

## Случай малой сверхчисленной кольцевой хромосомы r(20)(p12q12) у мальчика трех лет с лицевыми аномалиями и речевыми нарушениями

Антоненко В.Г.<sup>1</sup>, Светличная Д.В.<sup>2,3</sup>, Миньженкова М.Е.<sup>1</sup>, Шилова Н.В.<sup>1</sup>, Калининкова С.Г.<sup>2</sup>

1 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»  
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1

2 — ГБУЗМО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф.Владимирского»  
129110, г. Москва, ул. Щепкина, д. 61/2

3 — ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им И.М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский Университет)»  
119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр. 2

Представлен случай малой сверхчисленной маркерной хромосомы (мСМХ) у мальчика трех лет с лицевыми аномалиями и речевыми нарушениями. Структура маркерной хромосомы, установленная при FISH-анализе, была определена как r(20)(p12q12). Обсуждаются проблемы мСМХ, содержащих только околоцентромерные области, и вопросы корреляции гено-тип-фенотип.

**Ключевые слова:** сверхчисленные маркерные хромосомы, кольцевые хромосомы, кольцевая хромосома 20, хромосомные аномалии, хромотрипсис

**Для цитирования:** Антоненко В.Г., Светличная Д.В., Миньженкова М.Е., Шилова Н.В., Калининкова С.Г. Случай малой сверхчисленной кольцевой хромосомы r(20)(p12q12) у мальчика трех лет с лицевыми аномалиями и речевыми нарушениями. *Медицинская генетика* 2020; 19(10): 51-55.  
**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.10.51-55

**Автор для корреспонденции:** Антоненко Валентина Геннадьевна; **e-mail:** avalgen@yandex.ru

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ».

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 20.08.2020.

## A case of a small supernumerary ring chromosome r(20)(p12q12) in a 3-year-old boy with facial anomalies and speech delay

Antonenko V.G.<sup>1</sup>, Svetlychnaya D.V.<sup>2,3</sup>, Minzhenkova M.E.<sup>1</sup>, Shilova N.V.<sup>1</sup>, Kalinenkova S.G.<sup>2</sup>

1 — Research Centre for Medical Genetics  
Moskvorechie st.1, Moscow, 115522, Russia

1 — M.F. Vladimirovsky research institute  
Shepkin street, 61/2, Moscow, 129110, Russia

3 — I.M. Sechenov First Moscow State Medical University  
Trubetskaya st. 8, Moscow, 119991, Russia

We report on a case of small supernumerary marker chromosome (sSMC) in a 3-year boy with facial anomalies and speech delay. The constitution of marker chromosome was designated by mFISH analysis as r(20)(p12q12). The problems of diagnostics of sSMC, containing the pericentromeric regions only, and genotype-phenotype correlations are discussed.

**Keywords:** supernumerary marker chromosomes, ring chromosomes, ring chromosome 20, chromosomal anomaly, chromothripsis

**For citation:** Antonenko V.G., Svetlychnaya D.V., Minzhenkova M.E., Shilova N.V., Kalinenkova S.G. A case of a small supernumerary ring chromosome r(20)(p12q12) in a 3-year-old boy with facial anomalies and speech delay. *Medical genetics* 2020; 19(10): 51-55. (In Rus.).  
**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.10.51-55

**Corresponding author:** Antonenko Valentina; **e-mail:** avalgen@yandex.ru

**Funding.** The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for Research Centre for Medical Genetics.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Accepted:** 20.08.2020.

## Введение

**М**алые сверхчисленные маркерные хромосомы (мСМХ), содержащие только небольшие области околоцентромерного эухроматина, выделяют в особую группу хромосомных аномалий. Они не могут быть идентифицированы методами стандартного цитогенетического исследования и требуют использования молекулярно-цитогенетических или молекулярно-генетических методов для уточнения происхождения. мСМХ, включающие небольшие перичентромерные районы хромосомы 20, относятся к редким формам хромосомной патологии. Данной группе свойственна большая цитогенетическая (наличие мозаичных, кольцевых и некольцевых форм) и фенотипическая вариабельность.

## Описание случая

Семья обратилась к врачу-генетику в связи с задержкой речевого развития у мальчика трех лет. Анамнез: брак II, не родственный, родители здоровы, матери на момент рождения ребенка был 41 год. Беременность 3, ребенок от 1 беременности в I браке — девушка 21 года, страдает тиками; 2 беременность во II браке закончилась искусственным прерыванием. Пробанд — мальчик от 3 беременности, протекавшей с угрозой прерывания в 1 триместре и гестационным сахарным диабетом. Роды в срок, самостоятельные. Вес при рождении — 3960 г, длина — 54 см, оценка по шкале Апгар — 8/9 баллов. Ранее развитие по возрасту до 1 года жизни. В возрасте 10 месяцев ребенок мог произнести несколько простых слов. По словам родителей, в возрасте 1 года ребенок перенес острое респираторное заболевание, после которого перестал произносить слова. Получал курсы фармакотерапии по назначению невролога без эффекта. После 1 года ребенок часто (2–3 раза в месяц) болеет острыми респираторными заболеваниями. Страдает атопическим дерматитом (легкое течение) и аллергическим ринитом.

При осмотре врачом-генетиком в возрасте 3 лет 3 мес: рост — 100,5 см, вес — 15,7 кг, окружность груди — 50 см, головы — 51 см, что соответствует средним возрастным показателям. Телосложение правильное, пропорциональное. Выявлены микроаномалии развития: высокий лоб, низко расположенные крупные ушные раковины, двухсторонний эпикант, длинный фильтр, тонкие губы. Дерматоглифика изменена. Отмечены небольшая пупочная грыжа, вальгусная деформация нижних конечностей. При осмотре ребенок гиперактивен, простые просьбы не выполняет. Речь лепетная, состоит из слогов, но имеет эмоциональную

окраску и интонации. Со слов матери, простые просьбы («подай», «принеси») выполняет не всегда (по настроению). Ребенок был осмотрен врачом-генетиком повторно в 4 года 5 мес. Наблюдалась положительная динамика: стал спокойнее, начал говорить предложениями. Предложения недлинные, 2–3 слова, не выговаривает некоторые буквы («р» и шипящие). Обращенную речь понимает, отвечает на вопросы, просьбы выполняет.

Результаты дополнительных обследований и консультаций специалистов в возрасте 3 лет и 3 месяцев представлены ниже. Эхокардиография: Дополнительная хорда в области левого желудочка. Ультразвуковое исследование внутренних органов: признаки варианта развития желудочно-кишечного тракта, умеренная спленомегалия, лимфаденопатия мезентериальных лимфоузлов, неполное удвоение чашечно-лоханочной системы левой почки. Консультация офтальмолога: фоновая ретинопатия и ретинальные сосудистые изменения (артерии умеренно сужены, вены расширены, светлые). Консультация эндокринолога: субклинический гипотиреоз, первичный иммунодефицит, задержка речевого развития. Консультация оториноларинголога: аденоидные вегетации, слух в норме, задержка речевого развития.

## Материалы и методы

Анализ кариотипа пациента и его родителей был выполнен на хромосомных препаратах, полученных по стандартным протоколам из культуры лимфоцитов периферической крови с применением дифференциального GTG-окрашивания метафазных хромосом. Многоцветную FISH (mFISH) выполняли с набором 24Xcyte (MetaSystems 24 color kit) (MetaSystems, Германия) по протоколу фирмы-производителя. FISH-анализ с использованием ДНК-зондов на хромосому 20: центромерный район — SE20(D20Z1), субтеломерные районы короткого и длинного плеча (Sub Telomere 20pter, Sub Telomere 20qter), плечеспецифичные — Arm Specific Probe 20p, Arm Specific Probe 20q осуществляли по протоколу, предложенному фирмой-производителем (Kreatech, Нидерланды). Денатурацию и гибридизацию проводили с использованием гибридационной системы ThermoBrite (Abbott Molecular, США). Для контрокрашивания хромосом использовали флуоресцентный краситель DAPI. Молекулярно-цитогенетический анализ проводили на флуоресцентном микроскопе AxioImager M.1 (Zeiss) с соответствующим набором светофильтров и с использованием компьютерной программы обработки FISH-изображения (Isis, MetaSystems, Германия). Ка-

риотип указан в соответствии с международной цитогеномной номенклатурой ISCN, 2016 [1].

## Результаты

Цитогенетическое исследование пациента, проведенное по стандартной методике, выявило регулярную мСМХ, кариотип: 47,XY,+mar[30] (рис. 1). Кариотип матери: 46,XX. Отец не доступен для обследования.

Уточнение происхождения маркерной хромосомы было проведено с использованием mFISH-анализа (24XcyteMetaSystems), позволившего идентифицировать хромосому как дериват хромосомы 20. Последующее использование центромерных (СЕР), плечеспецифичных (РСР) и субтеломерных ДНК-зондов на хромосому 20 подтвердило наличие центромерного района, материала короткого и длинного плеч. Отсутствие субтеломерных районов короткого и длинного плеч хромосомы 20 позволило определить маркерную хромосому как кольцевую хромосому 20 — г(20) (рис. 2).

## Обсуждение

К мСМХ принято относить структурно измененные хромосомы, размер которых не превышает размера хромосомы 20 в той же метафазной пластинке. Происхождение их невозможно определить методами стандартного цитогенетического исследования [2]. В цитогенетическом отношении мСМХ могут представлять собой бисателлитные хромосомы (т. е. хромосомы, состоящие из центромеры и коротких плеч акроцентрических хромосом), а также кольцевые и не-кольцевые хромосомы, состоящие из центромеры и не-

больших участков околоцентромерного гетеро- и эухроматина.

В исследовании Liehr T. [2], обобщившем опубликованные данные о 980 случаях мСМХ, показано отсутствие этнических различий в частоте данной патологии. Популяционная частота мСМХ при постнатальных обследованиях составляет 0,044%, в случае безвыборочных пренатальных исследований — 0,075%. При обследовании в связи с бесплодием мСМХ выявляют в 0,125% случаев, соотношение мужчин и женщин среди выявленных случаев составляет 7,5:1. Среди пациентов с умственной отсталостью частота выявления мСМХ — 0,288%, при обследованиях плодов с аномалиями, обнаруженными при ультразвукографии, — 0,204%. Группа мСМХ является очень разнородной как по происхождению (описаны мСМХ большей части хромосом), так и по влиянию на фенотип. Около 70% случаев мСМХ не проявляются клинически, и перестройка может быть выявлена случайно. Показано, что в 36% случаев, не имеющих клинических проявлений, в состав маркерной хромосомы входит и околоцентромерный эухроматин [3].

Механизм образования мСМХ представляется довольно сложным. Необходимо наличие двух двунитевых разрывов в околоцентромерной области хромосомы и включение мСМХ в клетку, имеющую нормальный хромосомный набор. В последнее десятилетие обсуждается гипотеза происхождения мСМХ, образовавшихся *de novo*, в результате хромотрипсиса.

Возможность обнаруживать события хромотрипсиса появилась в связи с использованием технологий секвенирования для изучения хромосомных перестроек. Впервые оно было описано Stephens P.J. с соавт.

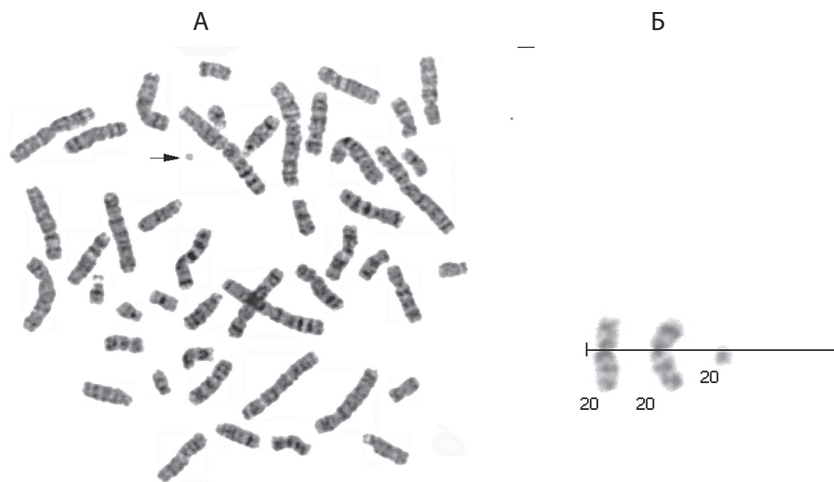
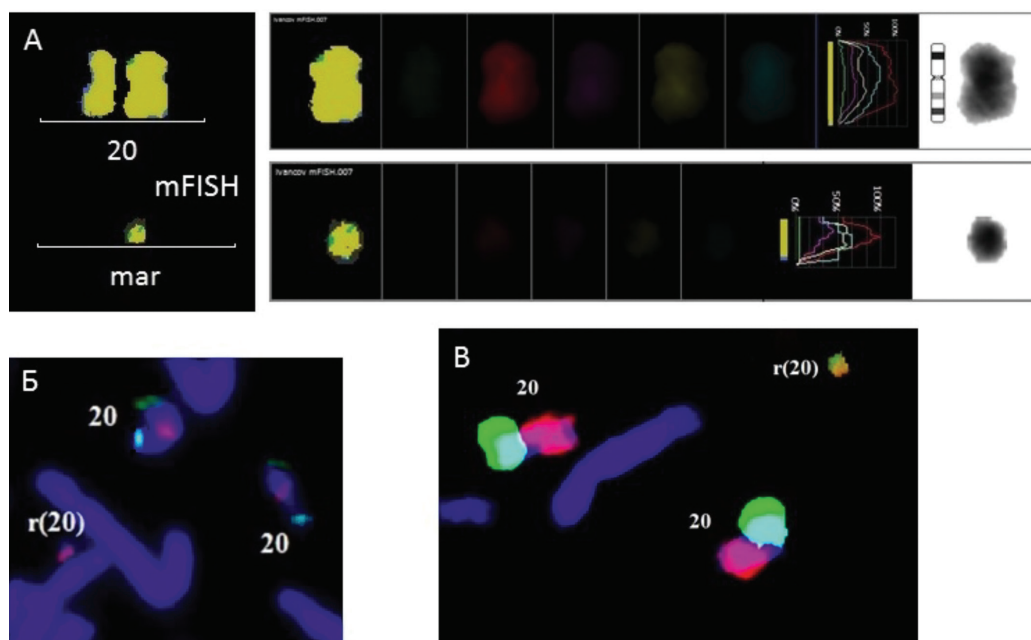


Рис. 1. А. Изображение метафазной пластинки пациента. Стрелкой указана маркерная хромосома. Б. Изображения нормальных и маркерной хромосом 20 пациента.

в 2011 г. при лимфоидном лейкозе и представляет собой множественные перестройки хромосом, наблюдающиеся в одной клетке [4]. Механизм хромотрипсиса запускается двунитевыми разрывами в одной или нескольких хромосомах. После этого следует соединение фрагментов ДНК в случайном порядке и ориентации, что приводит к формированию хромосом с комплексными перестройками (транслокациями, инсерциями, инверсиями), возможно образование и малых маркерных хромосом. При этом не происходит существенного изменения копийности ДНК. В последующих работах было показано, что хромотрипсис может быть причиной перестроек и в половых клетках. В этом случае при сегрегации перестройки хромосом могут приводить к образованию несбалансированных гамет, в том числе и с наличием мСМХ. Matsubara с соавт. предположили связь между появлением мСМХ, хромотрипсисом и коррекцией трисомии [5]. Процесс можно представить следующим образом: неполная коррекция трисомии, инициированная хромотрипсисом, приводит к множественным перестройкам хромосом в клетке. Образующиеся при этом мСМХ, могут быть ограничены в микроядре и в последующем сохраниться при делении клетки.

мСМХ, включающие небольшие перицентроммерные районы хромосомы 20 (мСМХ r(20)), являются редким событием. После первого сообщения в 1991 году было описано около 40 подобных случаев [6,7]. Все они составляют очень разнородную группу, куда входят как постнатальные описания детей и взрослых, так и пренатальные случаи. В цитогенетическом отношении тоже наблюдается большое разнообразие форм. Описаны как регулярные, так и мозаичные формы, включающие, наряду с клеточными линиями, содержащими мСМХ r(20), линии с некольцевыми мСМХ 20. Вклад в цитогенетическое разнообразие может вносить и межклеточная мозаицизм, наличие которого трудно исключить. Из 42 пациентов, представленных Liehr T в 2008 г. [7], 14 были фенотипически нормальными, в 24 случаях у пациентов были описаны фенотипические аномалии и в четырех случаях клинический эффект не был ясен. Исследователи не обнаружили специфических сходных клинических проявлений у пациентов, общими признаками являлись отставание в физическом развитии и нарушение психомоторного развития. По данным Hamid A.B. с соавт., исследовавших околоцентроммерный дисбаланс при мСМХ, наличие дисбаланса 0,74 млн п.н.



**Рис. 2.** Результаты молекулярно-цитогенетического исследования.

А. Результат mFISH показывает, что маркерная хромосома является дериватом хромосомы 20.

Б. Результат FISH с ДНК-зондами на центроммерный район (SpectrumOrange) и субтеломерные районы короткого (SpectrumGreen) и длинного (SpectrumAqua) плеч хромосомы 20 показывает наличие центроммерного и отсутствие субтеломерных районов хромосомы 20 на маркерной хромосоме.

В. Результат FISH с плечеспецифичными ДНК-зондами на хромосому 20 (Arm Specific Probe 20p – SpectrumGreen, Arm Specific Probe 20q – TexasRed) показывает наличие материала короткого и длинного плеч хромосомы 20 на маркерной хромосоме.



по короткому плечу и 1,5 млн п.н. по длинному плечу хромосомы 20 не приводит к фенотипическим нарушениям. При этом аномалии фенотипа могут отсутствовать и при большем разmere дисбаланса [8]. Hamid Al-Rikabi A.B. с соавт. описали двух девочек с мозаичной формой мСМХ r(20). У одной из них, с кариотипом: 47,XX,+mar[7]/46,XX[45], были отмечены гипохондроплазия, дыхание через рот, нечеткое произношение, ограниченный словарный запас, макроцефалия, ограниченная подвижность шеи, укорочение трубчатых костей, суборбитальные складки кожи и плоский корень носа. Вторым пациентом была девочка с кариотипом 47,XX,+mar[1]/46,XX[55], с задержкой речевого развития, небольшими аномалиями ушей и клинодактилией мизинца (слабо выраженной) [9].

В представленном нами случае у мальчика 3-х лет основной причиной обращения к врачу-генетику было отставание в речевом развитии, при этом нет указаний об отставании в психомоторном и физическом развитии. Однако при детальном обследовании у ребенка были выявлены множественные микроаномалии развития.

Viersbach R. с соавт. сообщили о двух случаях мСМХ r(20), в одном из которых у пациента не было отмечено фенотипических аномалий, в другом — были отмечены врожденный порок сердца и нарушение моторного развития, при этом умственное развитие пациента было нормальным [10]. Pinto M. с соавт. описали мать и дочь с мозаичной формой мСМХ r(20), у обеих были отмечены фенотипические аномалии, в большей степени выраженные у дочери, имевшей более высокую долю аномальной клеточной линии [11]. Также имеется сообщение о трех случаях мозаичной мСМХ r(20), выявленных при обследовании 32 пациентов с мСМХ и нарушениями репродуктивной функции. Показаниями для направления на исследование были нарушение фертильности, азооспермия, повторные выкидыши [12].

Анализ опубликованных данных о мСМХ r(20) не позволяет сделать вывод об определенных корре-

ляциях генотип-фенотип при данной форме патологии. В связи с большой вариабельностью клинических проявлений и неясным прогнозом развития, случаи обнаружения подобных перестроек, возникших *de novo*, являются сложными для медико-генетического консультирования. Случай представляет интерес как описание редкой формы хромосомной патологии.

## Литература/References

1. ISCN 2016 — An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016) Ed. McGovan-Jordan J., Simons A., Schmid M. Karger. 2016.
2. Liehr T., Weise A. Frequency of small supernumerary marker chromosomes in prenatal, newborn developmentally retarded and infertility diagnostics. *Int J Mol Med*. 2007;19(5):719-731.
3. Kitsiou-Tzeli S., Manolagos E., Lagou M. et al. Characterization of a prenatally assessed *de novo* supernumerary minute ring chromosome 20 in a phenotypically normal male. *Molecular Cytogenetics*. 2009;2:1.
4. Stephens P.J., Greenman C.D., Beiyuan Fu et al. Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development. *Cell*. 2011;144:27-40.
5. Matsubara K., Yanagida K., Nagai T. et al. De Novo Small Supernumerary Marker Chromosomes Arising From Partial Trisomy Rescue. *PERSPECTIVE*. 2020, [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)
6. Callen D.F., Eyre H.J., Ringenbergs M.L. et al. Chromosomal origin of small ring marker chromosomes in man: characterization by molecular genetics. *Am J Hum Genet*. 1991; 48(4):769-782.
7. Liehr T.: sSMC homepage for chromosome 20. 2008 [<http://www.med.uni-jena.de/fish/sSMC/20.htm>].
8. Hamid A.B., Weise A., Voigt M. et al. Clinical impact of proximal autosomal imbalances. *BJMG*. 2012;15(2):15-22.
9. Hamid Al-Rikabi A.B., Pekova S., Fan X. et al. Small Supernumerary Marker Chromosome May Provide Information on Dosage-insensitive Pericentric Regions in Human. *Current Genomics*. 2018;19:192-199.
10. Viersbach R., Engels H., Schwanitz G. Identification of supernumerary der(20) chromosomes by FISH in three patients. *Am J Med Genet*. 1997;70:278-283.
11. Pinto M.R., Fonseca e Silva M.L., Aguiar J. et al. Supernumerary ring chromosome 20 in a mother and her child. *Am J Med Genet A*. 2005;133A(2):193-196.
12. Manvelian M., Riegel M., Santos M. et al. Thirty-two new cases with small supernumerary marker chromosomes detected in connection with fertility problems: Detailed molecular cytogenetic characterization and review of the literature. *International journal of molecular medicine*. 2008; 21:705-714.