

Несбалансированные Y-аутосомные транслокации без фенотипических проявлений

Маркова Ж.Г., Миньженкова М.В., Мусатова Е.В., Тарлычева А.А., Шилова Н.В.

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

Хромосомный гетероморфизм в виде увеличения коротких плеч акроцентрических хромосом довольно часто встречается при цитогенетической диагностике. В некоторых случаях плечи могут быть увеличены из-за несбалансированной транслокации с участием гетерохроматина, чаще всего Yq. Данный феномен может быть объяснен ассоциацией этих хромосом с комплексом XY в стадии ранней пахитены. Носители несбалансированных Y-аутосомных транслокаций обычно имеют нормальный фенотип и фертильность. Однако в некоторых сообщениях было показано, что носители t(Y;15)(q12;p11) могут иметь репродуктивные проблемы или рождение детей с аномальным фенотипом. При использовании молекулярно-цитогенетических методов была дана подробная характеристика гетероморфизма гомологов акроцентрических хромосом в четырех случаях увеличенного гетерохроматина коротких плеч хромосомы 14 и 15. FISH-анализ позволил определить несбалансированную транслокацию Y;15 в трех случаях, и Y;14 — в одном. Информация о вариантах гетерохроматиновых районов хромосом позволяет обеспечить соответствующее медико-генетическое консультирование семьи.

Ключевые слова: гетероморфизм хромосом, Y-аутосомные транслокации, флуоресцентная in situ гибридизация (FISH).

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Unbalanced Y-autosomal translocations without clinical manifestation

Markova Zh.G., Minzhenkova M.V., Musatova E.V., Tarlycheva A.A., Shilova N.V.

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

Chromosomal heteromorphism, in the form of increasing of the short arms of acrocentric chromosomes, is quite common in cytogenetic diagnosis. In some cases, these may be increased due to unbalanced translocation involving heterochromatin, most often Yq. This phenomenon can be explained by the association of these chromosomes with the XY complex in early pachytene. Carriers of unbalanced Y-autosomal translocations usually have a normal phenotype and fertility. However, in some reports, it has been shown that carriers t(Y; 15) (q12; p11) may have reproductive problems or children with abnormal phenotype. When using molecular cytogenetic methods, a detailed characterization of heteromorphism of acrocentric chromosomes was given in four cases. FISH analysis allowed us to determine the unbalanced translocation Y;15 in three cases, and Y;14 — in one. Information on the variants of heterochromatin chromosome regions allows to provide appropriate medical-genetic counseling to the family.

Keywords: Chromosomal heteromorphisms, Y-autosome translocations, fluorescence in situ hybridization (FISH).

Введение

Несмотря на то, что явление гетероморфизма гомологов, т.е. нормальной изменчивости гомологичных хромосом, известно цитогенетикам не одно десятилетие, лишь недавно гетерохроматиновые и эухроматиновые варианты были систематически каталогизированы. Изменение размера гетерохроматиновых районов прицентромерных областей, коротких плеч акроцентрических хромосом и длинного плеча хромосомы Y наблюдается у клинически здоровых людей и трактуется как нейтральные цитогенетически выявляемые варианты числа копий ДНК (copy number variations — CNVs) [1]. При этом увеличение коротких плеч акроцентрических хромосом может являться следствием транслокации, в том числе гетерохроматинового района длинного плеча Yq12. Частота Y-аутосомных транслокаций в общей популяции составляет 1 на 2000 индивидуумов [2]. В бо-

льшинстве случаев (до 70%) они представляют собой транслокацию гетерохроматинового района Yq12 на короткое плечо акроцентрической хромосомы [3]. Чаще всего в транслокациях такого типа участвуют хромосомы 15 и 22 (52% и 33% случаев соответственно), реже — хромосомы 21(7%), 13(4%) и 14(4%) [1]. Данный феномен может быть объяснен ассоциацией этих хромосом с комплексом XY в стадии ранней пахитены [3].

Носители транслокаций der(15)t(Y;15)(q12;p11) обычно имеют нормальный фенотип и фертильность [4]. Однако в некоторых случаях было обнаружено, что носители подобных транслокаций могут иметь бесплодие, повторные самопроизвольные аборт, мертворождения или детей с аномальным фенотипом [5–7].

В данной работе проведена молекулярно-цитогенетическая характеристика четырех неродственных пациентов с несбалансированными Y-аутосомными транслокациями.

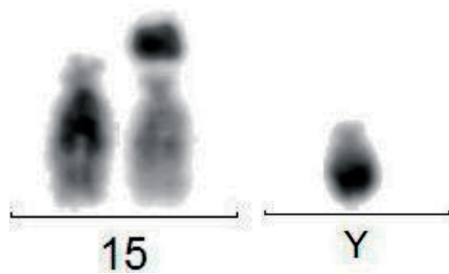


Рис. 1. Инвертированное DAPI-окрашивание хромосомы 15 (слева нормальный гомолог, справа — хромосома 15 с увеличенным коротким плечом) и хромосомы Y.

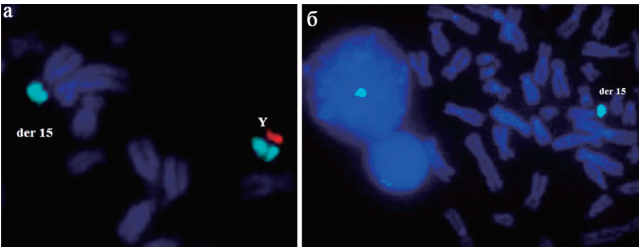


Рис. 2. Фрагменты метафазной пластинки мужского (а) и женского (б) кариотипа. FISH с ДНК-зондами на центромерный район хромосомы Y (красный сигнал) и гетерохроматин Yq (голубой сигнал).

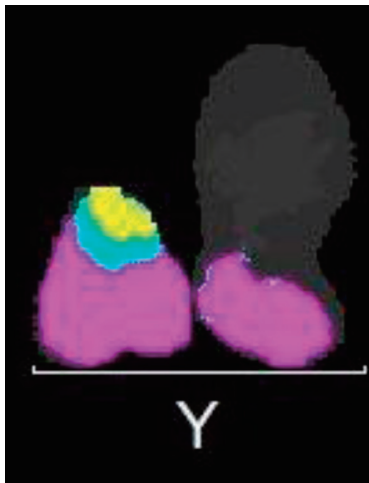


Рис. 3. Результат MCB Y — хромосома Y (слева) и дериватная хромосома 15 (справа).

Материалы и методы

Хромосомные препараты для молекулярно-цитогенетического анализа получали из ФГА-стимулированной культуры лимфоцитов периферической крови по стандартным методикам.

Флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) проводили с использованием ДНК-зондов (Kreatech, Нидерланды) на центромерный гетерохроматин хромосом 15 (SE 15 — D15Z) и Y (SE Y — DYZ3), гетерохроматин длинного плеча хромосомы Y (SE Y classical — DYZ1), гетерохроматиновые районы коротких плеч акроцентрических хромосом (Acro-P-Arms NOR), а также целных хромосомных зондов на хромосомы 14 и Y (Whole Chromosome 14, Whole Chromosome Y) и многоцветного бэндинга (Multi Color Banding — MCB) хромосомы Y (MetaSystems, Германия) согласно протоколам фирм-производителей.

Анализ осуществляли на эпифлуоресцентном микроскопе «AxioImagerM.1» (CarlZeiss, Германия) с соответствующим набором светофильтров и с использованием компьютерной программы обработки цифровых изображений «Isis» (MetaSystems, Германия).

Результаты

Исследуемую группу составили 4 неродственных пациента (данные приведены в таблице).

При молекулярно-цитогенетическом исследовании с ДНК-зондами на гетерохроматиновые районы коротких плеч акроцентрических хромосом у всех четырех пациентов был выявлен добавочный DAPI-позитивный материал на коротком плече одного из гомологов хромосомы 15 (пациенты 1—3) и хромосомы 14 (пациент 4). Интенсивность окрашивания флуоресцентным красителем DAPI и размеры добавочного материала соответствовали гетерохроматиновому району длинного плеча хромосомы Y (рис. 1).

Анализ гибридизации с ДНК-зондами на центромерный район хромосомы Y и гетерохроматин Yq показал наличие на коротком плече дериватной хромосомы гетерохроматина длинного плеча хромосомы Y у всех обследованных пациентов. Кроме того, в кариотипе обоих мужчин присутствовала интактная хромосома Y (рис. 2).

Таблица

Молекулярно-цитогенетическое обследование пациентов с гетероморфизмом акроцентрических хромосом

№	Пол	Возраст	Показания к обследованию	Результат FISH-анализа
1	Мужской	32 года	add(15)(p) при стандартном цитогенетическом исследовании	ish der(15)t(Y;15)(q12;p11.1) (DYZ1+,DYZ3-,D15Z+)
2	Мужской	32 года	Пrenатальное выявление add(15)(p) у плода	ish der(15)t(Y;15)(q12;p11.2) (DYZ1+,DYZ3-,D15Z+)
3	Женский	28 лет	add(15)(p) при стандартном цитогенетическом исследовании	ish der(15)t(Y;15)(q12;p11.2) (DYZ1+,DYZ3-,D15Z+)
4	Женский	1 мес.	Носительство отцом сбалансированной транслокации t(Y;14)	ish der(14)t(Y;14)(q11.2;p12)pat (wcpY+,DYZ1+,DYZ3-,wcp14+,acro-p+)

Дуплицированный район хромосомы Y был идентифицирован при МСВ Y как Yq12 qter. Анализ профилей гибридизации МСВ Y у мужчин с добавочным материалом на хромосоме 15 показал, что транслоцированный фрагмент имеет тот же размер, что и гетерохроматиновый блок хромосомы Y и точка разрыва соответствует Yq12 (рис. 3).

Таким образом, кариотип пациентов в случаях 1—3 может быть описан как $\text{der}(15)t(Y;15)(q12;p11.1)$, т.е. несбалансированная транслокация с делецией части короткого плеча хромосомы 15 и дубликацией Yq12. Женщина имела одну копию Yq12, в то время как мужчины — две копии.

При молекулярно-цитогенетической характеристике дериватной хромосомы 14 (пациент 4) FISH-анализ показал наличие на коротком плече гибридизации с ДНК-зондом Acro-P-Arms NOR (Acro-p+), Whole Chromosome Y (WCP Y+) и SE Y classical (DYZ1+) и отсутствие гибридизации с ДНК-зондом на центромерный район хромосомы Y (DYZ3-). Таким образом, у пробанда в кариотипе присутствует дериватная хромосома 14 — $\text{der}(14)t(Y;14)(q11.2;p12)$ вследствие несбалансированной транслокации материала длинного плеча хромосомы Y на короткое плечо хромосомы 14. Для уточнения происхождения транслокации была проведена FISH с тем же набором ДНК-зондов отцу пробанда. Анализ показал присутствие в его кариотипе аналогичной дериватной хромосомы 14. Кроме того, у него была выявлена дериватная хромосома Y, на которой присутствовали сигналы гибридизации с ДНК-зондом Acro-P-Arms NOR (Acro-p+), Whole Chromosome Y (WCP Y+) и центромеры Y (DYZ3+) и не было сигнала гибридизации с ДНК-зондом на гетерохроматин Y (DYZ1-) (рис. 4). Таким образом, у отца выявлена сбалансированная транслокация между длинным плечом хромосомы Y и коротким плечом хромосомы 14.

Обсуждение

При использовании молекулярно-цитогенетических методов была дана подробная характеристика гетероморфизма гомологов акроцентрических хромосом в четырех случаях обнаружения экстремального варианта увеличения гетерохроматина коротких плеч хромосом 14 и 15. FISH-анализ позволил определить, что во всех случаях увеличение коротких плеч этих акроцентрических хромосом являлось следствием несбалансированной транслокации гетерохроматина длинного плеча хромосомы Y на короткое плечо акроцентриков. В трех случаях в транслокацию была вовлечена хромосома 15 и в одном — хромосома 14. В последнем случае несбалансированная транслокация Y;14 у пробанда сформировалась вследствие мейотической сегрегации отцовской реципрокной транслокации между хромосомами Y и 14.

Явление гетероморфизма гомологичных хромосом хорошо известно цитогенетикам. Принято считать, что

такой гетероморфизм обусловлен размером и локализацией гетерохроматиновых районов, спутничных нитей и спутников и может быть обнаружен при использовании соответствующих методов дифференциальной окраски хромосом (CBG-, QFQ-, DA-DAPI-, Ag-NOR-) [8].

Цитогенетически выявляемые изменения размеров гетерохроматиновых районов гомологов относятся к нормальной вариабельности хромосом и, как правило, не оказывают прямого влияния на фенотип. В некоторых случаях эти районы могут быть не только увеличены за счет амплификации повторяющихся последовательностей ДНК или дублирования отдельных районов, но и перестроены иным образом. Увеличение короткого плеча акроцентриков часто является следствием несбалансированной транслокации гетерохроматина, в том числе длинного плеча хромосомы Y [4, 9].

В ряде исследований подобные Y-аутосомные транслокации были обнаружены у фенотипически нормальных носителей, передавались через поколения и могли накапливаться в популяции [2, 10, 11].

В последнее время была высказана спорная гипотеза о связи между $t(Y;15)$ и некоторыми клиническими синдромами, такими, как синдромы Прадера—Вилли и Энгельмена, вызванных делецией критического региона или однородительской дисомией. Хотя транслокация $t(Y;15)(q12;p11)$ не затрагивает критического района, делеция которого приводит к формированию фенотипа синдрома Прадера—Вилли ($15q11-q13$), сообщалось, что семейное носительство такой транслокации может приводить к возникновению *de novo* микроделений в критическом районе хромосомы 15 [5].

Большинство носителей несбалансированных транслокаций гетерохроматина Yq на короткое плечо акроцентрических хромосом фертильны и имеют здоровое потомство [11, 12]. Однако по крайней мере один из обследованных нами пациентов имел в анамнезе репродуктивные проблемы (четыре случая неразвивающихся беременностей у супруги). Ассоциация транслокаций Y;15 с репродуктивными проблемами по-прежнему про-

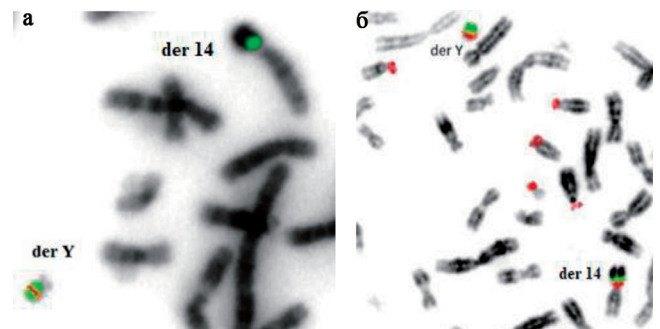


Рис. 4. Результат FISH-анализа отца пробанда 4: а) с ДНК-зондами на центромерный район хромосомы Y (красный сигнал) и хромосоме Y (зеленый сигнал); б) с ДНК-зондами на хромосому Y (зеленый сигнал) и короткие плечи акроцентрических хромосом (красный сигнал).

тиворечива. Тем не менее, сообщалось о женщине-носителе $\text{der}(15)\text{t}(\text{Y};15)(\text{q}12;\text{p}13)$, у которой были два самопроизвольных аборта с трисомией 15 у плода и один с тетраплоидией. Авторы предположили, что существует повышенный риск мейотического нерасхождения хромосом и формирования дисомных гамет у некоторых носителей несбалансированной транслокации $\text{Y};15$ [6].

О репродуктивных проблемах у двух носителей несбалансированной транслокации $\text{der}(15)\text{t}(\text{Y};15)$ сообщается в другой работе [7]. При проведении ПГД в цикле ЭКО отмечалась высокая частота мозаичных кариотипов эмбрионов с дополнительными хромосомами X и $\text{der}(15)$. Авторы предполагают, что большая доля несбалансированных и мозаичных эмбрионов у носителей транслокации $\text{der}(15)\text{t}(\text{Y};15)$ может объяснять репродуктивные проблемы и применение ПГД может быть рекомендовано в подобных случаях.

Несбалансированные транслокации $\text{Y};14$ встречаются значительно реже, чем транслокации $\text{Y};15$ [1]. Несбалансированную транслокацию $\text{Y};14$ у пациента 4 (таблица) можно рассматривать как прототип формирования семейного носительства данного типа Y-аутосомных транслокаций, когда дериватная хромосома 14 с добавочным материалом $\text{Yq}12$ была унаследована дочерью от фенотипически нормального, фертильного отца со сбалансированным вариантом транслокации.

Молекулярно-цитогенетические методы играют важную роль в пренатальной и постнатальной цитогенетической диагностике CNVs, независимо от размера геномного дисбаланса. Их применение позволяет наиболее полно охарактеризовать гетероморфные варианты гетерохроматиновых, непатогенных CNVs и отличить их от клинически значимых CNVs [1]. Информация об экстремальных вариантах гетерохроматиновых районов хромосом позволяет обеспечить адекватное медико-генетическое консультирование семьи, а в случае проведения пренатальной диагностики — существенное со-

кращение времени анализа и прогнозирование фенотипа плода.

Список литературы

1. Liehr T. Benign & Pathological Chromosomal Imbalances. 1. Oxford: Academic; 2014.
2. Nielsen J, Rasmussen K. Y/autosomal translocations. Clin Genet. 1976; 9:609-17.
3. Metzler-Guillemain C, Mignon C, Depetris D, et al. Bivalent 15 regularly associates with the sex vesicle in normal male meiosis. Chromosome Res. 1999; 7:369-78.
4. Chromosome abnormalities and genetic counseling. Oxford monographs of medical genetics n. 6, Gardner RJM, Sutherland GR, Shaffer LG (eds); Int. Oxford press 2012.
5. Eliez S, Morris MA, Dahoun-Hadorn S, DeLozier-Blanchet CD, et al. Familial translocation $\text{t}(\text{Y};15)(\text{q}12;\text{p}11)$ and de novo deletion of the Prader-Willi syndrome (PWS) critical region on $15\text{q}11\text{-q}13$. Am J Med Genet. 1997;70:222-228.
6. Rajcan-Separovic E, Robinson WP, Stephenson M. Recurrent trisomy 15 in a female carrier of $\text{der}(15)\text{t}(\text{Y};15)(\text{q}12;\text{p}13)$ Am J Med Genet. 2001;99:320-324.
7. Chen Y, Chen G, Lian Y, et al. A normal birth following preimplantation genetic diagnosis by FISH determination in the carriers of $\text{der}(15)\text{t}(\text{Y};15)(\text{Yq}12;\text{15p}11)$ translocations: two case reports. Journal of Assisted Reproduction and Genetics. 2007;24(10):483-488.
8. ISCN. In: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. 1. Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M, editors. Basel: S. Karger; 2016
9. Liehr T. Cytogenetically visible copy number variations (CG-CNVs) in banding and molecular cytogenetics of human; about heteromorphisms and euchromatic variants. Molecular Cytogenetics. 2016;9:5.
10. Alitalo T, Tiihonen J, Hakola P, Chapelle A. Molecular characterization of a $\text{Y};15$ translocation segregating in a family. Hum Genet. 1988;79:29-35.
11. Chen-Shtoyerman R, Josefsberg Ben-Yehoshua S, Nissani R, et al. A prevalent $\text{Y};15$ translocation in the Ethiopian Beta Israel community in Israel. Cytogenet Genome Res. 2012;136:171-4.
12. Hsu LY. Phenotype/karyotype correlations of Y chromosome aneuploidy with emphasis on structural aberrations in postnatally diagnosed cases. Am J Med Genet. 1994; 53:108-40.