

НОСИТЕЛЬСТВО Y/15 И Y/22 ДЕРИВАТНЫХ ХРОМОСОМ В ПАРАХ С НАРУШЕНИЯМИ РЕПРОДУКЦИИ: АЛГОРИТМ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ И СПЕЦИФИКА НАСЛЕДОВАНИЯ

© 2020 г. И. Л. Пуппо^{1, 2, 3, *}, А. Ф. Сайфитдинова^{1, 4}, Ю. А. Логинова^{1, 5}, А. А. Кинунен^{1, 6},
З. Н. Тонян^{2, 7}, Ю. Р. Пастухова¹, О. А. Леонтьева¹, Р. А. Кузнецова¹, О. Г. Чиряева^{3, 7},
А. А. Пендина^{6, 7}, О. А. Ефимова⁷, А. В. Тихонов^{6, 7}, А. В. Петровская-Каминская⁷, В. С. Дудкина⁷,
Л. И. Петрова⁷, И. В. Полякова⁸, С. Г. Щербак^{7, 8}, О. С. Глозов^{7, 8}, Н. К. Бичева¹

¹Международный центр репродуктивной медицины, Санкт-Петербург, 197350 Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, 197341 Россия

³Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, 194044 Россия

⁴Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, 191186 Россия

⁵DiaCarta, Inc., 2600 Hilltop Drive, Richmond, CA 94806, USA

⁶Диагностический центр (медико-генетический), Санкт-Петербург, 194044 Россия

⁷Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии
им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, 199034 Россия

⁸Городская больница № 40, Санкт-Петербург, 197706 Россия

*e-mail: il_trofimova@list.ru

Поступила в редакцию 26.04.2019 г.

После доработки 17.05.2019 г.

Принята к публикации 09.07.2019 г.

Представлены результаты преимплантационного генетического тестирования и исходы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) в четырех семьях, где один из супругов является носителем Y/15 или Y/22 дериватной аутосомы: три случая носительства супругом и один – супругой. Показано, что при носительстве дериватной аутосомы супругом происходит ее преимущественное наследование эмбрионами, при этом отклонений в наборе половых хромосом не выявлено. При носительстве дериватной аутосомы супругой, напротив, преимущественного наследования не установлено; ее влияние на расхождение половых хромосом также не выявлено. Во всех случаях у эмбрионов отмечена высокая частота анеуплоидий по хромосомам, не участвующим в образовании дериватной аутосомы. Для исключения наследования дериватной аутосомы потомками можно рекомендовать проведение преимплантационного генетического тестирования, сочетающего флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH), позволяющую выявить сателлитную ДНК Y-хромосомы, и секвенирование нового поколения (NGS) или сравнительную геномную гибридизацию (aCGH) для установления других геномных и хромосомных аномалий.

Ключевые слова: Y/аутосомные транслокации, преимплантационное генетическое тестирование, флуоресцентная *in situ* гибридизация, сателлитная ДНК, секвенирование нового поколения.

DOI: 10.31857/S0016675820040116

Транслокации между Y-хромосомой и ауто-сомами встречаются в популяции с частотой примерно 1 на 2000 [1, 2]. Подавляющее число Y/аутосомных транслокаций происходит с вовлечением сателлитной ДНК конститутивного гетерохроматина Y-хромосомы, который преимущественно транслоцируется на короткие плечи акроцентрических хромосом [2, 3]. В результате этого образуется дериватная акроцентрическая аутосома с увеличенным р-плечом, представленным гетерохроматином Y-хромосо-

мы [4]. Точки разрыва на акроцентрических аутосомах находятся в сегментах p11–p13, на Y-хромосоме – преимущественно в Yq12, но могут локализоваться также в сегменте Yq11.23 [2–4]. Наиболее часто в Y/аутосомные транслокации вовлечены хромосомы 15 и 22, на долю которых приходится 52 и 33% случаев соответственно [2]. Это обусловлено их близким расположением в пахитене из-за высокой гомологии сателлитной ДНК в районах, вовлеченных в транслокацию [2, 5].

Носители дериватных аутосом, образованных в результате Y/acroцентрических транслокаций, фенотипически нормальны. Однако в семьях, где один из супругов является носителем таких дериватных хромосом, могут встречаться нарушение сперматогенеза, невынашивание беременности, повышенная частота образования несбалансированных гамет [6–10], что может быть обусловлено нарушением формирования полового бивалента и последующей сегрегации хромосом [11]. Кроме того, в единичных работах выявлено, что Y/acroцентрические транслокации могут встречаться в кариотипе у пациентов с различными видами опухолей [12–14].

Учитывая гомологию последовательностей сателлитной ДНК хромосом 15 и 22 и сегмента Yq12, а также присутствие псевдоаутосомного района 2 (pseudoautosomal region 2, **PAR 2**) в сегменте Yq12, интересным представляется оценка наследования дериватной аутосомы и ее возможного влияния на сегрегацию гоносом в зависимости от хромосомы, участвующей в транслокации, и от пола носителя. Применение вспомогательных репродуктивных технологий, в том числе экстракорпорального оплодотворения (**ЭКО**), рекомендованное носителям дериватных хромосом при медико-генетическом консультировании, позволяет получить материал на доимплантационной стадии эмбрионального развития и проанализировать результат сегрегации хромосом. В рамках преимплантационного генетического тестирования нами был проведен анализ сегрегации Y/15 и Y/22 дериватных аутосом и их возможного влияния на расхождение половых хромосом при мужском и женском носительстве.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Кариотипирование

Кариотипирование ФГА-стимулированных лимфоцитов периферической крови супружеских пар проводили по стандартной методике с использованием QFH/AcD окрашивания [15]. Установление структуры дериватных аутосом проводили с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (**FISH**) по протоколу, рекомендованному фирмой-производителем использованных зондов. Были использованы наборы ДНК-зондов, специфичных к следующим районам: сателлиту III гетерохроматина Y-хромосомы; альфа-сателлитной ДНК центромерных районов хромосом 15 и Y; сателлиту III короткого плеча хромосомы 15; теломерному району длинного плеча хромосомы 15; локусу 22q11.2 и локусу SRY хромосомы Y (Abbott Molecular, США; Kreatech, Нидерланды). Результаты кариотипирования и проведенного молекулярно-цитогенетического анализа приведены в табл. 1.

Характеристика проведенных циклов

Исследование выполнялось на базе Международного центра репродуктивной медицины (семьи 1–3) и НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта (семья 4). Семейный анамнез исследованных пар, год проведения цикла, использованные методы оплодотворения, число проанализированных и перенесенных эмбрионов, а также исходы циклов показаны в табл. 1. Средний возраст мужчин составил 34.7 ± 2.97 года; женщин — 36.3 ± 3.74 лет.

Получение ооцитов, оплодотворение и культивирование in vitro было выполнено согласно стандартным эмбриологическим протоколам [16].

Биопсия, фиксация бластомеров и FISH анализ

Биопсию проводили утром на третий день развития (через 67 ч после инсеминации) на эмбрионах, состоящих не менее чем из шести бластомеров, согласно методике, описанной ранее [16]. Клетки были зафиксированы на предметных стеклах с адгезивным покрытием SuperFrost (Menzel GmbH, Германия) при фазовом контрасте под инвертированным стереомикроскопом по методу Тарковского [17], модифицированному для единичных бластомеров [18]. Денатурацию хроматина ядер бластомеров и зонда, гибридизацию и постгибридизационные отмычки проводили по протоколам, описанным в руководстве по клинической эмбриологии [16]. Анализ сигналов в интерфазных ядрах бластомеров проводили с учетом их размеров, формы и взаимного расположения, как рекомендовано в соответствующих руководствах [16, 19].

Микроскопия

Анализ дифференциально окрашенных препаратов метафазных хромосом проводили на микроскопе Zeiss Axio Imager.A2 (Carl Zeiss, Германия), оборудованном объективами EC Plan-NEOFLUAR 10×/0.3, 20×/0.5, 100×/1.3, Plan-APOCHROMAT 63×/1.4 (для получения фотоизображения использовали универсальную камеру MetaSystems CoolCube1 и программное обеспечение Ikaros v. 5.8 (MetaSystems, Германия)), и на микроскопе ЛЮМАМ РПО 11 (ЛОМО, Россия), оборудованном объективами CX 20×/0.45 и М-флюар 100×/1.30, тубусной оптикой с линзами от 1.1× до 1.6× (для получения фотоизображения использовали черно-белую CCD камеру накопления сигнала и программное обеспечение Иста-Видео Тест “Видео Тест-Карио 2” (Россия)).

Флуоресцентные сигналы после проведения FISH детектировали с помощью микроскопа Axio Imager.A1 (Carl Zeiss), укомплектованного блоками узкополосных светофильтров для флуорохромов разных длин волн и цифровой камерой Axio-

Таблица 1. Характеристика обследованных семей

№ семьи	Кариотип носителя дериватной аутосомы	Семейный анамнез	Год цикла ЭКО	Метод оплодотворения	Возраст (♀/♂), лет	Число пранализированных эмбрионов	Число перенесенных эмбрионов	КБ*	Роды
1	46,XY,der(15)t(Y;15)(q12;p11.2).ish der(15)t(Y;15)(q12;p11.2) (DYZ1+,D15Z1+,D15Z4+,D15S936++)	Привычное невынашивание беременности, вторичное бесплодие. Теразоооспермия, концентрация и подвижность сперматозоидов в пределах нормальных значений	2012	ЭКО	32/31	9	2	0	—
2	46,XY,der(15)t(Y;15)(q12;p12).ish der(15)t(Y;15)(q12;p11.2) (DYZ1+,D15Z4+,D15S936++)	Первичное бесплодие, связанное с мужским фактором. Олигоастенотеразоооспермия. Микроделеции AZF локуса Y-хромосомы отсутствуют	2015	ИКСИ	31/34	8	0	—	—
			2016	ИКСИ	32/35	6	0	—	—
			2017	ИКСИ	33/36	12	2	1	1
3	46,XY,der(22)t(Y;22)(q11.23;p11.2).ish der(22)t(Y;22)(q11.23;p11.2) (SRY-,DYZ1+,DYZ3-,BCR+)	Первичное бесплодие, показатели многократных спермограмм в норме	2017	ИКСИ	39/39	7	2	0	—
			2018	ИКСИ	40/40	5	1	0	—
4	46,XX,der(15)t(Y;15)(q12;p11.2).ish der(15)t(Y;15)(q12;p11.2) (DYZ1+,D15Z4+,D15S936++)	Привычное невынашивание: 4 неразвивающиеся беременности	2010	ЭКО	36/30	10	1	0	—
			2013	ЭКО	39/33	8	1	0	—
			2014	ЭКО	40/34	9	1	1	—
			2015	ЭКО	41/35	11	1	0	—

* КБ — клиническая беременность.

Cam MRc с CCD матрицей для накопления сигнала (Carl Zeiss), а также микроскопа LEICA DM5000B, оборудованного объективами FLUOTAR 10×/0.3, 20×/0.50, 40×/0.75 63×/1.40–0.60 и 100×/1.40–0.70, автоматической фотонасадкой, камерой высокого разрешения Leica DFC345 FX и блоком светофильтров. Получение и анализ цифровых изображений проводили с помощью специализированного программного обеспечения Axio Vision Rel 4.8 (Carl Zeiss) и Leica Application SuiteV.4.1.0 (Leica Microsystems, Германия).

Биопсия клеток трофэктодермы и NGS

Биопсию клеток трофобласта проводили на стадии бластоцисты на пятый и/или шестой день развития с помощью лазера (метод laser cutting) или путем отрезания затянутого в пипетку фрагмента трофобласта резким движением об край присоски (метод flipping) [16]. Все эмбрионы витрифицировали сразу после биопсии.

Биоптат отмывали от культуральной среды в буфере (1× PBS, 1% PVP) и помещали в эппендорфы с 2 мкл этого же буфера. Полногеномную амплификацию проводили с помощью набора SmartTcr PicoPLEX WGA kit (Takara Bio, США), согласно инструкции производителя. Количественную оценку продуктов измеряли на Qubit 4 Fluorometer (Invitrogen, Life technologies, США) с помощью набора Qubit ds DNA BR Assay Kit (Invitrogen, Life technologies), согласно рекомендациям производителя. Электрофоретическое разделение продуктов полногеномной амплификации проводили в 1.5%-ном агарозном геле. Приготовление библиотек проводили набором VeriSeq PGS kit (Illumina, США) с последующей оценкой качества на приборе TapeStation 4200 (Agilent, США) и с последующим высокопроизводительным секвенированием (Next Generation Sequencing, NGS) на аппарате Illumina MiSeq (Illumina). Анализ на численные хромосомные аномалии выполняли с использованием программного обеспечения BlueFuse Multi v4.3 (Illumina). Эффективное разрешение метода составляло 20 млн пн.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате стандартного кариотипирования супружеских пар, проходивших обследование для выявления причин бесплодия, в трех семьях выявлено носительство Y/15 дериватной аутосомы и в одной – Y/22 дериватной аутосомы (рис. 1). Цитогенетический диагноз был подтвержден методом FISH. В этих семьях проанализировано исследование эмбрионами, полученными в рамках программы вспомогательных репродуктивных технологий, Y/15 и Y/22 дериватных аутосом, а также их возможное влияние на сегрегацию половых хромосом в зависимости от пола носителя.

Характеристика каждого случая представлена в табл. 1.

Анализ наследования дериватной аутосомы, сегрегации гоносом, а также частоты анеуплоидий по хромосомам, не вовлеченным в перестройку, проводили при помощи оценки комбинации флуоресцентных сигналов в ядрах бластомеров (табл. 2). В двух семьях (№ 2 и 3), где носителем являлся мужчина, дериватная аутосома Y/15 или Y/22 была выявлена у большинства проанализированных эмбрионов: у 24 из 38, а в одной (№ 1) – лишь у половины. В семье, где носителем являлась женщина (№ 4), дериватная аутосома Y/15 была выявлена у половины эмбрионов (19 из 38) (табл. 2).

Набор половых хромосом у 75 из 76 эмбрионов, проанализированных в четырех семьях, соответствовал нормальному – XX или XY, и лишь у одного эмбриона (в семье № 2) был выявлен аномальный набор гоносом XXY (табл. 2).

В семьях № 1 и 3, где носителем дериватной аутосомы был мужчина, число эмбрионов анеуплоидных и эуплоидных по остальным проанализированным хромосомам было одинаковым. Однако в семье № 2 преобладали эуплоидные эмбрионы (14 из 23). В семье № 4, напротив, большинство эмбрионов (25 из 38) были анеуплоидными (табл. 2).

Для трех эмбрионов семьи № 3 с установленными методом FISH на третий день развития анеуплоидиями была проведена их верификация методом NGS на стадии бластоцисты в клетках трофэктодермы (табл. 3). У двух из трех проанализированных методом FISH эмбрионов (№ 4 и 5) была обнаружена дериватная аутосома. Метод NGS не выявил сателлитной ДНК гетерохроматинового района длинного плеча хромосомы Y, но подтвердил анеуплоидии (табл. 3, рис. 2).

По результатам проведенной диагностики во всех семьях были выявлены эмбрионы, пригодные для переноса. Однако беременность была зарегистрирована только в семье № 2 после переноса двух эмбрионов. Беременность завершилась рождением в срок клинически здоровых близнецов мужского пола. От пренатального и постнатального кариотипирования супруги отказались.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе проанализированы результаты преимплантационного генетического тестирования и исходы ЭКО в четырех семьях, где один из супругов является носителем Y/15 или Y/22 дериватной аутосомы, содержащей дополнительную сателлитную ДНК хромосомы Y. При носительстве Y/15 дериватной аутосомы супругой распределение нормальной и дериватной хромосом у эмбрионов составило 1 : 1, что указывает на независимую сегрегацию гомологов в оогенезе. При этом наличие дериватной хромосомы 15 не

влияло на расхождение гоносом. По-видимому, это связано с тем, что участок гомологии между Xq и фрагментом Y-хромосомы на аутосоме 15 не-протяженный и ограничен районом PAR2 субтеломерной области длинного плеча Y-хромосомы. Известно, что PAR2 содержит только четыре гена и практически не участвует в рекомбинации при формировании XY-бивалента в мужском мейозе [4]. По этой причине, вероятно, дополнительный материал Yq12, присутствующий в результате перестройки на аутосоме, не влияет на конъюгацию и расхождение хромосом X в оогенезе.

Известно, что в сперматогенезе — в пахитене первого мейотического деления сперматоцитов I порядка — бивалент хромосомы 15 располагается в непосредственной близости от полового бивалента [5]. Помимо этого, дериватные хромосомы, образованные в результате Y-аутосомных транслокаций, могут приводить к нарушению формирования полового бивалента в сперматогенезе, конденсации хроматина аутосомы, ассоциированной с половым бивалентом, что в конечном итоге нарушает сегрегацию хромосом, вплоть до пахитенного ареста и отсутствия или сниженного количества зрелых сперматозоидов в эякуляте [4, 20]. Действительно, в нашем исследовании двое мужчин-носителей Y/15 дериватной аутосомы имели нарушение сперматогенеза (табл. 1), что может указывать на пахитенный арест части клеток вследствие ассоциации дополнительного материала сегмента Yq12 на дериватных хромосомах с половым бивалентом.

В исследовании Chen с коллегами [9] показано нарушение сегрегации гоносом при носительстве Y/15 дериватной аутосомы вне зависимости от пола носителя. Тем не менее, по нашим данным, как при мужском, так и при женском носительстве Y/15 или Y/22 дериватной аутосомы нарушения сегрегации гоносом не происходит, однако, в случае мужского носительства, большинство проанализированных эмбрионов наследуют дериватную хромосому. Преимущественный тип сегрегации хромосом и параметры, от которых он зависит, хорошо охарактеризованы при аутосомных реципрокных транслокациях [4]. Известно, что у мужчин-носителей совместный-1 тип расхождения, при котором две негомологичные хромосомы — дериватная и нормальная расходятся в каждую из дочерних клеток, встречается значительно чаще, чем у женщин-носительниц [21, 22]. В связи с этим, обнаруженное нами преимущественное наследование эмбрионами дериватной хромосомы при мужском носительстве требует дальнейшего исследования, в том числе анализа хромосомного набора и оплодотворяющей способности сперматозоидов мужчины-носителя.

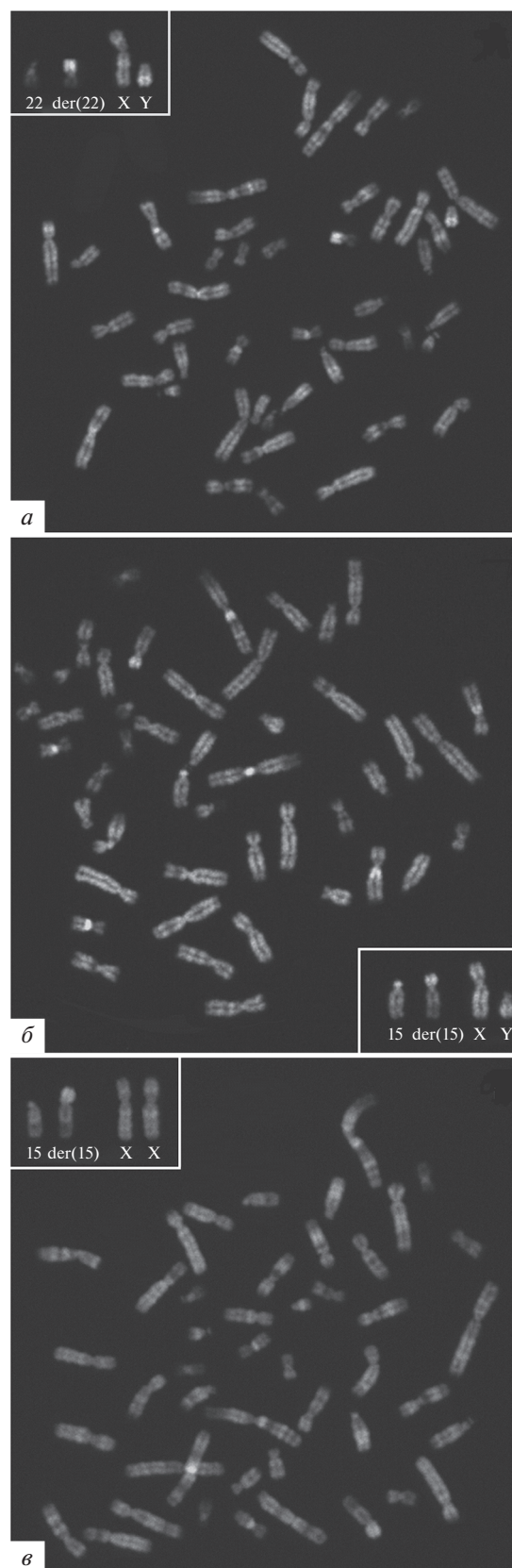


Рис. 1. Метафазные хромосомы из ФГА-стимулированных лимфоцитов при мужском (а, б) и женском (в) носительстве дериватной Y/22 (а) и Y/15 (б, в) аутосомы. QFН/AcD окрашивание.

Таблица 2. Варианты сегрегации хромосом у носителей Y/15 и Y/22 дериватных аутосом в кариотипе

№ семьи	Кариотип носителя	Вариант сочетания дериватных аутосом, их гомологов и половых хромосом у доимплантационных эмбрионов	Число эмбрионов с определенным вариантом	Число эмбрионов с анеуплоидиями по другим аутосомам	Число эмбрионов без анеуплоидий по другим аутосомам
1	46,XY,der(15)t(Y;15)(q12;p11.2)	XY, 15, der(15)	3	2	1
		XY, 15, 15	3	1	2
2	46,XY,der(15)t(Y;15)(q12;p12)	XX, 15, der(15)	9	2	7
		XY, 15, der(15)	5	2	3
		XX, 15	1	0	1
		XY, 15	2	1	1
		XXY, der(15)	1	1	0
		XX, 15, 15	2	2	0
		XY, 15, 15	3	1	2
3	46,XY,der(22)t(Y;22)(q11.23;p11.2)	XY, 22, 22, der(22)	2	1	1
		XY, 22, der(22)	3	1	2
		XY, der(22)	1	0	1
		XX, 22, 22	1	0	1
		XY, 22, 22	1	1	0
		XY, 22	1	1	0
4	46,XX,der(15)t(Y;15)(q12;p11.2)	XX, 15, der(15)	8	7	1
		XY, 15, der(15)	8	3	5
		XX, 15, 15, der(15)	1	0	1
		XY, 15, 15, der(15)	1	1	0
		XX, der(15)	1	1	0
		XX, 15	3	3	0
		XY, 15	3	3	0
		XY, 15, 15, 15	1	1	0
		XX, 15, 15	3	2	1
		XY, 15, 15	9	4	5

Интересной находкой в нашем исследовании является выявленная у эмбрионов высокая частота анеуплоидий по хромосомам, не участвующим в образовании дериватной аутосомы. При этом, при женском носительстве дериватной хромосомы, число эмбрионов с анеуплоидиями преобладало: 25 анеуплоидных эмбрионов против 13 эмбрионов без анеуплоидий. Связана ли высокая ча-

стота анеуплоидий с возрастными особенностями протекания женского гаметогенеза или с межхромосомным эффектом дериватной аутосомы — остается невыясненным. Однако не вызывает сомнения, что эти данные необходимо учитывать при медико-генетическом консультировании пар, где один из супругов является носителем Y/15 или Y/22 дериватной аутосомы.

Таблица 3. Результат генетического тестирования после проведения FISH на бластомерах эмбрионов третьего дня развития и NGS на клетках трофобластической оболочки эмбрионов пятого дня развития

№ эмбриона	Результат FISH диагностики на бластомерах, третий день развития	Результат диагностики методом NGS на клетках трофобластической оболочки, пятый день развития	Оценка качества эмбрионов на пятый день развития*
1	XY, одна копия аутосомы 21, аутосома 22 представлена двумя копиями (22+22); аутосомы 13, 16, 18 представлены двумя копиями	seq[GRCh37]21×1,XY	4 comp, эмбрион состоит из четырех компактных бластомеров, имплантационный потенциал низкий
4	XY, аутосома 22 представлена тремя копиями: der(22)+22+22; аутосомы 13, 16, 18, 21 представлены двумя копиями	seq[GRCh37]22×3,XY	esav+fr, эмбрион на стадии ранней кавитации с фрагментацией, имплантационный потенциал средний
5	XY, аутосома 22 представлена тремя копиями: der(22)+22+22; три копии аутосом 13 и 21; аутосомы 16 и 18 представлены двумя копиями	seq[GRCh37](13,21,22)×3,XY	hBL5AA, эмбрион на стадии вылупляющейся бластоцисты, высокий имплантационный потенциал

* Оценка имплантационного потенциала эмбрионов по морфологическим характеристикам на пятый день развития проводилась согласно рекомендациям, описанным в руководстве по клинической эмбриологии [13].

Проведение преимплантационного генетического тестирования для выявления у эмбрионов Y/15 или Y/22 дериватной аутосомы возможно только методом FISH, позволяющим, в отличие от aCGH и NGS, выявлять дополнительную сателлитную ДНК гетерохроматина Y-хромосомы. Однако учитывая, что FISH выявляет анеуплоидии только по ограниченному числу хромосом, целесообразным представляется после детекции Y/15 или Y/22 дериватной хромосомы у эмбрионов проведение второго этапа диагностики методом aCGH или NGS по клеткам трофобластической оболочки на пятый день развития. Применение такого подхода позволит обнаружить числовые изменения всех хромосом кариотипа и избежать ошибочной интерпретации результатов из-за высокого уровня мозаицизма, характерного для эмбрионов третьего дня развития [23, 24]. В нашем исследовании генетическое тестирование методом NGS было проведено по клеткам трофобластической оболочки только для трех эмбрионов, анеуплоидных по результатам диагностики методом FISH. Анеуплоидии, обнаруженные на третий день развития методом FISH, были подтверждены в клетках трофобластической оболочки методом NGS. Анеуплоидии по другим

аутосомам, не включенным в анализ методом FISH, обнаружено не было (табл. 3).

Таким образом, мы не выявили нарушений сегрегации гоносом как у мужчин, так и у женщин-носителей дериватных аутосом, образованных в результате Y/acrocentric транслокаций, независимо от аутосомы, участвующей в транслокации. Однако в случае носительства Y/15 или Y/22 дериватной аутосомы мужчиной у эмбрионов наблюдается ее преимущественное наследование. Обнаруженный нами высокий уровень анеуплоидий по хромосомам, не вовлеченным в транслокацию, свидетельствует о целесообразности последовательного анализа бластомеров эмбрионов на третий день развития методом FISH с целью выявления дериватных аутосом, а затем клеток трофобластической оболочки на пятый день развития методом aCGH или NGS для установления числовых изменений всех хромосом кариотипа.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 18-34-00279) (преимплантационное генетическое тестирование в семьях, где носителем дериватной аутосомы является супруг) и Министерства науки и высшего образования Российской Федера-

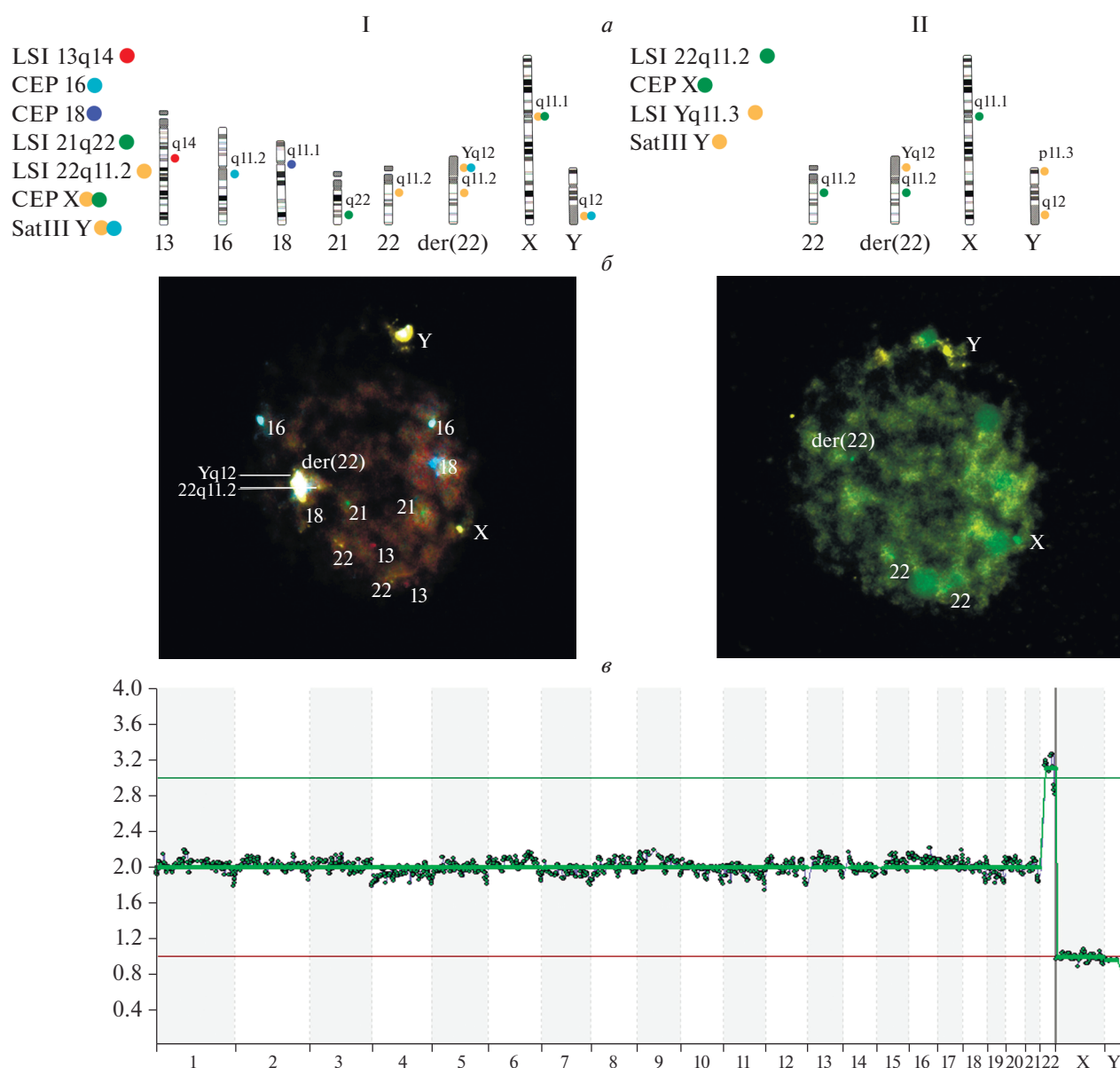


Рис. 2. Схема гибридизационных смесей (а), результаты гибридизации *in situ* (б) и высокопроизводительного секвенирования (в) на бластомере и клетках трофобласта соответственно, одного эмбриона из семьи № 3.

ции в рамках темы фундаментальных научных исследований 2019–2021 гг. (AAAA-A19-119021290033-1) (кариотипирование всех супружеских пар, а также преимплантационное генетическое тестирование в семье, где носителем дериватной аутосомы является супруга).

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национально-го комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Alitalo T., Tiitonen J., Hakola P. et al. Molecular characterization of Y;15 translocation segregating in a family // Hum. Genet. 1988. V. 79. № 1. P. 29–35. <https://doi.org/10.1007/bf00291705>
2. Liehr T. Benign and Pathological Chromosomal Imbalances. Microscopic and Submicroscopic Copy Num-

- ber Variations (CNVs) in Genetics and Counseling. Elsevier, 2014. 220 p.
3. *Chen P.Y., Yen J.H., Cheng C.F. et al.* Prenatal diagnosis of the maternal derivative chromosome der(15)t(q12;p13) in dizygotic twin pregnancy // *Tzu. Chi. Medical J.* 2016. V. 28. № 4. P. 176–179.
<https://doi.org/10.1016/j.tcmj.2016.06.002>
 4. *Gardner R.J.M., Amor D.J.* Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling. Oxford: Oxford Univ. Press, 2018. 728 p.
 5. *Metzler-Guillemain C., Mignon C., Depetris D. et al.* Bivalent 15 regularly associates with the sex vesicle in normal male meiosis // *Chromosome Res.* 1999. V. 7. P. 369–378.
 6. *Vianello M.G., Monteverde R., Bonioli E.* Cheilognathourano-staphyloschisis associated with t(Y;13) // *Minerva Pediat.* 1974. V. 26. № 10. P. 525–530.
 7. *Rajcan-Separovic E., Robinson W.P., Stephenson M.* Recurrent trisomy 15 in a female carrier of der(15)t(Y;15)(q12;p13) // *Am. J. Med. Genet.* 2001. V. 99. № 4. P. 320–324.
 8. *Buonadonna A.L., Cariola F., Caroppo E. et al.* Molecular and cytogenetic characterization of an azoospermic male with a de-novo Y;14 translocation and alternate centromere inactivation // *Hum. Reprod.* 2002. V. 17. № 3. P. 564–569.
<https://doi.org/10.1093/humrep/17.3.564>
 9. *Chen Y., Chen G., Li Y. et al.* A normal birth following preimplantation genetic diagnosis by FISH determination in the carriers of der(15)t(Y;15)(Yq12;15p11) translocations: two case reports // *J. Assist. Reprod. Genet.* 2007. V. 24. № 10. P. 483–488.
<https://doi.org/10.1007/s10815-007-9163-4>
 10. *Маркова Ж.Г., Миньженкова М.В., Мусатова Е.В. и др.* Несбалансированные Y-аутосомные транслокации без фенотипических проявлений // *Мед. генетика.* 2018. Т. 11. С. 7–10.
<https://doi.org/10.25557/2073-7998>
 11. *Delobel B., Djelati R., Gabriel-Robez O. et al.* Y-autosome translocation and infertility: usefulness of molecular, cytogenetic and meiotic studies // *Hum. Genet.* 1998. V. 102. № 1. P. 98–102.
<https://doi.org/10.1007/s004390050660>
 12. *Mozziconacci M.-J., Sobol H., Costello R. et al.* Askin tumor and acute myeloid leukemia in a patient with constitutional partial Y disomy // *Cancer Genet. Cytogenet.* 1998. V. 103. № 1. P. 11–14.
[https://doi.org/10.1016/s0165-4608\(97\)00354-3](https://doi.org/10.1016/s0165-4608(97)00354-3)
 13. *Hoshi N., Fujita M., Mikuni M. et al.* Seminoma in a postmenopausal woman with a Y;15 translocation in peripheral blood lymphocytes and a t(Y;15)/45,X Turner mosaic pattern in skin fibroblasts // *J. Med. Genet.* 1998. V. 35. № 10. P. 852–856.
<https://doi.org/10.1136/jmg.35.10.852>
 14. *Buijs A., Terhal P.A., Thunnissen P.L.* Philadelphia chromosome of a constitutional der(22)t(Y;22)(q11.2;p11) with a variant t(1;9;22)(p36;q34;q11) in a case of chronic myelogenous leukemia // *Cancer Genet. Cytogenet.* 2006. V. 168. № 1. P. 80–82.
<https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2005.11.009>
 15. *Кузнецова Т.В., Логинова Ю.А., Чиряева О.Г. и др.* Цитогенетические методы // *Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике*, в 2 т. / Под ред. Карпищенко А.И. СПб.: Интермедика, 1999. С. 623–657.
 16. *Корсак В.С.* Руководство по клинической эмбриологии. М.: Изд-во мед. книг, 2019. 216 с.
 17. *Tarkowski A.K.* An air drying method for chromosome preparations from mouse eggs // *Cytogenetics.* 1966. V. 5. P. 394–400.
<https://doi.org/10.1159/000129914>
 18. *Munne S., Dailey T., Finkelstein M. et al.* Reduction in signal overlap results in increased FISH efficiency: implications for preimplantation genetic diagnosis // *J. Assist. Reprod. Genet.* 1996. V. 13. № 2. P. 149–156.
<https://doi.org/10.1007/bf02072537>
 19. *Ogilvie C.M., Scriven P.N.* Preimplantation genetic diagnosis for chromosome rearrangements // *Preimplantation Genetic Diagnosis* / Ed. Harper J. Cambridge, 2009. P. 193–202.
<https://doi.org/10.1017/CBO9780511581571.013>
 20. *Alves C., Carvalho F., Cremades N. et al.* Unique (Y;13) translocation in a male with oligozoospermia: cytogenetic and molecular studies // *Eur. J. Hum. Genet.* 2002. V. 10. № 8. P. 467–474.
<https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200835>
 21. *Ferguson-Smith M.A., Yates J.R.W.* Maternal age specific rates for chromosome aberrations and factors influencing them: report of a collaborative European study an 52965 amniocenteses // *Prenatal Diagnosis.* 1984. V. 4. P. 5–44.
<https://doi.org/10.1002/pd.1970040704>
 22. *Ye Y., Quian Y., Xu C., Jin F.* Meiotic segregation analysis of embryos from reciprocal translocation carriers in PGD cycles // *Reprod. Biomed. Online.* 2012. V. 24. P. 83–90.
<https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2011.08.012>
 23. *Vanneste E., Voet T., Le Caignec C. et al.* Chromosome instability is common in human cleavage-stage embryos // *Nat. Med.* 2009. V. 15. № 5. P. 577–583.
<https://doi.org/10.1038/nm.1924>
 24. *Echten-Arends J.I., Mastenbroek S., Sikkema-Raddatz B. et al.* Chromosomal mosaicism in human preimplantation embryos: a systematic review // *Hum. Reprod. Update.* 2011. V. 17. № 5. P. 620–627.
<https://doi.org/10.1093/humupd/dmr014>

Y/15 and Y/22 Derivative Chromosomes in Couples with Reproductive Failures: Algorithm of Preimplantation Genetic Testing and Specificity of Inheritance

I. L. Puppo^{a, b, c, *}, A. F. Saifitdinova^{a, d}, Y. A. Loginova^{a, e}, A. A. Kinunen^{a, f}, Z. N. Tonyan^{b, g}, Yu. R. Pastukhova^a, O. A. Leontyeva^a, R. A. Kuznetsova^a, O. G. Chiryaeva^{c, g}, A. A. Pendina^{f, g}, O. A. Efimova^g, A. V. Tikhonov^{f, g}, A. V. Petrovskaya-Kaminskaya^g, V. S. Dudkina^g, L. I. Petrova^g, I. V. Polyakova^h, S. G. Shcherbak^{g, h}, O. S. Glotov^{g, h}, and N. K. Bichevaya^a

^aInternational Centre of Reproductive Medicine, St. Petersburg, 197350 Russia

^bAlmazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, 197341 Russia

^cKirov Military Medical Academy, St. Petersburg, 194044 Russia

^dHerzen State Pedagogical University of Russia, St. Petersburg, 191186 Russia

^eDiaCarta, Inc. 2600 Hilltop Drive, Richmond, CA 94806 USA

^fSt. Petersburg Centre for Medical Genetics, St. Petersburg, 194044 Russia

^gD.O. Ott Research Institute of Obstetrics Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, 199034 Russia

^hCity Hospital No. 40, St. Petersburg, 197706 Russia

*e-mail: il_trofimova@list.ru

The present study reports on the results of preimplantation genetic testing and IVF outcomes in four families, where one of the spouses is a carrier of Y/15 or Y/22 derivative chromosome: three cases of male carriers and one—of female carrier. In the cases of male carriers, we detected the predominant inheritance of the derivative chromosomes by the embryos and no abnormalities in sex chromosome segregation. In the case of female carrier, we did not observe either predominant inheritance of derivative chromosome by the embryos or effect of derivative chromosome on sex chromosome segregation. In all families, we revealed a high frequency of embryonic aneuploidies of chromosomes other than those involved in translocation. To exclude inheritance of the derivative chromosome by the offspring, preimplantation genetic testing should be recommended: fluorescent *in situ* hybridization (FISH), which allows identification of the Y-chromosome satellite DNA, followed by next generation sequencing (NGS) or microarray comparative genomic hybridization (aCGH) to detect other genomic and chromosomal abnormalities.

Keywords: Y/autosomal translocation, preimplantation genetic testing, fluorescent *in situ* hybridization (FISH), satellite DNA, Next Generation Sequencing.