

# Семейный случай мозаичного варианта синдрома Шерешевского-Тернера с кольцевой X хромосомой

Опарина Н.В.<sup>1</sup>, Соловова О.А.<sup>1,2</sup>, Калиненкова С.Г.<sup>1</sup>, Латыпов А.Ш.<sup>1</sup>, Близнец Е.А.<sup>2</sup>, Степанова А.А.<sup>2</sup>, Черных В.Б.<sup>2</sup>

1 — ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского»  
Москва, Россия

2 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова»  
Москва, Россия

Представлен клинический случай синдрома Шерешевского-Тернера (СШТ) у матери и двух её дочерей. При стандартном цитогенетическом исследовании с использованием GTG-окрашивания у всех пациенток выявлен мозаичный кариотип с двумя клеточными линиями, один клон с X моносомией (45,X), другой – с наличием кольцевой X-хромосомы 46,X,r(X)(p22.3q28). Методом флуоресцентной *in situ* гибридизации установлено, что в лимфоцитах периферической крови и в клетках буккального эпителия у всех пациенток присутствует мозаицизм X/X,r(X). Количество клеток, содержащих кольцевую хромосому X, в лимфоцитах пациенток сходно (8–11%), а в буккальном эпителии варьируемо (26–47%). Анализ инактивации X-хромосомы (XCI), выполненный матери и ее старшей дочери, позволил установить, что кольцевая хромосома X преимущественно инактивирована. Все три пациентки имеют схожий фенотип с характерными для СШТ признаками. Однако репродуктивная функция, по крайней мере, у матери и ее старшей дочери сохранена. Обсуждаются тканевая вариабельность гоносомного мозаицизма и семейные случаи СШТ с кольцевой хромосомой X из литературы.

**Ключевые слова:** кольцевая хромосома, мозаицизм, моносомия, синдром Шерешевского-Тернера, X-хромосома.

**Для цитирования:** Опарина Н.В., Соловова О.А., Калиненкова С.Г., Латыпов А.Ш., Близнец Е.А., Степанова А.А., Черных В.Б. Семейный случай мозаичного варианта синдрома Шерешевского-Тернера с кольцевой X хромосомой. *Медицинская генетика* 2019; 18(11): 36-45.

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2019.11.36-45

**Автор для корреспонденции:** Черных Вячеслав Борисович; **e-mail:** chernykh@med-gen.ru

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания Минобрнауки России.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

**Поступила:** 29.11.2019.

## Family case of mosaic variant of Turner syndrome with ring X chromosome

Oparina N.V.<sup>1</sup>, Solovova O.A.<sup>1,2</sup>, Kalinenkova S.G.<sup>1</sup>, Latypov A.Sh.<sup>1</sup>, Bliznets E.A.<sup>2</sup>, Stepanova A.A.<sup>2</sup>, Chernykh V.B.<sup>2</sup>

1 — Moscow Regional Research and Clinical Institute  
Moscow, Russia

2 — Research Centre for Medical Genetics  
Moscow, Russia

The article presents a clinical case of Turner syndrome (TS) in a mother and her two daughters. Standard cytogenetic examination using by GTG-staining technique found mosaic karyotype with two cell lines, one clone with monosomy X (45,X) and other one with ring X-chromosome – 46,X,r(X)(p22.3q28). Fluorescent *in situ* hybridization revealed gonosomal mosaicism mos X/X,r(X) in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells in all patients. There number of cells containing ring X chromosome were similar in lymphocytes (8-11%), and were more varied in buccal epithelium (26-47%) between patients. Analysis of X chromosome inactivation (XCI), performed in the mother and her eldest daughter, revealed skewed inactivation of ring X chromosome. The patients had a similar phenotype signs characterized to Turner syndrome, but fertility was preserved at least in the mother and her eldest daughter. Reported in the literature familial TS cases with ring X chromosome are reviewed.

**Key words:** ring chromosome, mosaicism, monosomy, Turner syndrome, X chromosome.

**For citation:** Oparina N.V., Solovova O.A., Kalinenkova S.G., Latypov A.Sh., Bliznets E.A., Stepanova A.A., Chernykh V.B. Family case of mosaic variant of Turner syndrome with ring X chromosome. *Medical genetics* 2019; 18(11): 36-45 [In Rus]

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2019.11.36-45

**Corresponding author:** Chernykh Vyacheslav; **e-mail:** chernykh@med-gen.ru

**Funding.** The study was carried out within the state assignment of the Ministry of Education and Science of Russia.

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

**Accepted:** 29.11.2019

## Введение

**С**индром Шерешевского-Тернера (СШТ) — одно из самых частых хромосомных заболеваний у человека, вызван различными аномалиями в системе половых хромосом, связанными с полной или сегментарной X-моносомией [1–3]. Заболевание встречается с частотой 1 на 2000–2500 рожденных живыми девочек [1, 2]. Фенотипическая картина СШТ характеризуется широким спектром симптомов, из которых основными являются низкий рост, дисгенезия гонад, аменорея и бесплодие, а также наличием различных стигм дизэмбриогенеза, таких как: общая диспластичность с неправильным типом телосложения, бочкообразная грудная клетка, сосковый гипертелоризм, укорочение шеи, крыловидные складки, низкий рост волос на шее, высокое («готическое») нёбо, деформация ушных раковин, укорочение метакарпальных и метатарзальных костей и аплазия фаланг, деформация локтевых суставов, множественные невусы, лимфостаз, пороки развития почек, сердца и крупных сосудов, повышенное артериальное давление [1–3]. Количество и выраженность признаков варьируют и, в определенной мере, зависят от цитогенетического варианта СШТ, наличия и выраженности гоносомного мозаицизма. Большинство пациенток с СШТ страдают первичным бесплодием, поэтому семейные случаи очень редки. Наступление беременности отмечено у 5–6% пациенток с СШТ [4, 5]. Основными факторами сохранности репродуктивной функции являются мозаичные варианты кариотипа при наличии спонтанного менархе. За исключением этих редких случаев у пациенток с СШТ наблюдается аменорея вследствие нарушения дифференцировки и развития яичников, приводящего к отсутствию или снижению количества примордиальных фолликулов и созревающих ооцитов, повышенной частоте анеуплоидии в ооцитах, гипергонадотропному гипогонадизму и гипоплазии матки.

Мозаицизм с широким спектром вариантов гоносомного дисбаланса встречается у 54% пациенток с СШТ. Частыми (41%) являются варианты со структурно измененной X-хромосомой, такие как изохромосома X по длинному плечу  $i(Xq)$  — 18%, кольцевая хромосома X  $r(X)$  — 16%, делеция короткого плеча хромосомы X  $del(Xp)$  — 5% [2]. При сегментарной X-моносомии, возникшей в результате несбалансированной структурной аномалии X-хромосомы, и/или при наличии мозаицизма по хромосоме X, в том числе скрытого (межтканевого или гонадного), фолликулогенез и вызревание ооцитов могут быть частично сохранены, поэтому такие пациентки могут сохранять фертильность [4, 5]. Однако овариальный резерв у них зна-

чительно снижен, гормональный фон изменен, что и приводит к раннему наступлению менопаузы [3]. В научной литературе имеются немногочисленные описания случаев СШТ у родственников. Семейные случаи СШТ с наличием в кариотипе кольцевой хромосомы X крайне редки [6–12].

В настоящей статье описан семейный случай СШТ с наличием мозаицизма по кольцевой хромосоме X у матери и двух ее дочерей. Обсуждаются тканевая вариабельность гоносомного мозаицизма и аналогичные случаи из литературы.

## Клинический случай

Пробанд — пациентка с СШТ (старшая дочь), 32 года (табл. 1), обратилась для медико-генетического консультирования по поводу первичного бесплодия в браке предположительно из-за нарушения проходимости маточных труб. В связи с этим запланировано проведение программы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). При стандартном цитогенетическом исследовании выявлен мозаичный вариант СШТ с кольцевой хромосомой X. Кариотип пробанда определен как  $mos45,X[35]/46,X,r(X)(p22.3q28)$  [7]. Такой же вариант мозаицизма выявлен у сибса (младшей родной сестры) и матери пробанда (табл. 1). Все три пациентки имеют идентичные фенотипические проявления: низкий рост, в целом пропорциональное феминное телосложение с оволосением по женскому типу, короткую шею, широкую, бочкообразную грудную клетку, нормальный интеллект.

В акушерском анамнезе у матери пробанда отмечено 9 беременностей, наступивших естественным путем, из которых две завершились срочными родами (дочери с СШТ), 6 беременностей самопроизвольно прервались в первом триместре, и одна — искусственно прервана медицинским абортom по желанию. Матери на момент рождения старшей и младшей дочерей было 20 и 27 лет, соответственно. Младшая дочь (сестра пробанда, 25 лет) на момент обследования не была замужем, беременностей не имела, статус её фертильности неизвестен.

После обследования, в ходе подготовки к программе ЭКО, у старшей дочери в возрасте 33 лет наступила беременность естественным путем. На момент последнего наблюдения срок беременности составил 17 недель. По данным УЗИ-исследования: плод мужского пола без грубых пороков развития. От пренатального инвазивного обследования плода пациентка отказалась.

## Методы

Проведено стандартное цитогенетическое исследование (СЦИ) 72-часовой ФГА-стимулированной

культуры лимфоцитов периферической крови с последующим использованием GTG-окрашивания в соответствии с общепринятым протоколом. Анализировали 42–46 метафазных пластинок каждой пациентки. Формула кариотипа записана согласно действующей Международной цитогенетической номенклатуре ISCN [13].

Флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) проводили на интерфазных ядрах некультивируемых и культивируемых лимфоцитов периферической крови и на интерфазных ядрах клеток буккального эпителия согласно общепринятому стандартному протоколу [14]. Для уточнения мозаицизма и расположения точек разрыва выполняли FISH с ДНК-зондом для центрального региона X-хромосомы (СЕР X/DXZ1, локус Xp11.1-q11.1) и с локус-специфичным ДНК-зондом (Kallmann syndrome interval gene-1, LSI KAL, локус Xp22.3), соответственно (Vysis, Abbott Molecular). Количество исследованных ядер для каждого образца составило от 45 до 110. Гибридизационные сигналы визуализировали на микроскопе Nikon Eclipse Ci (Nikon Corporation, Япония), используя программное обеспечение LUCIA Cytogenetics – FISH (LUCIA Cytogenetics, Чехия).

*Исследование инактивации X-хромосомы* выполняли, анализируя паттерн метилирования гена андрогенового рецептора (*AR/HUMARA*) в лимфоцитах периферической крови адаптированным вариантом метода метил-чувствительной ПЦР, впервые предложенного Allen и соавт. [15] и модифицированного Bolduc и соавт. [16]. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием набора реактивов Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, США) согласно протоколу производителя. Перед ПЦР 250–500 нг геномной ДНК инкубировали с 20 ед. активности метил-чувствительной эндонуклеазы *HpaII* (Fermentas, Литва) в 1× буфере в объеме реакционной смеси 25 мкл в течение 20 час. Далее выполняли амплификацию фрагментов ДНК методом ПЦР в пробирках (с ДНК, необработанной и обработанной *HpaII*) на термоциклере МС2 (ДНК-технология, Россия). Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 50–100 нг геномной ДНК в одной пробирке, либо 5 мкл реакционной смеси ДНК с *HpaII* после инкубации в другой пробирке; по 0,25 мкМ каждого олигопрайма (нуклеотидная последовательность из работы Allen et al., 1992 [15]), обратный праймер, меченный флуоресцентным красителем (SYNTOL, Россия); по 200 мкМ каждого нуклеозидтрифосфата; 1 ед. акт. ДНК-полимеразы Biotaq (БиоМастер, Россия); буфер для ПЦР (67 мМ Tris-HCl; 16,6 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; MgCl<sub>2</sub> 2 мМ, 0,01% Twin-20; рН 8.8); 20–30 мкл минерально-

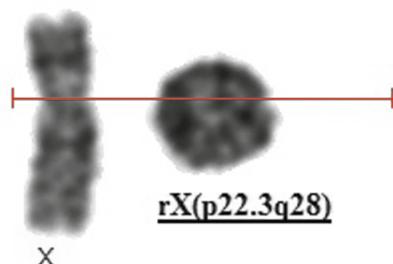
го масла. Проводили 28 циклов амплификации в следующем температурном режиме: 94°C – 45 с, 65°C – 45 с и 72°C – 45 с. Фрагменты ДНК, полученные в ходе ПЦР, анализировали на приборе «3130 ABI genetic analyzer» (Applied Biosystems, США). Амплитуду и площадь под кривой интенсивности флуоресценции оценивали с использованием программного обеспечения Genemapper (Applied Biosystems, США), применяя формулу, описанную ранее [16]. Процентное соотношение активной и инактивированной X-хромосом (XCI ratio) определяли, учитывая наличие гоносомного мозаицизма и соотношение долей клеток линий, несущих только нормальные хромосомы X и клеток, несущих одну нормальную и одну кольцевую хромосомы X. Для этого значение XCI для геномной ДНК (т.е. без учета мозаицизма) пересчитывали пропорционально соотношению долей в геномной ДНК нормальной и перестроенной хромосомы X.

Число СAG-повторов определяли путем сравнения с контрольными образцами ДНК, в которых число повторов предварительно установлено методом секвенирования по Сэнгеру. Для секвенирования применяли набор реактивов ABI Dye Terminator, version 1 (Applied Biosystems) с последующим анализом на приборе 3130 ABI genetic analyzer, полученные секвеннограммы анализировали с использованием программного обеспечения Chromas (Technelysium, США).

### Результаты

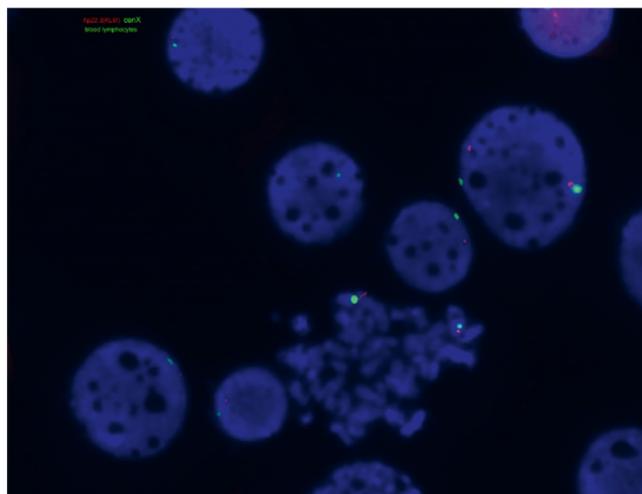
При комплексном молекулярно-цитогенетическом исследовании (СЦИ и FISH), у матери и обеих ее дочерей выявлен кариотип с двумя клеточными линиями, т.е. простой мозаицизм: одна из клеточных линий с моносомией X (клон 45,X), другая с кольцевой хромосомой X в качестве второй половой хромосомы (клон 46,X,r(X)(p22.3q28).ish(DXZ1+,KAL+). Точки разрыва в коротком и длинном плечах кольцевой хромосомы X определены с использованием методов стандартного цитогенетического анализа и имеют предположительную локализацию в локусах Xp22.3 и Xq28, соответственно (рис. 1, 2).

У всех трех пациенток клеточная линия с моносомией X преобладает, т.е. является мажорной, а клеточная линия, несущая кольцевую хромосому X – минорной, как в лимфоцитах, так и в клетках буккального эпителия (табл. 1). При этом у всех трех пациенток отмечено некоторое различие в представленности клеточных линий между исследованными тканями. Количество клеток, несущих кольцевую хромосому X, в лимфоцитах варьирует от 8% (у матери) до 26,1% (у младшей дочери), а в клетках буккального эпите-



**Рис. 1.** Нормальная и кольцевая X-хромосомы, выявленные при стандартном цитогенетическом исследовании у матери и ее дочерей (GTG-метод окрашивания).

лия – от 25,8% (у матери) до 47,1% (у младшей дочери). Обращает на себя внимание снижение доли (%) клеток с кольцевой хромосомой X и увеличение доли (%) клеток с моносомией X с увеличением возраста пациенток. Клеточная линия с кариотипом 45,X наиболее выражена у матери пробанда в обеих исследованных тка-



**Рис. 2.** Результаты метафазной и интерфазной FISH с ДНК-зондами на лимфоцитах периферической крови: CEP X (зеленый сигнал) и LSI KAL (красный сигнал). Выявлен мозаицизм по кольцевой X-хромосоме с наличием двух клеточных линий: 45,X и 46,X.

Таблица 1

**Фенотипическая характеристика и результаты комплексного цитогенетического обследования матери и двух ее дочерей с СШТ**

Пациент	Мать	Старшая дочь (пробанд)	Младшая дочь
Возраст	52 лет	32 года	25 лет
Статус фертильности	фертильна (в анамнезе)	фертильна	?
Возраст менархе	14 лет	16 лет	16 (гормонально-индуцированное)
Беременности в анамнезе	9 (родов – 2, спонтанный аборт – 6, медицинский аборт – 1)	1 (в настоящее время, срок 17 недель)	Не было
Рост	140 см	148 см	141 см
Вес	52 кг	38 кг	40 кг
Общий фенотип	Правильное телосложение и оволосение по женскому типу	Правильное телосложение и оволосение по женскому типу	Правильное телосложение и оволосение по женскому типу
Дисгенезия гонад	нет	нет	нет
Другие признаки СШТ	Короткая шея, широкая, бочкообразная грудная клетка	Короткая шея, широкая, бочкообразная грудная клетка	Короткая шея, широкая, бочкообразная грудная клетка
Интеллект	Норма	Норма	Норма
Кариотип по данным стандартного цитогенетического исследования и результатам FISH			
Культированные лимфоциты	mos45,X[39]/46,X,r(X)(p22.3q28) [5]. ish (DXZ1+,KAL+)	mos45,X[35]/46,X,r(X)(p22.3q28) <i>mat</i> [7]. ish (DXZ1+KAL+)	mos45,X[34]/46,X,r(X)(p22.3q28) <i>mat</i> [12]. ish(DXZ1+,KAL+)
Некультивированные лимфоциты (FISH)	nuc ish (DXZ1×1)[46]/(DXZ1×2) [4]	nuc ish (DXZ1×1)[100]/(DXZ1×2)[10]	nuc ish (DXZ1×1)[67]/(DXZ1×2) [8]
Клетки буккального эпителия (FISH)	nuc ish (DXZ1×1)[72]/(DXZ1×2) [25]	nuc ish (DXZ1×1)[27]/(DXZ1×2) [18]	nuc ish (DXZ1×1)[46]/(DXZ1×2) [41]
Количество клеток, несущих кольцевую X-хромосому	8,0–11,4% (лимфоциты) 25,8% (буккальный эпителий)	9,1–16,7% (лимфоциты) 40% (буккальный эпителий)	10,7–26,1% (лимфоциты) 47,1% (буккальный эпителий)

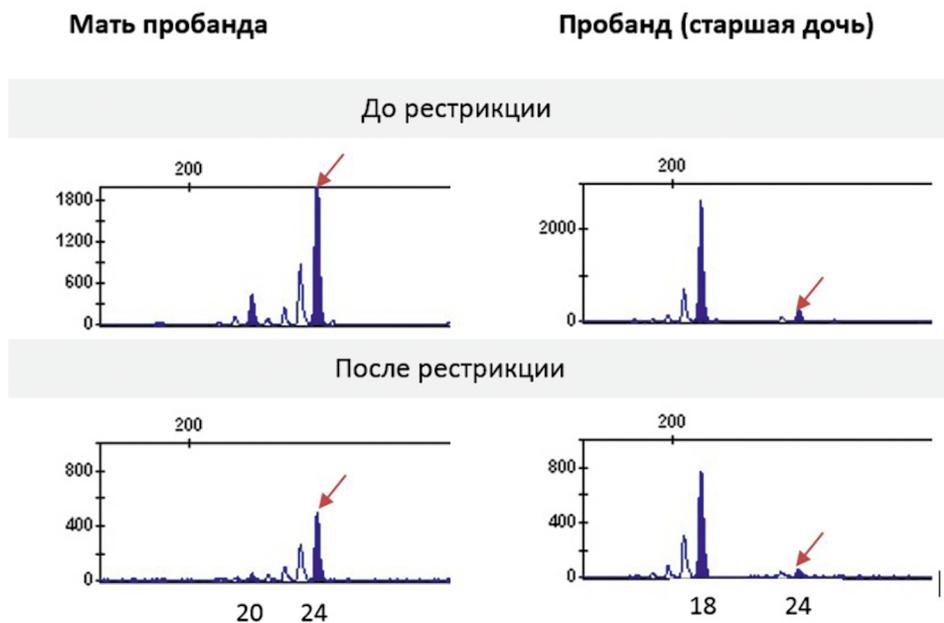
нях (92% в лимфоцитах и 74% в буккальном эпителии) и наименее выражена у младшей дочери (89% в лимфоцитах и 53% в буккальном эпителии). У младшей дочери в клетках буккального эпителия клоны с моносомией X и с кольцевой хромосомой X представлены в 53% и 47% клеток, соответственно. У пробанда соотношение клеточных линий 45,X и 46,X,r(X) в лимфоцитах и клетках буккального эпителия занимает промежуточную позицию между матерью и младшей сестрой — 16,7% (лимфоциты) и 40% (буккальный эпителий).

Исследование инактивации X-хромосомы (ХСІ) выполнено на лимфоцитах периферической крови у пробанда и матери. Исследование CAGn полиморфного локуса в экзоне 1 гена андрогенового рецептора (*AR/HUMARA*) выявило наличие у обеих пациенток двух аллелей, несущих 18 и 24 повтора у пробанда, 20 и 24 повтора у матери. Таким образом, установлено, что на кольцевой X-хромосоме располагается аллель, несущий 24 CAG повтора. Значение X-инактивации (ХСІ) для аллелей гена *AR*, расположенных на нормальной и кольцевой хромосомах X в геномной ДНК (т.е. без учета мозаицизма) составляет: у матери 63%:37% и пробанда 54%:46%, соответственно (рис. 3). Учитывая наличие

гоносомного мозаицизма и представленность в некультивированных лимфоцитах клона, несущего перестроенную хромосому X (8% — у матери и 9% — у пробанда или в 12,5 и 11,1 раза меньше, соответственно, чем при отсутствии мозаицизма), соотношение инактивации перестроенной и нормальной хромосом X у матери пробанда может быть оценено как 88%:12%, а у пробанда (старшей дочери) — 90,5%:9,5%. Таким образом, у обеих пациенток выявлена неслучайная или преимущественная инактивация кольцевой X-хромосомы.

### Обсуждение

Кольцевая хромосома образуется в результате делеции дистальных участков короткого и длинного плеча, за счет чего возникает сегментарная моносомия [2]. Частота такого цитогенетического варианта составляет 16% от всех кариотипов при СШТ [2, 3]. Фенотип большинства пациенток с кольцевой хромосомой X имеет характерные для СШТ признаки: низкий рост, дисгенезию гонад, аменорею и бесплодие, различные стигмы дизэмбриогенеза (табл. 2) [6–12]. Набор и выраженность фенотипических признаков СШТ зави-



**Рис. 3.** Результаты исследования инактивации хромосомы X по метилированию гена андрогенового рецептора (*AR/HUMARA*) у матери и ее старшей дочери (пробанда). Соотношение ХСІ в геномной ДНК (без учета мозаицизма) составило: у матери— 63%:37% (аллели, несущие 20 и 24 CAG повтора гена *AR*, соответственно), у старшей дочери — 54%:46% (аллели несущие 18 и 24 CAG повтора гена *AR*, соответственно). Пик от аллеля с 24 CAG повторами, маркирующего кольцевую X-хромосому, указан стрелкой.

Таблица 2

## Семейные случаи СШТ с кольцевой хромосомой X, описанные в литературе

Пациент	Возраст, лет	Кариотип	Инактивация X-хромосомы (ХСИ)	Умственная отсталость	Возраст к моменту родов, лет	Менструальная функция	Литература
Бабушка	54	mos 45,X[14]/46,XX[2]/46,X,r(X)[3] (JI)	Не исследована	Нет	21	Не указано	Priest et al., 1975
Мать	33	mos 45,X[108]/46,X,r(X)[19] (JI) 45,X[41](ФК)	Не исследована	Нет	25	Не указано	
Дочь	8	mos 45,X[117]/46,X,i(Xq)[88] (JI) 46,X,i(Xq)[50] (ФК)	Не исследована	Нет?	–	–	
Мать	38	mos 45,X[366]/46,X,r(X)(p13q27)[63]/47,X,r(X)(p13q27),r(X)(p13q27)[2] (JI) mos 45,X[23]/46,X,r(X)(p13q27)[19] (ФК)	Случайная	Нет	24	Менопауза в 29 лет	Dall'acqua et al., 1980
Дочь	13	mos 45,X[306]/46,X,r(X)(p13q27)[130] (JI) mos 45,X[34]/46,X,r(X)(p13q27)[28] (ФК)	Случайная	Нет	–	Менархе в 12 лет	
Мать	38	45,X (JI, БЭ) mos 45,X(85%)/46,X,r(X)(15%) (ФК)	Не исследована	Нет	25	Регулярный цикл	Muasher et al., 1980
Дочь	18	45,X (JI, БЭ, ФК)	Не исследована	Нет	–	Менархе в 15 лет	
Родная сестра матери	46	mos 45,X[25]/46,X,r(X)[20]/46,X,der(X)(Xqter-Xq22::Xp22-Xqter) [70] (JI)	Не исследована	Нет	–	Менархе в 13 лет, менструации прекратились в 17 лет	Turkus et al., 1989
Мать (без СШТ)	37	mos 46,XX[259]/45,X[3]/46,X,r(X)[3]/46,X,der(X)(Xqter-Xq22::Xp22-Xqter) [1] (JI)	Не исследована	Нет	31	Менархе в 13 лет, регулярный цикл	
Дочь	5	mos 45,X[135]/46,X,r(X)[133]/46,X,der(X)(Xqter-Xq22::Xp22-Xqter) [5] (JI)	Не исследована	Нет	–	–	
Мать	27	mos 45,X/46,X,r(X)(p22q24) (JI)	Не исследована	Нет	24	Нерегулярный цикл	Blumenthal et al., 1997
Дочь	1	mos 45,X/46,X,r(X)(p22q24) (JI)	Не исследована	?	–	–	
Мать	32	mos 45,X[48]/46,X,r(X)(p22.3q27)[2] (JI) mos 45,X[37]/46,X,r(X)(p22.3q27)[13] (ФК) mos 45,X[29]/46,X,r(X)(p22.3q27)[21] (JI) mos 45,X[33]/46,X,r(X)(p22.3q27) [17] (JI из пуповинной крови плода, 29 неделя гестации)	Не исследована	Нет	32	Регулярный цикл	Uehara et al., 1997
Дочь новорожденная	новорожденная		Не исследована	–	–	–	
Мать	36	mos 45,X(70%)/46,X,r(X)(30%) (JI)	Не исследована	Нет	26	Не указано	Tarani L. et al., 1998
Дочь	10	mos 45,X(70%)/46,X,r(X)(30%) (JI)	Не исследована	Нет	–	–	
Мать	35	mos 45,X[97]/46,X,r(X)(p22.3q28)[3] (JI)	Не исследована	Да	32	Регулярный цикл	Matsuo M. et al., 2000
Дочь	4	mos 45,X[73]/46,X,r(X)(p22.3q28)[27] (JI) mos 45,X[11]/46,X,r(X)(p22.3q28)[89] (БЭ)	Случайная	Да	–	–	

Продолжение табл. 2 см. на стр. 43

Таблица 2

Семейные случаи СШТ с кольцевой хромосомой X, описанные в литературе

Пациент	Возраст, лет	Кариотип	Инактивация X-хромосомы (XCI)	Умственная отсталость	Возраст к моменту родов, лет	Менструальная функция	Литература
Мать	52	mos 45,X[39]/46,X,r(X)(p22.3q28)[5](Л) pic ish (DXZ1 × 1)[72]/(DXZ1 × 2)[25](БЭ)	Неслучайная	Нет	20 и 27	Менопауза в 40 лет	Настоящее исследование
Старшая дочь	32	mos 45,X[35]/46,X,r(X)(p22.3q28)mat[7](Л) pic ish (DXZ1 × 1)[27]/(DXZ1 × 2)[18](БЭ)	Неслучайная	Нет	–	Менархе в 16 лет, регулярный цикл	
Младшая дочь	25	mos 45,X[34]/46,X,r(X)(p22.3q28)mat[12](Л) pic ish (DXZ1 × 1)[46]/(DXZ1 × 2)[41](БЭ)	Не исследована	Нет	–	Менархе в 16 лет, регулярный цикл (на гормональной терапии)	

Примечания: Л – лимфоциты, БЭ – буккальный эпителий, ФК – фибробласты кожи.

сят как от представленности в тканях клеточных линий с моносомией X, так и от размеров делетированных участков на коротком (p) и длинном (q) плечах кольцевой хромосомы X, а также состава генов, утраченных при ее формировании. Кроме того, для формирования фенотипической картины имеет значение наличие других клеточных линий, например, с дополнительными последующими аномалиями хромосомы X (при динамическом мозаицизме, характеризующемся наличием клеток, имеющих различные аномалии в aberrантной хромосоме) [17], либо без таковых, например, с нормальным женским набором гоносом (46,XX). У пациенток со сверхчисленной кольцевой хромосомой X в минорном клоне, при преобладании эуплоидной (46,XX) клеточной линии в кариотипе фенотипические признаки СШТ могут отсутствовать. Однако и в этом случае в литературе описана возможность передачи кольцевой хромосомы X потомству и моносомия X у дочерей [12]. Наследование СШТ в семейных случаях с кольцевой хромосомой X обусловлено ее передачей по материнской линии. Согласно имеющимся у нас сведениям, в научной литературе представлены 7 статей (табл. 2), в которых описана передача кольцевой хромосомы X от матери детям при наступлении беременности естественным путем. Во всех этих случаях при формировании r(X) регион Xq13–q26 был сохранен и/или присутствовал эуплоидный клон с нормальным женским кариотипом – 46,XX [6–12]. Кроме того, описан единичный случай передачи кольцевой хромосомы X от матери сыну [18].

У всех трех пациенток из обследованной нами семьи выявлен простой мозаицизм с двумя аномальными клеточными клонами, один из которых с моносомией X, а второй – с кольцевой хромосомой X в качестве гомолога. Очевидно, что этот мозаицизм возник в результате постзиготических ошибок при делениях дробления в ходе эмбриогенеза. Кольцевые хромосомы, в том числе хромосома X, характеризуются митотической нестабильностью, что ведет к их элиминации из части клеток эмбриона [2]. У некоторых пациентов из описанных в литературе семейных случаев СШТ с кольцевой хромосомой X, во всех или некоторых исследованных тканях (лимфоциты, буккальный эпителий, фибробласты кожи), кольцевая хромосома X не была обнаружена, а выявлена или регулярная моносомия X (45,X), или кариотип 46,X,i(Xq), или мозаицизм 45,X/46,X,i(Xq) [6, 8]. Однако мозаицизм по кольцевой хромосоме X может быть скрытым, межтканевым. У всех трех обследованных нами пациенток в обеих исследованных тканях (лимфоциты и буккальный эпителий) обнаружены только две клеточные линии. Других клеточных линий, которые бы свидетельствовали

о наличии сложного (с тремя и более клеточными линиями), в том числе динамического мозаицизма, не обнаружено [2, 17].

Так как обе дочери из описанной нами семьи унаследовали кольцевую хромосому X от матери, можно предполагать, что у всех трех пациенток точки разрыва и размер утраченных фрагментов одинаковы. В нашем исследовании точки разрыва установлены при СЦИ на препаратах GTG-окрашенных хромосом, другие методы не применялись. Для подтверждения точек разрыва требуются дополнительные исследования, например, хромосомный микроматричный анализ (ХМА) или секвенирование ДНК. Однако, применение этих методик затруднено и может оказаться неинформативным из-за низкоуровневого мозаицизма.

В семейном случае СШТ у матери и дочери со сниженным интеллектом, сообщенном Matsuo и соавт. [11], точки разрыва на кольцевой хромосоме X определены как r(X)(p22.3q28), т.е. аналогичны таковым в описываемом нами семейном случае (табл. 2). В кариотипе лимфоцитов периферической крови у обеих пациенток преобладал клеточный клон 45,X, в буккальном эпителии у дочери – клон с кольцевой хромосомой X [11]. Результаты FISH и микросателлитного анализа выявили делецию размером около 12 млн п.н. из локуса Xp22.3 с точкой разрыва между маркерами DXS85 и DXS9972 и менее 100 т.п.н. из локуса Xq28 на кольцевой хромосоме X. Исследование лайонизации показало, что нормальная и кольцевая хромосомы X у обеих пациенток были инактивированы случайным образом. Утраченная часть локуса Xp22.3 частично перекрывалась с регионами MRX19, MRX21, MRX24, MRX37, MRX43 и MRX49, ассоциированными с рецессивной X-сцепленной умственной отсталостью. Вероятно, что один или несколько из этих MRX-генов, отсутствовал на кольцевой хромосоме X, и именно снижение экспрессии MRX-гена(ов), вызванное случайной X-инактивацией, привело к умственной отсталости у пациенток с СШТ, описанных Matsuo и соавт. [11].

У пациенток из описанной нами семьи на кольцевой хромосоме X, по-видимому, утерян ген *SHOX* (Short stature homeobox gene on X chromosome), расположенный в дистальной части региона PAR1 (псевдоаутосомного региона 1) в локусе Xp22.33 (GRCh38: X:624343-659410 п.н.) между маркерами DXYS130 и DXYS153 и связанный с низким ростом. Очевидно, что пациентки из описанной нами семьи имеют выраженный дефицит роста вследствие этого и/или вследствие наличия мозаичной моносомии X. На длинном плече точки разрыва расположены дистальнее локусов, связанных с нарушением оогене-

за и развитием синдрома преждевременной недостаточности яичников (СПНЯ, *premature ovarian failure, POF*). Образование кольцевой хромосомы X произошло с потерей очень небольшого количества генетического материала ее короткого и длинного плеч, поэтому, обнаруженный нами цитогенетический вариант СШТ близок к варианту mos45,X/46,XX. Можно предположить, что в обследованной нами семье основной вклад в формирование фенотипа СШТ (за исключением низкого роста) вносит наличие и выраженность в тканях-мишенях клеточной линии с кариотипом 45,X. Сохранение репродуктивной функции, несмотря на преобладание клона с моносомией X в обеих исследованных тканях, (лимфоциты и буккальный эпителий), может быть объяснено вариативностью соотношения клеточных линий в разных тканях, в частности, большей представленностью клона 46,X,r(X) в яичниках. Обращает на себя внимание элиминация кольцевой хромосомы X и увеличение количества клеток с моносомией X с увеличением возраста пациенток. В описанных в литературе семейных случаях СШТ, у пациенток старшего возраста также отмечено преобладание клона с кариотипом 45,X, более выраженное в лимфоцитах, чем в буккальном эпителии [19].

Еще одним фактором, оказывающим влияние на экспрессию X-сцепленных генов и на формирование фенотипа СШТ, является лайонизация – инактивация хромосомы X (XCI, X chromosome inactivation) [16]. Преимущественная инактивация структурно аномальной хромосомы X является более благоприятной, а выборочная инактивация нормальной хромосомы X может снизить экспрессию расположенных на ней генов и усилить фенотипические проявления моносомии X. У пациентов с небольшими по размеру кольцевыми хромосомами X, в которых утрачен центр инактивации – XCI (локус Xq13.2), повышена экспрессия сохранившихся на этой хромосоме X-сцепленных генов. У них часто отмечают умственную отсталость, пороки развития, фенотип, характерный для синдрома Кабуки [2, 20]. В описанных в литературе семейных случаях СШТ с кольцевой хромосомой X, представленных в табл. 2, выявлен случайный характер лайонизации [11]. Следует отметить, что дистальная часть короткого плеча хромосомы X, в частности, гены региона PAR1 (псевдоаутосомного региона 1), например, ген *SHOX*, не подвергается инактивации на гоносомах, а гены региона PAR2 (псевдоаутосомного региона 2) подвержены инактивации как на X, так и на Y-хромосоме. Поэтому, утрата дистальной части короткого плеча хромосомы X влияет на экспрессию расположенных в ней генов, в частности гена *SHOX*, и выборочный (преимущественный) характер X-инактивации в случае круп-

ных кольцевых хромосом X с сохранением генов/локусов, подверженных лайонизации (без дополнительных X-сцепленных мутаций), не должен изменять количество их активных копий. В отличие от этого, в случае преимущественной инактивации перестроенной хромосомы X при потере на кольцевой хромосоме X генов, подверженных лайонизации, фенотипические изменения могут быть более выражены. В тех семейных случаях СШТ с кольцевой хромосомой X, в которых выполнен анализ X-инактивации, выявлен случайный (не выборочный) характер лайонизации [7, 11]. В отличие от них, у обследованных нами пациенток наблюдается выборочный (неслучайный) тип инактивации хромосомы X.

В описанной нами семье, по крайней мере, две из трех женщин с кольцевой хромосомой X, сохранили фертильность. Примечательно, что у матери, имеющей наибольшую выраженность клеточной линии с моносомией X в обеих исследованных тканях, в анамнезе отмечено 9 беременностей, наступивших естественным путем. Это говорит о ее высоком фертильном потенциале в молодом, репродуктивном возрасте. Наступление у проба (старшей дочери) спонтанной беременности после постановки диагноза свидетельствует о том, что ее репродуктивная функция так же сохранена, но, возможно, фертильность ниже, чем у матери. У младшей дочери статус фертильности неизвестен, поскольку наступление беременностей не отмечено. На момент обследования она не планировала деторождения, не вела регулярную половую жизнь без предохранения в течении 1 года или более (критерий постановки диагноза бесплодия). Однако то, что у нее регулярные менструации отмечаются только на фоне заместительной гормонотерапии, указывает на нарушение овуляторной функции, снижение фертильности и вероятность возникновения репродуктивных проблем при планировании беременности.

Помимо представленного нами семейного случая СШТ, связанного с кольцевой хромосомой X, в литературе описано еще 7 случаев, в которых выявлен аналогичный вариант хромосомы X в двух или трех поколениях одной семьи [6–12]. Наличие трех или большего числа беременностей в анамнезе описано у 7 из 27 пациенток с мозаицизмом по кольцевой хромосоме X [5]. Среди женщин с СШТ с сохраненной фертильностью, в 29% случаев беременности закончились самопроизвольным абортom, в 7% случаев – наступила перинатальная гибель плода, а в 20% случаев беременность закончилась родами детей с хромосомными аномалиями (с синдромами Шерешевского-Тернера, Дауна и др.), и только в 38% случаев – рождением здоровых детей [4]. В описанных в литературе семейных случаях СШТ с наличием кольцевой хромосомы X отмечена ге-

терогенность сохранения фертильности, овуляторной функции и регулярности менструаций. Возраст менархе при этом варьирует от 12 до 16 лет, а наступление менопаузы – от 17 до 40 лет (табл. 2). Подобные различия отмечены, в том числе у пациентов в пределах одной семьи. Преобладающий, эуплоидный (46,XX) клон при низком уровне клеток с кольцевой хромосомой X и с моносомией X, может объяснить отсутствие фенотипа СШТ у некоторых пациентов. Следует также учитывать, что фенотипические различия, помимо разного соотношения клонов 45,X и 46,X,r(X) в гонадах и в других тканях, локализации точек разрыва и характера X-инактивации, могут быть обусловлены и различиями в генетическом фоне, в частности, сочетаниями аллельных вариантов аутосомных и X-сцепленных генов и локусов, контролирующих развитие и функцию женской репродуктивной системы.

### Заключение

Фертильность у некоторых женщин с кольцевой X-хромосомой в кариотипе, в частности, при мозаицизме 45,X/46,X,r(X), может быть сохранена. Это связано с сохранением на кольцевой хромосоме X POF регионов, содержащих гены, необходимые для оогенеза, или с наличием эуплоидного клона 46,XX. Передача от матери детям митотически нестабильной, перестроенной хромосомы X приводит к последующей ее элиминации из части клеток, и, как следствие, к возникновению мозаицизма X/X,r(X) и фенотипа СШТ у дочерей. Несмотря на сохраненные оогенез и фертильность у таких пациенток наступает ранняя менопауза, как и у пациенток с СПНЯ, а также повышен риск невынашивания беременности и рождения ребенка с несбалансированным кариотипом. Поэтому таким пациенткам необходимо проведение медико-генетического и репродуктологического консультирования, по возможности, раннее планирование деторождения. Для решения проблемы деторождения им рекомендуется использовать методы вспомогательной репродукции с проведением дородовой генетической диагностики.

### Список литературы

1. Баранов В.С., Кузнецова Т.В. Цитогенетика эмбрионального развития человека. СПб: Издательство Н-Л, 2006. 640 с.
2. McKinlay Gardner R.J., Amor David J. Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling, 5th ed. Oxford University Press, 2018, 340-348, 634 pp.
3. Sybert V.P., McCauley E. Turner's syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351(12): 1227-1238. DOI: 10.1056/NEJMra030360
4. Tarani L., Lampariello S., Raguso G. et al. Pregnancy in patients with Turner's syndrome: six new cases and review of literature. *Gynecol. Endocrinol.* 1998; 12(2): 83-87.

- DOI: 10.3109/09513599809024955
- Bernard V., Donadille B., Zenaty D. et al. Spontaneous fertility and pregnancy outcomes amongst 480 women with Turner syndrome. *Hum. Reprod.* 2016; 31(4): 782-788. DOI: 10.1093/humrep/dew012
  - Priest J.H., Blackston R.D., Au K.S., Ray S.L. Differences in human X isochromosomes. *J. Med. Genet.* 1975; 12(4): 378-389. DOI: 10.1136/jmg.12.4.378
  - Dallapiccola B., Bruni L., Boscherini B. et al. Segregation of an X ring chromosome in two generations. *J. Med. Genet.* 1980; 17(4): 306-308. DOI: 10.1136/jmg.17.4.306
  - Muasher S., Baramki T.A., Diggs E.S. Turner phenotype in mother and daughter. *Obstet. Gynecol.* 1980; 56(6): 752-576.
  - Blumenthal A.L., Allanson J.E. Turner syndrome in a mother and daughter: r(X) and fertility. *Clin. Genet.* 1997; 52(3): 187-191. DOI: 10.1111/j.1399-0004.1997.tb02543.x
  - Uehara S., Nata M., Obara Y. et al. A Turner syndrome woman with a ring X chromosome [45,X,r(X)(p22.3q27)] whose child also had a ring X chromosome. *Fertil. Steril.* 1997; 67(3): 576-579. DOI: 10.1016/s0015-0282(97)80091-x
  - Matsuo M., Muroya K., Nanao K. et al. Mother and daughter with 45,X/46,X,r(X)(p22.3q28) and mental retardation: analysis of the X-inactivation patterns. *Am. J. Med. Genet.* 2000; 91(4): 267-272. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8628\(20000410\)91:4<267::AID-AJMG5>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8628(20000410)91:4<267::AID-AJMG5>3.0.CO;2-J)
  - Tyrkus M., Hoffman W.H., Kraemer-Flynn K.M. X chromosome instability associated with familial Turner syndrome. *Clin. Genet.* 1989; 35(2): 111-115. DOI: 10.1111/j.1399-0004.1989.tb02914.x
  - ISCN 2016: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016). Editors: McGowan-Jordan J., Simons A., Schmid M. Basel, New York, Karger, 2016. Reprint of Cytogenet. Genome Res. 2016; 149 (1-2). 140pp.
  - Рубцов Н.Б. Методы работы с хромосомами млекопитающих: учебное пособие. Новосибирск: 2006. Издательство: Новосибирский государственный университет. 147 с.
  - Allen R.C., Zoghbi H.Y., Moseley A.B. et al. Methylation of HpaII and HhaI sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. *Am. J. Hum. Genet.* 1992; 51(6): 1229-1239.
  - Bolduc V., Chagnon P., Provost S. et al. No evidence that skewing of X chromosome inactivation patterns is transmitted to offspring in humans. *J. Clin. Invest.* 2008; 118(1): 333-341. DOI: 10.1172/JCI33166
  - Gutiérrez-Angulo M., Lazalde B., Vasquez A.I. et al. del(X)(p22.1)/r(X)(p22.1q28) Dynamic mosaicism in a Turner syndrome patient. *Ann. Genet.* 2002; 45(1): 17-20. DOI: 10.1016/s0003-3995(02)01109-7
  - Ellison J.W., Tekin M., Sikes K.S. et al. Molecular characterization of a ring X chromosome in a male with short stature. *Hum. Genet.* 2002; 110(4): 322-326. DOI: 10.1007/s00439-002-0685-7
  - Guttenbach M., Koschorz B., Bernthaler U. et al. Sex chromosome loss and aging: in situ hybridization studies on human interphase nuclei. *Am. J. Hum. Genet.* 1995; 57(5): 1143-1150.
  - Stankiewicz P., Thiele H., Giannakudis I. et al. Kabuki syndrome-like features associated with a small ring chromosome X and XIST gene expression. *Am. J. Med. Genet.* 2001; 102(3): 286-292. DOI: 10.1002/ajmg.1462
  - McKinlay Gardner R.J., Amor David J. Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling, 5th ed. Oxford University Press, 2018, 340-348, 634 pp.
  - Sybert V.P., McCauley E. Turner's syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351(12): 1227-1238. DOI: 10.1056/NEJMra030360
  - Tarani L., Lampariello S., Raguso G. et al. Pregnancy in patients with Turner's syndrome: six new cases and review of literature. *Gynecol. Endocrinol.* 1998; 12(2): 83-87. DOI: 10.3109/09513599809024955
  - Bernard V., Donadille B., Zenaty D. et al. Spontaneous fertility and pregnancy outcomes amongst 480 women with Turner syndrome. *Hum. Reprod.* 2016; 31(4): 782-788. DOI: 10.1093/humrep/dew012
  - Priest J.H., Blackston R.D., Au K.S., Ray S.L. Differences in human X isochromosomes. *J. Med. Genet.* 1975; 12(4): 378-389. DOI: 10.1136/jmg.12.4.378
  - Dallapiccola B., Bruni L., Boscherini B. et al. Segregation of an X ring chromosome in two generations. *J. Med. Genet.* 1980; 17(4): 306-308. DOI: 10.1136/jmg.17.4.306
  - Muasher S., Baramki T.A., Diggs E.S. Turner phenotype in mother and daughter. *Obstet. Gynecol.* 1980; 56(6): 752-576.
  - Blumenthal A.L., Allanson J.E. Turner syndrome in a mother and daughter: r(X) and fertility. *Clin. Genet.* 1997; 52(3): 187-191. DOI: 10.1111/j.1399-0004.1997.tb02543.x
  - Uehara S., Nata M., Obara Y. et al. A Turner syndrome woman with a ring X chromosome [45,X/46,X,r(X)(p22.3q27)] whose child also had a ring X chromosome. *Fertil. Steril.* 1997; 67(3): 576-579. DOI: 10.1016/s0015-0282(97)80091-x
  - Matsuo M., Muroya K., Nanao K. et al. Mother and daughter with 45,X/46,X,r(X)(p22.3q28) and mental retardation: analysis of the X-inactivation patterns. *Am. J. Med. Genet.* 2000; 91(4): 267-272. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8628\(20000410\)91:4<267::AID-AJMG5>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8628(20000410)91:4<267::AID-AJMG5>3.0.CO;2-J)
  - Tyrkus M., Hoffman W.H., Kraemer-Flynn K.M. X chromosome instability associated with familial Turner syndrome. *Clin. Genet.* 1989; 35(2): 111-115. DOI: 10.1111/j.1399-0004.1989.tb02914.x
  - ISCN 2016: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016). Editors: McGowan-Jordan J., Simons A., Schmid M. Basel, New York, Karger, 2016. Reprint of Cytogenet. Genome Res. 2016; 149 (1-2). 140pp.
  - Rubtsov N.B. Methods of working with the chromosomes of mammals: textbook. Novosibirsk: 2006. Publisher: Novosibirsk state University. 147 pp. [Rubcov N.B. *Metody raboty s hromosomami mlekopitajushchih: uchebnoe posobie. Novosibirsk: 2006. Izdatel'stvo: Novosibirskij gosudarstvennyj universitet*] (in Russ.)
  - Allen R.C., Zoghbi H.Y., Moseley A.B. et al. Methylation of HpaII and HhaI sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. *Am. J. Hum. Genet.* 1992; 51(6): 1229-1239.
  - Bolduc V., Chagnon P., Provost S. et al. No evidence that skewing of X chromosome inactivation patterns is transmitted to offspring in humans. *J. Clin. Invest.* 2008; 118(1): 333-341. DOI: 10.1172/JCI33166
  - Gutiérrez-Angulo M., Lazalde B., Vasquez A.I. et al. del(X)(p22.1)/r(X)(p22.1q28) Dynamic mosaicism in a Turner syndrome patient. *Ann. Genet.* 2002; 45(1): 17-20. DOI: 10.1016/s0003-3995(02)01109-7
  - Ellison J.W., Tekin M., Sikes K.S. et al. Molecular characterization of a ring X chromosome in a male with short stature. *Hum. Genet.* 2002; 110(4): 322-326. DOI: 10.1007/s00439-002-0685-7
  - Guttenbach M., Koschorz B., Bernthaler U. et al. Sex chromosome loss and aging: in situ hybridization studies on human interphase nuclei. *Am. J. Hum. Genet.* 1995; 57(5): 1143-1150.
  - Stankiewicz P., Thiele H., Giannakudis I. et al. Kabuki syndrome-like features associated with a small ring chromosome X and XIST gene expression. *Am. J. Med. Genet.* 2001; 102(3): 286-292. DOI: 10.1002/ajmg.1462

## References

- Baranov V.S., Kuznetsova T.V. Cytogenetics of human embryonic development: Scientific and practical aspects. St. Petersburg: Publishing N-L, 2006. 640 pp. [Baranov V.S., Kuznetsova T.V. *Citogenetika jembrional'nogo razvitiya cheloveka. SPb: Izdatel'stvo N-L, 2006*] (in Russ.).