

Alenka Erjavec Škerget<sup>1,\*</sup>

## KROMOSOM Y V ČLOVEŠKEM GENOMU: struktura, funkcija in medicinsko-diagnostični pomen

### POVZETEK

Kromosom Y spada po velikosti med najmanjše človeške kromosome, a njegova vloga in pomen v humanem genomu nista povsem v korelaciji z njegovo velikostjo. Kot predstavnik enega od dveh spolnih kromosomov pri človeku v svojem „normalnem“ stanju poleg drugih genov vsebuje najbolj znani in po biološki definiciji spola za moški spol specifični gen, t. i. *SRY* gen. Kljub skupnemu izvoru obeh človeških spolnih kromosomov pred 180 milijoni let sta danes oba spolna kromosoma X in Y morfološko in fiziološko zelo različna: po velikosti je kromosom Y za 2/3 manjši od kromosoma X.

Poleg genov za določitev spola (*SRY*, *AMHY*, *PAR* regije), ki vplivajo na razvoj in diferenciacijo spolnih organov osebka in/ali na njegovo nadaljnjo reprodukcijo, so bile opažene še druge fenotipske značilnosti oz. bolezni, ki se povezujejo z geni na kromosomu Y: družinsko pogojena hipertenzija, ki se pojavlja pri moških predstavnikih, koronarna arterijska bolezen ter avtoimunske bolezni na nivoju vnetnega odziva. V Laboratoriju za medicinsko genetiko UKC Maribor opravljamo preiskovanje kromosoma Y na različnih nivojih vpogleda v njegovo strukturo, odvisno od napotne diagnoze preiskovanca. S klasično citogenetsko analizo preiskujemo kromosom na nivoju ločljivosti do 8 Mbp velikih sprememb; molekularno citogenetska analiza na osnovi FISH tehnike omogoča natančnejši, a vnaprej definiran in s tem lokaliziran vpogled v strukturo kromosoma. Molekularno-genetska analiza v okviru odkrivanja mikrolecij preko alelnih specifičnih markerjev ali z uporabo mikrosatelitnih označevalcev s kromosoma Y omogoča odkrivanje minimalnih strukturnih in/ali številčnih sprememb kromosoma Y.

Prispevek služi kot pregled sinteze nedavno odkritih strukturnih, eksperimentalnih in kliničnih vpogledov v človeški Y kromosom v kontekstu moške dovzetnosti za bolezni, predvsem s področja embriogeneze, spermatogeneze in vloge v reprodukciji.

**Ključne besede:** kromosom Y, humana genetika, spolni kromosomi, diagnostika kromosoma Y

### UVOD

V obdobju celičnega cikla, imenovanem metafaza, je v jedru vsake somatske človeške celice genomna DNA kondenzirana v strukture, imenovane kromosomi. V

zdravi normalni človeški celici (z izjemo spolnih celic) je v normalnem stanju prisotnih 23 parov kromosomov. En par predstavljata spolna kromosoma (kromosoma X in Y), ki se razlikujeta med spoloma. Za ženski spol je značilna prisotnost dveh kromosomov X, za moški spol je značilna prisotnost enega X in enega Y kromosoma. Kot kromosom za določitev spola pri človeku je do leta

<sup>1</sup> Univerzitetni klinični center Maribor, Klinika za ginekologijo in perinatologijo, Laboratorij za medicinsko genetiko, Ljubljanska 5, 2000 Maribor  
E-Mail: alenka.erjavec@guest.arnes.si  
\*Avtor za korespondenco

1890 veljal kromosom X, po letu 1905 pa je vlogo označevalca spola pri človeku prevzel kromosom Y.

Po trenutnih podatkih je velikost kromosoma Y 58 milijonov baznih parov, kar predstavlja cca 2 % celotnega genoma pri moškem osebk. Kromosom Y

vsebuje do danes znanih 63–73 genov (odvisno od genomskega označevanja in mapiranja), povezujejo pa ga z okoli 200 drugimi geni, ki sodelujejo pri izražanju skupaj z njim.

Tabela 1: Število odkritih genov na kromosomu Y, zbranih v različnih genetskih bazah podatkov (Vir:

[https://en.wikipedia.org/wiki/Y\\_chromosome](https://en.wikipedia.org/wiki/Y_chromosome))

Estimated by	<a href="#">Protein-coding genes</a>	<a href="#">Non-coding RNA genes</a>	<a href="#">Pseudogenes</a>	Release date
<a href="#">CCDS</a>	63	-	-	2016-09-08
<a href="#">HGNC</a>	45	55	381	2017-05-12
<a href="#">Ensembl</a>	63	109	392	2017-03-29
<a href="#">UniProt</a>	47	-	-	2018-02-28
<a href="#">NCBI</a>	73	122	400	2017-05-19

Glede na vsebnost genov je kromosom Y najrevnejši človeški kromosom. Znale so tri skupine genov, ki jih vsebuje: geni, povezani s spolno diferenciacijo, geni, povezani z reprodukcijo, in skupina t. i. drugih genov, ki imajo vpliv na vnetni odziv pri imunsko pogojenih stanjih.

Glavni in najbolj znan gen za določitev spola je t. i. *SRY* gen (sex-determining region Y), ki najpogosteje, v normalnem stanju, leži na kromosomu Y in je tisti, ki vpliva na spolno determinacijo. Na določitev spola poleg njega vplivajo še drugi geni, ki ležijo ali na kromosomu X (*DAX1*, *FOXL2*) ali na drugih avtosomih; da je *SRY* odločujoči gen za določitev spola, potrjujejo znani primeri fenotipov, ko se pri prisotnem *SRY* genu, ne glede na njegovo lego, pri humanem osebk vedno izrazi moški fenotip (genitalije).

Vloga produkta *SRY* gena je namreč sodelovanje pri prepisovanju transkripcijskega faktorja TDF, ki sodeluje v kaskadi aktivacije drugih transkripcijskih faktorjev (*SOX3*, *9*) v procesu diferenciacije spola. Po aktivaciji se sproži diferenciacija Sertolijevih in Leydigovih celic, da začnejo iz prekurzorskih celic s pomočjo AMH (Antimullerjevega hormona) izločati testosteron, zaradi česar se nato tvorijo moške spolne celice.

*SRY* je sestavljen brezintronski gen, ki vsebuje veliko t. i. HMG (high mobility group) proteinov, zato se lahko v

procesu translacije uspešno prestavlja na druge kromosome in je tam aktiven. Posledica uspešne predstavitev so primeri oseb s kariotipom XX, prisotno *SRY* regijo in moškim fenotipom.

Fenotipske značilnosti, povezane s kromosomom Y, imajo nekaj skupnih in splošno znanih dejstev. Sicer je, glede na velikost obeh spolnih kromosomov, na kromosom X vezanih več okvar in genetskih bolezni, ker je kromosom X večji in posledično vsebuje več genov. Posebnost pri vseh moških osebkih je še ta, da se vse okvare na kromosomih X in Y izrazijo na fenotipu moškega v primerjavi z ženskimi osebk, ki jim poseben proces inaktivacije enega kromosoma X omogoča dodatno zaščito.

Med najbolj znane bolezni, ki so direktno povezane s kromosomom Y, spadajo:

- mikrodelecije kromosoma Y, ki se izražajo kot zmanjšana fertilitetnost in/ali reducirano število spermijev brez druge fenotipske simptomatike;
- Klinefelter sindrom: XXY, za katerega je značilna okvarjena postnatalna testikularna funkcija in kompletna neplodnost;
- Swyerjev sindrom, kjer gre za XY genotipske osebe s prisotnimi ženskimi spolnimi organi vendar brez funkcionalnih gonad; nastane kot

posledica mutacij v SRY genu, zaradi česar je ohromljen proces moške spolne diferenciacije;

- sindrom dvojnega Y, ki se pojavlja v 1/1000 rojenih fantkov, predstavlja značilen kariotip 47,XYX in se fenotipsko izraža kot odrasli moški osebek višje postave (do 15 cm); pri otrocih poročajo o zakasnelem motoričnem razvoju in kasnejši na področju govora in z več učnimi, vedenjskimi in čustvenimi težavami (agresija);
- De LaChapelleov sindrom: predstavlja kariotip XX s prisotno SRY regijo; gre za fenotipsko moškega s prisotnimi manjšimi testisi, sterilni osebek, opisani primeri pa se povezujejo z nižjim IQ in manjšo telesno velikostjo v primerjavi z XY moškimi osebki.

Poleg vloge pri spolni diferenciaciji so do sedaj opisane tudi nekatere druge fenotipske lastnosti, povezane s kromosomom Y in vključujejo tri področja. Na živalskih modelih je bil opažen in doslej dobro dokumentiran pojav **hipertenzije** v povezavi z okvarjenim genom SRY; produkt SRY gena namreč vpliva na izražanje specifičnih encimov ACE in ACE2, ki imajo ključno vlogo pri regulaciji krvnega pritiska. Genetske asociacijske študije pri človeku, ki so bile do sedaj opravljene na tem področju, sicer zaenkrat še ne nudijo dovolj zanesljivega vpogleda in dokaza na področju človeških modelov. **Koronarna arterijska bolezen** (CAD) ter **bolezni imunskega sistema** sta ostali dve področji, kjer potekajo intenzivne raziskave, a zaenkrat še vse na živalskih modelih.

Uporabnost kromosoma Y v humani genetiki je posebnega pomena še pri določevanju sorodnosti, še posebej očetovstva pri moških potomcih. V primeru dedovanja kromosoma Y, za katerega je značilen patriarhalni prenos, gre namreč za t. i. sledenje po patrilinearni liniji. To pomeni, da je vsak Y podedovan od očeta in se zato mora ujemati med sorodnikoma (v primerjavi z dedovanjem po materini strani, kjer se pregleduje mitohondrijski genom v okviru t. i. sledenja po matriarhalni liniji).

### Zgodovina in prihodnost kromosoma Y

Pred 300 milijoni let je kromosom Y vseboval 1438 genov. Glede na število prisotnih genov na njem danes (63–73) so izračunali, da je s frekvenco izgube 4.6 gena/milijon let kromosom Y najhitreje izginjajoči kromosom v človeškem genomu, kar je posledica visoke mutacijske stopnje, neučinkovite selekcije in genetskega zdrsa. Potekajo tudi raziskave glede preverjanja dejstva, da naj bi bil kromosom Y vseh živečih moških povezan z enim prednikom, ki je živel pred 100 000 leti, a zanesljivost pridobljenih rezultatov še ni zagotovljena.

Prihodnost kromosoma Y glede na druge živalske vrste v evoluciji nakazuje, da bo tudi človeški kromosom Y dosegel terminalno stopnjo degeneracije, kar se je že zgodilo pri nekaterih družinah v vrstah glodalcev (*Murridae*, *Cricetidae*). Kromosom Y je namreč kot samostojna komponenta izginil iz njihovega genoma, njegovi najpomembnejši geni pa so se prerazporedili na ostale kromosome. Kot zanimivost, danes se to nakazuje pri ljudeh: moški kadilci imajo večje število krvnih celic brez kromosoma Y v primerjavi z nekadilci. V kakšni povezavi je to odkrito dejstvo in kaj prinaša v prihodnosti, se bo šele izkazalo.

Posebna pozornost pa je namenjena tudi leta 2003 opisanemu procesu t. i. lastne genske konverzije na kromosomu Y, kjer je omogočena rekombinacija kromosoma Y s samim seboj preko palindromskih sekvenc. Preko opisanega odkritega mehanizma bi lahko vplivali na možnost upočasnitve degradacije, če se bo to odkrilo kot zaščitna varianta in tako eden od načinov geneske terapije.

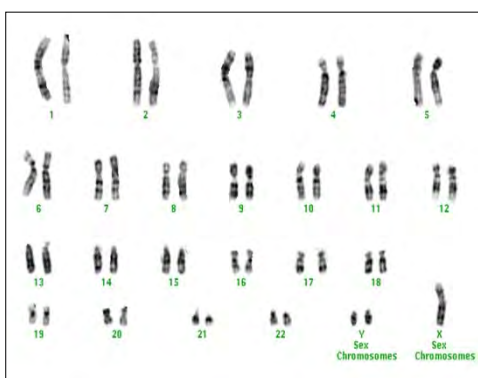
### MATERIALI IN METODOLOGIJA DELA

V Laboratoriju za medicinsko genetiko UKC Maribor opravljamo preiskovanje kromosoma Y na različnih nivojih vpogleda v njegovo strukturo; kot napotek za izvedbo preiskave v glavnem služi napotna diagnoza preiskovanca. S klasično citogenetsko analizo preiskujemo kromosom na nivoju ločljivosti do 8 Mbp velikih sprememb; molekularno-citogenetska analiza na osnovi FISH tehnike omogoča natančnejši, a vnaprej definiran in lokaliziran vpogled v strukturo kromosoma.

Molekularno-genetska analiza v okviru odkrivanja mikrolecij preko alelno specifičnih markerjev ali z uporabo mikrosatelitnih označevalcev s kromosoma Y omogoča odkrivanje minimalnih strukturnih in/ali številčnih sprememb kromosoma Y.

## REZULTATI

Kariotipizacija kot rezultat klasične citogenetske analize (slika 1) je rezultat dela pri preiskovancih z napotno diagnozo glede diferenciacije spola ali pri preiskovancih, ki imajo težave v procesu reprodukcije.

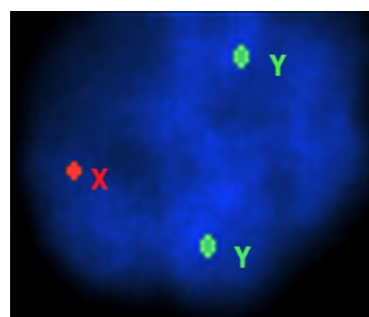
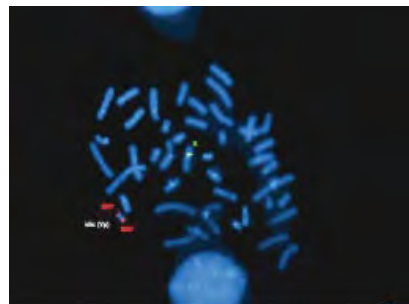


Slika 1: Rezultat citogenetske analize pri preiskovancu; kariogram 47,XYY

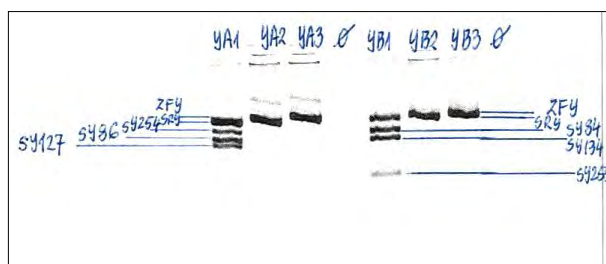
V primeru citogenetsko ugotovljene spremembe na kromosomu Y se uporabi natančnejša, a ciljno usmerjena hibridizacijska tehnika z uporabo specifičnih sond kot markerjev. Fluorescentna in situ hibridizacija (FISH) kot najpogostejša molekularno-citogenetska tehnika omogoča potrjevanje ali odkrivanje večjih ali manjših sprememb na ciljnim kromosomu Y, odvisno od velikosti uporabljene sonde (slika 2).

Molekularno-genetsko analizo opravljamo za namene odkrivanja manjših mikrolecij, ki so lahko vzrok reprodukcijskim težavam moških osebkov. Z analizo določamo delecije na dolgem kraku kromosoma Y, v območjih AZFa, AZFb, AZFc in AZFd pri diagnostiki moške neplodnosti. Pri tempreverjamo prisotnost/odsotnost alelno specifičnih označevalcev: SRY, sY84, sY86, sY127, sY134, sY254, sY255 (slika 3).

Analiza na osnovi mikrosatelitnih označevalcev s kromosoma Y omogoča odkrivanje minimalnih strukturnih, a z izborom označevalca ciljno usmerjenih strukturnih sprememb na kromosomu Y. Hkrati pa je z omenjeno metodo mogoče odkrivanje številčnih sprememb kromosoma Y.

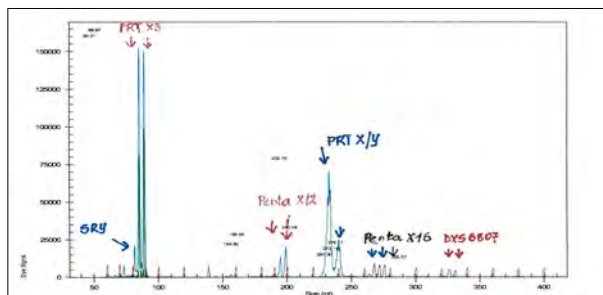


Slika 2: Rezultat analize s FISH pri preiskovancu; kariogram 47,XYY A: metafazni kromosomi; B: interfazno jedro



Slika 3: Rezultat agarozne gelske elektroforeze molekularno-genetske analize za detekcijo mikrolecijskih sprememb na kromosomu Y pri preiskovancih 1 (kontrolni preiskovanec), 2 (kontrolna preiskovanka), 3 (testni vzorec)

Temelji na QFPCR tehnologiji (kvantitativna fluorescenčna verižna reakcija s polimerazo), s katero zaznavamo prisotnost ali številčnost izbranih označevalcev AMEL, sY14, sY70; SRY ter PRT XY.



Slika 4: Elektroforetogram kot rezultat kapilarne elektroforeze po analizi mikrosatelitnih in PRT markerjev na kromosomu Y pri preiskovancu 47,XXY

## RAZPRAVA Z ZAKLJUČKOM

Kromosom Y je v normalni moški človeški celici prisoten v eni kopiji in je dedovan vedno od očeta na moške potomce. To pomeni, da geni na kromosomu Y ne morejo biti podvrženi genski rekombinaciji oz. t. i. mešanju genov, ki poteka v vsaki generaciji omogoča morebitno odpravljanje škodljivih genskih mutacij. Zaradi neobstoja prednosti rekombinacije tako Y kromosomski geni sčasoma degenerirajo in se postopoma izgubljujejo iz genoma. Novejše raziskave sicer nakazujejo, da je kromosom Y razvil nekaj mehanizmov za "zaviranje" degeneracije, s čimer se je stopnja izgube genov upočasnila.

V človeškem genomu kromosom Y predstavlja t. i. „gensko puščavo“, ki naj bi postopoma izginevala iz človeškega genoma. Danes dokazano prepoznana vloga kromosoma Y pri človeku je omejena na določanje spola v zgodnjem embrionalnem razvoju ter na proces spermatogeneze v poznejšem obdobju moškega osebka. V novjšem času tovrstno omejitev vpogledov izpodbija identifikacija t. i. multiplih, povsod prisotnih in izraženih Y-kromosomskih genov ter odkrivanje do sedaj neznanih in nepričakovanih povezav med kromosomom Y, imunskimi lastnostmi ter drugimi kompleksnimi poligenskimi komponentami. Dosedanje študije namreč dokazujejo, da komponente iz kromosoma Y preko genetsko pogojene dovzetnosti za določeno bolezen vplivajo na imunске in vnetne odzive pri moških, obolenih na imunskem sistemu ali pri srčno-žilnih obolenjih. Filogenetske študije namreč dokazujejo, da imajo nosilci skupne evropske linije kromosoma Y

(haplogrupa I) povečano tveganje za nastanek koronarne arterijske bolezni. Vzrok tovrstnega dogajanja je namreč povečana regulacija vnetnih procesov ter inhibicija t. i. prilagoditvene imunitete v omenjenem haplotipu skupine Y, kar je posledica slabše odzivnosti na okužbe z virusi imunske pomanjkljivosti. Gre za t. i. *UTY* gene (Ubiquitously Transcribed Tetratricopeptide Repeat Containing, Y-Linked), ki se kažejo kot povezovalna struktura med kromosomom Y in občutljivostjo na bolezni. Kot kažejo novejšje objave, se bodo prihodnje raziskave usmerjale na določanje specifičnih genov, ki neposredno vplivajo na vnetne in prilagoditvene imunске procese v aterosklerozi. Do sedaj je že bilo identificiranih 12 genskih parov, ki so kandidatski geni za prihodnje študije in so v povezavi z haplogrupo I ter imunskimi procesi (*UTY / UTX, PRKY / PRKX in KDM5D / KDM5C*).

Podatki iz povezovalnih študij so pokazali, da imajo lahko pri določanju moškega zdravja in dovzetnosti za bolezen pomembno vlogo genske spremembe na kromosomu Y. To je v nasprotju s prvotnimi pesimističnimi pogledi na kromosom Y kot nesmiselni in odvečni del DNK. Eden najmočnejših dokazov je povezava med haplogrupo I in povečanim CAD tveganjem pri vnetnih in imunskih procesih. V danski študiji, opravljeni na 62 različnih moških osebkih, je bilo ugotovljeno, da se tudi na kromosomu Y dogajajo obsežne strukturne preureditve, ki omogočajo t. i. "ojačanje gena" (PLoS, 2017). To pomeni pridobitev več kopij genov, ki spodbujajo normalno spermatogenezo in s tem ublažitev izgube genov. Na kromosomu Y so odkrili posebne palindromske strukture kot varovalo pred nadaljnjo degradacijo kromosoma. Na teh strukturah je bila opažena visoka stopnja pretvorbe genov, ki v procesu kopiranja in lepljenja omogoča popraviljanje poškodovanih genov z uporabo nepoškodovane varnostne kopije, zapisane v palindromski obliki.

Pri drugih živalskih vrstah, ki so nosilci kromosoma Y (Y-kromosomi obstajajo pri sesalcih in samo nekaterih drugih vrstah), je t. i. ojačanje kromosoma Y že znano in dokazano prisotno. Pri njih imajo ojačani geni ključno vlogo pri proizvodnji sperme in (vsaj pri glodalcih) uravnavanju razmerja med spoloma. Na živalskih modelih je bilo dokumentirano, da je to povečanje števila

genskih kopij pri miših posledica naravne selekcije.

Odgovor na vprašanje o tem, ali bo kromosom Y dejansko izginil, je v znanstvenih krogih še vedno deljen. Zagovorniki kromosoma Y iščejo dokaze o obstoju obrambnih mehanizmov in razlaga njegove vloge, medtem ko evolucionisti dolgoročno predvidevajo izginotje kromosoma Y. Svoje domneve potrjujejo tudi z dokazi na japonski podvrsti podgan, ki so v celoti izgubile kromosom Y; opaža se, da spremembe na kromosomu Y povzročajo težave s plodnostjo, popolno izginotje kromosoma Y pa je potem lahko osnova za nastanek povsem novih vrst. Namreč, tudi če kromosom Y v človeškem genomu izgine, to ne pomeni nujno, da človeška vrsta moških ne bo več potrebovala. Pri živalskih vrstah, ki so v celoti izgubile svoje kromosome Y, sta oba spola med osebki še vedno potrebna za proces razmnoževanja.

Prisotnost gena SRY je kot glavno stikalo za razvoj moškega osebka potrebna, tudi če je le-ta prisoten na drugem kromosomu, kar pomeni, da fenotipsko moški osebki preživijo brez kromosoma Y, a so sterilni. Kar pa je zanimivo pri ljudeh, je, da je kromosom Y potreben za normalno reprodukcijo človeka, a mnogi geni, ki jih nosi, niso potrebni v primerih umetne oploditve. To bi lahko pomenilo, da bi lahko genski inženiring nadomestil gensko funkcijo kromosoma Y. Čeprav je to zanimivo in aktualno razpravljalno področje genetskih raziskav, so skrbi glede popolnega izginotja kromosoma Y pri človeku zaenkrat še neutemeljene. V vsakem primeru bo v naslednjih 4,6 milijona let veliko več dogajanj. Razprave o tem tako z biološkega, medicinskega, filozofskega in etičnega vidika pa so vsekakor utemeljene in pričakovane. Z upanjem, da sistem, kot ga poznamo pri "kmetijskih živali", kjer je nekaj "srečnih" moških osebkov izbranih očetov večine potomcev, ni na obzoru. V vsakem primeru se bo po naslednjih 4,6 milijona let razvoja človeka izkazalo, kako se bo proces razpletel.

Medicinska diagnostika in preučevanja kromosoma Y danes je osnovano na osnovnih citogenetskih, molekularno-citogenetskih in molekularno-genetskih metodah, v posebnih primerih pa je upravičeno omogočeno že tudi preiskovanje genov s kromosoma Y z metodami sekvenciranja nove generacije, ki omogočajo

odkrivanje genskih sprememb na nivoju enega nukleotida.

#### ZAHVALA

Avtorica prispevka se zahvaljuje celotnemu kolektivu Laboratorija za medicinsko genetiko UKC Maribor, ki je kakorkoli pripomogel k uspešnemu delu, katerega rezultat je objava pričujočega prispevka.

#### REFERENCE

[https://en.wikipedia.org/wiki/Y\\_chromosome](https://en.wikipedia.org/wiki/Y_chromosome) (prevzeto na dan 10.10.2018)

Quintana-Murci L., Fellous M. The human Y chromosome: the biological role of a "functional wasteland" J Biomed Biotechnol. 2001; 1(1): 18–24.

<https://www.genome.gov/27561885/facts-about-the-y-chromosome/> (prevzeto na dan 15.10.2018)

Maan AA, Eales J, Akbarov A, Rowland J, Xu X, et al. The Y chromosome: a blueprint for men's health? Eur J Hum Genet. 2017 Nov; 25 (11): 1181-1188.

Dumanski JP, Rasi C, Lönn M, Davies H, Ingelsson M, Giedraitis V, et al. Mutagenesis: Smoking is associated with mosaic loss of **chromosome Y**. Science. 2015 Jan 2;347(6217):81-3.

Griffin, D., Ellis P. The Y chromosome is disappearing – so what will happen to men? The Conversation, Academic rigour, journalistic flair. January 17, 2018.

Colaco S, Modi D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. Reprod Biol Endocrinol. 2018 Feb 17;16(1):14. doi: 10.1186/s12958-018-0330-5. Review

Lauritskov, The Danish Pan Genome Consortium, MH Schierup. Analysis of 62 hybrid assembled human Y chromosomes exposes rapid structural changes and high rates of gene conversion. PLoS Genet. 2017 Aug; 13(8): e1006834. Published online 2017 Aug 28. doi: 10.1371/journal.pgen.1006834

Graves JA, Todd EV, Ortega-Recalde OL, et al. Stress, novel sex genes, and epigenetic reprogramming orchestrate socially controlled sex change. *Science advances*. 5:eaaw7006-eaaw7006. 2019