделеции Yq11.2, часто захватывающие регионы AZFb и AZFc [33]. Аутосомные и гоносомные микроделеции и

микродупликации, в том числе патогенные и вероятно патогенные, обнаружены у пациентов с анеуплоидией по гоносомам (синдром Клайнфельтера, дисомия Y, трисомия X), имеющих задержку психомоторного развития, нарушение развития речи и врожденные пороки развития [9]. Так, у 41,5% пациентов с синдромом Клайнфельтера обнаружены CNV, 94% из которых являлись микродупликациями X-хромосомы, а 90% включало гены, расположенные в областях X-Y гомологии и избегающие X-инактивации. При этом их частота у пациентов с СК значимо ($p < 0,01$) превышала частоту CNV в контрольных группах: у женщин ($28,6\%$) и мужчин ($18,6\%$), и среднее количество CNV при СК составляло $4,58 \pm 1,92$ вариантов на пациента, что значимо выше, чем у женщин и у мужчин ($1,50 \pm 1,29$ и $1,14 \pm 0,37$ соответственно) [31]. Поскольку среди них могут быть и патогенные варианты, влияющие на фенотип, это следует учитывать при диагностике и исследовании гено-фенотипических корреляций, а также при оценке клинической значимости выявленных гоносомных аномалий и CNV. Так, у 34% пациентов с СК выявлены микродупликации локуса Xq21.3, захватывающие X-Y гомологичный ген *PCDH11X/Y* [32]. Данный ген контролирует развитие и взаимодействие полушарий головного мозга, X-копия избегает X-инактивации, а его точковые мутации и делеции/дупликации приводят к нарушению речевого развития и обучения.

Точные сведения о частоте встречаемости различных сочетаний численных структурных аномалий гоносом и/или микроструктурных вариантов отсутствуют. Эта тема является новой и недостаточно изучена, поэтому необходимы дальнейшие исследования в этой области.

Гоносомный мозаицизм и химеризм

Мозаицизм по половым хромосомам часто сопровождается гоносомными анеуплоидиями и несбалансированными структурными аномалиями хромосом X и Y, в том числе микроструктурными перестройками [1, 4]. Частота встречаемости гоносомного мозаицизма в популяции не установлена и определена только для конкретных синдромов, обусловленных аномалиями половых хромосом. Так, наиболее часто мозаицизм обнаруживают при СШТ (до 50–80%) и НФП, связанных с мозаицизмом по гоносомам, например, 45,X/46,XU, и его вариантах, полисомии по гоносомам, при структурных аномалиях хромосом X и Y — кольцевых, изохромосомах, изодицентрических хромосомах [1, 4, 15]. Кариотип 46,XX/46,XU может быть вследствие гетерокариотипического химеризма или мозаицизма по половым хромосомам. В последнем случае он может возникнуть в результате восстановления из трисомии у 47,XXU зиготы на стадии дробления [4]. Мозаицизм XX/XU может быть причиной различных аномалий формирования пола, наиболее частая из которых овотестикулярная форма НФП, часто диагностируемая при химеризме 46,XX/46,XU [4, 14].



Численные, цитогенетически идентифицируемые структурные аномалии и несбалансированные микроструктурные перестройки (CNV) половых хромосом (показаны тремя частично перекрывающимися кругами, гоносомные анеуплоидии выделены серым кругом). Участками перекрывания показаны возможные варианты их наличия в геноме у одного и того же индивидуума. Размер кругов и областей их перекрывания объективно не отражает частоты встречаемости отдельных аномалий/вариантов и их сочетаний.

Наличие в зиготе несбалансированных структурных перестроек гоносом, особенно влияющих на стабильность хромосом в процессе клеточного деления (кольцевые, изодицентрические, изохромосомы X и Y), часто приводит к постзиготическим мутациям и возникновению мозаицизма, в том числе сложного (с наличием трех и более линий клеток) и динамического (с наличием клонов с различными структурными аномалиями одной хромосомы в кариотипе, например, Yq делеции и изодицентрической хромосомы idicYp) [4, 15]. Наличие гоносомного мозаицизма, в том числе низкоуровневого и скрытого, возможность выраженных межтканевых различий по представленности клеточных линий, имеющих различный генотип по половым хромосомам, может существенно затруднять детекцию аномалий кариотипа и требует применения комплекса из цитогенетических, молекулярно-цитогенетических и молекулярно-генетических методов исследования [16, 17]. Использование цитогенетических и молекулярных методов и анализ клеток/тканей различного гистогенеза позволяют значительно повысить точность диагностики аномалий половых хромосом, снизить количество неправильно поставленных диагнозов. Это особенно актуально для пациентов с НФП, для которых результаты генетического обследования часто являются критическими в решении о выборе пола, его хирургической коррекции, тактики ведения и гормонального лечения.

Заключение

Многообразие аномалий половых хромосом, частая встречаемость сочетанных мутаций и гоносомного мозаицизма требуют комплексного подхода в их диагностике с использованием различных цитогенетических и молекулярных методов детекции, их умелой комбинации, а зачастую и индивидуального дизайна обследования. Применение ХМА и массивного параллельного секвенирования существенно повышает эффективность детекции микроструктурных перестроек хромосом. Новые технологии анализа генома значительно расширяют возможности генетической диагностики микроструктурных перестроек хромосом и генных вариантов, однако СЦИ и FISH остаются актуальны во многих случаях аномалий половых хромосом, являясь базисными. Применение комплексного подхода в диагностике генетических заболеваний, вызванных гоносомными мутациями, позволяет существенно повысить эффективность медико-генетического обследования и консультирования. Необходимы дальнейшие исследования различных нарушений генома, их сочетаний и взаимосвязи. Изучение аномалий половых хромосом и CNV, их детальная характеристика позволят оценить их фенотипические эффекты и клиническую значимость.

Список литературы

1. Баранов В.С., Кузнецова Т.В. Цитогенетика эмбрионального развития человека: Научно-практические аспекты. Изд-во: Н-Л. — 2007. — 640с.
2. Курило Л.Ф. Хромосомные заболевания органов половой системы. Клиническая и экспериментальная морфология. 2015. № 1 (13). С. 48-59.
3. Наследственные болезни: национальное руководство: краткое издание / под ред. Е. К. Гинтера, В. П. Пузырева. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. — 464 с.
4. Gardner and Sutherland's Chromosome abnormalities and genetic counseling. Gardner RJM, Amor DJ, 5th ed. New York: Oxford University Press, 2018. 714 pp.
5. Черных В.Б. Геномные технологии в диагностике нарушений формирования пола, развития половой системы и репродукции человека. Медицинская генетика. 2018;17(2):3-11. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2018.02.3-11>
6. Rajcan-Separovic E. Chromosome microarrays in human reproduction. Hum Reprod Update. 2012; 18: 6555-6567. <https://academic.oup.com/humupd/article/18/5/555/599842>
7. Wei W, Fitzgerald TW, Ayub Q, Massaia A et al. Copy number variation in the human Y chromosome in the UK population. Hum Genet. 2015 Jul;134(7):789-800. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00439-015-1562-5>
8. Sudmant PH, Rausch T, Gardner EJ, Handsaker RE et al. An integrated map of structural variation in 2,504 human genomes. Nature. 2015 Oct 1;526(7571):75-81. <https://www.nature.com/articles/nature15394>
9. Le Gall J, Nizon M, Pichon O, Andrieux J et al. Sex chromosome aneuploidies and copy-number variants: a further explanation for neurodevelopmental prognosis variability? Europ J Hum Genet. 2017; 25: 930-934. <https://www.nature.com/articles/ejhg201793>
10. Massaia A, Xue Y. Human Y chromosome copy number variation in the next generation sequencing era and beyond. Hum Genet. 2017;136(5):591-603. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00439-017-1788-5>
11. Teitz LS, Pyntikova T, Skaletsky H, Page DC. Selection Has Countered High Mutability to Preserve the Ancestral Copy Number of Y Chromosome Amplicons in Diverse Human Lineages. Am J Hum Genet. 2018;103(2):261-275. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002929718302349?via%3Dihub>
12. Chianese C, Gunning AC, Giachini C, Daguin F et al. X chromosome-linked CNVs in male infertility: discovery of overall duplication load and recurrent, patient-specific gains with potential clinical relevance. PLoS One. 2014; 9(6): e97746. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0097746>
13. Черных В.Б., Яманди Т.А., Сафина Н.Ю. Новые молекулярные технологии в диагностике генетических причин мужского бесплодия. Андрология и генитальная хирургия. 2017;18(1):10-22. <http://agx.abvpress.ru/jour/article/view/220>
14. Hughes IA, Houk C, Ahmed SF, Lee PA. Consensus statement on management of intersex disorders. Arch Dis Child. 2006 Jul;91(7):554-63. <https://adc.bmj.com/content/91/7/554.long>
15. Черных В.Б. Макро- и микроструктурные перестройки Y хромосомы. Медицинская генетика. — 2007. — №10. — С.45-52.
16. Опарина Н.В., Маркова Т.В., Светличная Д.В., Авдейчик С.А. и др. Межтканевая вариабельность клеточных линий при мозаицизме по X-хромосоме. В сборнике: Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. Новосибирск, 2018. С. 141-149.
17. Чухрова А.Л., Бескоровая Т.С., Черных В.Б., Поляков А.В. Молекулярный анализ гоносомных аномалий методом мультиплексной QF-PCR. В сборнике: Генетика человека и патология. Проблемы эволюционной медицины: сборник науч-

ных трудов / под ред. В.А. Степанова. Вып. 10. — Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2014. — 234 с.

18. Barseghyan H, Delot E, Vilain E. New genomic technologies: an aid for diagnosis of disorders of sex development. *Horm. Metab. Res.* 2015; 47 (5): 312-320. <https://www.thieme-connect.com/DOI/DOI?10.1055/s-0035-1548831>

19. Markus-Bustani K, Yaron Y, Goldstein M, Orr-Urtreger A et al. Undetected sex chromosome aneuploidy by chromosomal microarray. *Prenat Diagn.* 2012; 32(11):1117-8. <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pd.3979>

20. Krausz C, Chianese C, Giachini C, Guarducci E, et al. The Y chromosome-linked copy number variations and male fertility. *J Endocrinol Invest.* 2011; 34(5): 376-382. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF03347463>

21. Lo Giacco D, Chianese C, Sanchez-Curbelo J, Bassas L et al. Clinical relevance of Y-linked CNV screening in male infertility: new insights based on the 8-year experience of a diagnostic genetic laboratory. *Europ J Hum Genet.* 2014; 22: 754-761. <https://www.nature.com/articles/ejhg2013253>

22. Halder A, Kumar P, Jain M, Iyer VK. Copy number variations in testicular maturation arrest. *Andrology.* 2017 May;5(3):460-472. <https://academic.oup.com/humrep/article/32/7/1521/3819247>

23. Yan Y, Yang X, Liu Y, Shen Y et al. Copy number variation of functional RBMY1 is associated with sperm motility: an azoospermia factor-linked candidate for asthenozoospermia. *Hum Reprod.* 2017 Jul 1;32(7):1521-1531.

24. Shen Y, Yan Y, Liu Y, Zhang S et al. A significant effect of the TSPY1 copy number on spermatogenesis efficiency and the phenotypic expression of the gr/gr deletion. *Hum Mol Genet.* 2013 Apr 15;22(8):1679-95. <https://academic.oup.com/hmg/article/22/8/1679/625728>

25. Ledig S, Ropke A, Wieacker P. Copy number variants in premature ovarian failure and ovarian dysgenesis. *Sex Dev.* 2010; 4(4-5): 225-232. <https://www.karger.com/Article/Abstract/314958>

26. Knauff EA, Blauw HM, Pearson PL, Kok K et al. Copy number variants on the X chromosome in women with primary ova-

rian insufficiency. *Fertil Steril.* 2011; 95(5):1584-8.e1. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028211000288?via%3Dihub>

27. Quilter CR, Karcanias AC, Bagga MR, Duncan S et al. Analysis of X chromosome genomic DNA sequence copy number variation associated with premature ovarian failure (POF). *Hum Reprod.* 2010; 25(8):2139-50. <https://academic.oup.com/humrep/article/25/8/2139/668287>

28. Tsuiko O, Noukas M, Zilina O, Hensen K et al. Copy number variation analysis detects novel candidate genes involved in follicular growth and oocyte maturation in a cohort of premature ovarian failure cases. *Hum Reprod.* 2016 Aug;31(8):1913-25. <https://academic.oup.com/humrep/article/31/8/1913/2914260>

29. Krausz C, Giachini C, Lo Giacco D, Daguin F et al. High resolution X chromosome-specific array-CGH detects new CNVs in infertile males. *PLoS One.* 2012; 7(10): e44887. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0044887>

30. Ropke A, Tuttmann F. Mechanisms in endocrinology: Aberrations of the X chromosome as cause of male infertility. *Eur J Endocrinol.* 2017;177(5):R249-R259.

31. Rocca MS, Pecile V, Cleva L, Speltra E et al. The Klinefelter syndrome is associated with high recurrence of copy number variations on the X chromosome with a potential role in the clinical phenotype. *Andrology.* 2016 Mar;4(2):328-34. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/andr.12146>

32. Veerappa AM, Saldanha M, Padakannaya P, Ramachandra NB. Genome-wide copy number scan identifies disruption of PCDH11X in developmental dyslexia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2013;162B(8):889-97. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajmg.b.32199>

33. Patsalis PC, Skordis N, Sismani C, Kousoulidou L et al. Identification of high frequency of Y chromosome deletions in patients with sex chromosome mosaicism and correlation with the clinical phenotype and Y-chromosome instability. *Am J Med Genet A.* 2005 Jun 1;135(2):145-9. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajmg.a.30712>