

## ВРОЖДЕННЫЙ ГИПОПИТУИТАРИЗМ У ДЕТЕЙ. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

О.С. Берсенева<sup>1</sup>, А.С. Готов<sup>2</sup>, О.С. Готов<sup>2</sup>, Е.А. Серебрякова<sup>2</sup>, Т.Э. Ивашенко<sup>2</sup>, М.Е. Туркунова<sup>1</sup>,  
Е.Б. Башнина<sup>1</sup>, В.С. Баранов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

Для цитирования: Берсенева О.С., Готов А.С., Готов О.С., и др. Молекулярно-генетические характеристики детей с врожденной соматотропной недостаточностью // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2018. – Т. 10. – № 1. – С. 49–54. doi: 10.17816/mechnikov201810149-54

Поступила в редакцию: 02.02.2018

Принята к печати: 14.03.2018

♦ В связи с неоднозначностью в интерпретации результатов стимуляционных тестов при врожденном гипопитуитаризме у детей необходим поиск молекулярно-генетических маркеров заболевания. Методом секвенирования нового поколения (NGS) с помощью технологии «Амплисек» на аппарате IonTorrent (Life technologies, США) проведено исследование кодирующих регионов генов *GH1*, *GHRH*, *GHRHR*, *BTk*, *GHSR*, *PROP1*, *POU1F1*, *HESX1*, *LHX3*, *LHX4*, *SOX3*, *SOX2*, *OTX2*, *GLI2*, *ARNT2*, *ARPC5L*, *DLK1*, *DRD2*, *PAX6*, *RNPC3*, *SHH*, *SPCS2*, *SPCS3*, ассоциированных с соматотропной недостаточностью, у пациентов, состоящих в Регистре больных гипопитуитарным нанизмом города Санкт-Петербурга. Выявлено различие в частоте мутаций у пациентов с множественным дефицитом гормонов аденогипофиза (27,7 %) и у пациентов с изолированной соматотропной недостаточностью (9,6 %). Изучена частота встречаемости мутаций в генах, ассоциированных с врожденным гипопитуитаризмом, у больных с соматотропной недостаточностью, получающих лечение препаратами гормона роста. У 16,3 % больных гипопитуитарным нанизмом (16 из 98) обнаружены мутации в генах, ассоциированных с врожденным гипопитуитаризмом. Наиболее часто диагностируемыми мутациями являются изменения в гене *PROP1*. Молекулярно-генетические исследования у больных с изолированной соматотропной недостаточностью предполагают вероятность наличия редких генетических аномалий генов *GHSR*, *ARNT2*, *BTk*, ассоциированных с низкоростостью, требующих персонализированных клинических подходов. В настоящее время проведение молекулярно-генетического исследования у пациентов с врожденной соматотропной недостаточностью позволяет прогнозировать дальнейшее развитие заболевания и при необходимости корректировать проводимую заместительную терапию.

♦ **Ключевые слова:** врожденный гипопитуитаризм; соматотропная недостаточность; гормон роста; гены *PROP1*, *GH1*, *GHRH*, *BTk*, *GHSR*, *GLI2*, *POU1F1*.

## CONGENITAL HYPOPIUITARISM IN CHILDREN. MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS

O.S. Berseneva<sup>1</sup>, A.S. Glotov<sup>2</sup>, O.S. Glotov<sup>2</sup>, E.A. Serebryakova<sup>2</sup>, T.E. Ivashenko<sup>2</sup>, M.E. Turkunova<sup>1</sup>,  
E.B. Bashnina<sup>1</sup>, V.S. Baranov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup> The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia

For citation: Berseneva OS, Glotov AS, Glotov OS, et al. Molecular genetic characteristics children with growth hormone deficiency. *Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2018;10(1):49-54. doi: 10.17816/mechnikov201810149-54

Received: 02.02.2018

Accepted: 14.03.2018

♦ In connection with the ambiguity in the interpretation of the results of stimulation tests in congenital hypopituitarism, children need to search for molecular genetic markers of the disease. Molecular genetic analysis in patients with congenital hypopituitarism (genes *GH1*, *GHRH*, *GHRHR*, *BTk*, *GHSR*, *PROP1*, *POU1F1*, *HESX1*, *LHX3*, *LHX4*, *SOX3*, *SOX2*, *OTX2*, *GLI2*, *ARNT2*, *ARPC5L*, *DLK1*, *DRD2*, *PAX6*, *RNPC3*, *SHH*, *SPCS2*, *SPCS3*), was carried out by new-generation sequencing (NGS) with "Ampliseq" technology. All patients with congenital hypopituitarism, who are in a special registry of Saint Petersburg, were included in this study. A difference in the incidence of mutations in patients with multiple

deficiency of adenohipophysis hormones (27.7%) and in patients with isolated growth hormone insufficiency (9.6%) was revealed. The mutation frequency of diagnosis in genes responsible for congenital hypopituitarism in patients of Saint Petersburg were studied. Mutations in genes associated with congenital hypopituitarism were identified in 16.3% of patients with pituitary dwarfism (16 of 98). The most commonly diagnosed mutations are changes in gene *PROP1*. In carrying out the molecular genetic studies of patients with congenital hypopituitarism is necessary to consider the likelihood of the presence of these rare pathologies such as loss of genes *GHSR*, *ARNT2*, *BTK*. Currently conducting molecular genetic studies in patients with congenital hypopituitarism further predicts development of the disease and, if necessary, adjust the ongoing replacement therapy.

♦ **Keywords:** congenital hypopituitarism; growth hormone deficiency; growth hormone; gene *PROP1*, *GH1*, *GHRH*, *BTK*, *GHSR*, *GLI2*, *POU1F1*.

## Введение

Комплекс патогенетически различных заболеваний, сопровождающихся задержкой роста с исходом в низкорослость при отсутствии лечения, составляет гетерогенную картину синдрома дефицита гормона роста (ГР) у детей, то есть соматотропную недостаточность. Частота соматотропной недостаточности у детей колеблется от 1 : 10 000 до 1 : 4000 новорожденных. Клиническая гетерогенность проявлений соматотропной недостаточности при однозначных результатах гормональных стимуляционных тестов определяет необходимость поиска молекулярно-генетических маркеров заболевания для формирования персонализированных терапевтических алгоритмов. Вместе с тем известно, что генетические аномалии и факторы внешней среды могут значительно изменять клиническую картину даже моногенных заболеваний — наиболее простой формы из числа сложных многокомпонентных нарушений [1].

Современные молекулярно-генетические методы исследования в определении генеза низкорослости позволили сформировать диагностическую панель для поиска мутаций в генах, ассоциированных с нарушением секреции основного ростового гормонального регулятора — гормона роста с учетом известных физиологических механизмов, определяющих ростовые эффекты. Наиболее широко в литературе представлены данные о мутациях в генах *HESX1*, *LHX3*, *LHX4*, *PROP1*, *POU1F1*, *GHRHR*, *GHSR*.

Изолированный дефицит гормона роста является самым распространенным дефицитом гормона гипофиза в результате врожденных или приобретенных причин, хотя для большинства пациентов его этиология остается неизвестной [2]. Причинами изолированного дефицита ГР могут быть дефекты в генах *GH1*, *GHRHR*. В РФ аутосомно-доминантные формы чаще вызываются гетерозиготной мутацией в *GH1*. Так, при обследовании пациентов с тяжелым врожденным изолированным дефици-

том ГР в России мутация в *GH1* была определена в 32,1 % случаев [3].

Мутации в генах, ответственных за гипофизарные транскрипционные факторы, обеспечивающие онтогенез гипофиза или развитие и функционирование гипоталамо-гипофизарной системы, приводят к проявлениям недостаточности нескольких гормонов аденогипофиза. Проявления данной патологии будут зависеть и от тяжести дефицита ГР, и от ряда сопутствующих факторов (например, возраст диагностики заболевания, недостаточность других гормонов аденогипофиза). Фенотипические признаки также определяются фактором транскрипции, который вовлечен в патологический процесс [4].

Международные исследования, касающиеся частоты встречаемости и клинической значимости мутаций в генах, ассоциированных с гипопитуитаризмом, представлены в литературе неоднозначными, часто противоречивыми данными.

Гетерогенность по частоте встречаемости мутаций при врожденном гипопитуитаризме может быть обусловлена специфичностью методологии при проведении генетических исследований, особенностью отбора пациентов для проведения генетического анализа, а также этническими особенностями.

**Целью данного исследования** было изучение характера генетических изменений у пациентов с врожденной соматотропной недостаточностью, включенных в Федеральный регистр города Санкт-Петербурга больных гипофизарным нанизмом, получающих лечение препаратами гормона роста.

## Материалы и методы

В исследование были включены 98 пациентов из Регистра больных с гипофизарным нанизмом, получающих заместительную терапию

соматотропином. Семьи всех участников подписали информированное согласие на участие в исследовании. В исследование не включались пациенты с приобретенным дефицитом ГР, с органическими причинами задержки роста (травмы, опухоль гипофиза). У всех больных диагноз был подтвержден результатами тестов, направленных на стимуляцию секреции гормона роста. Диагностическим значением, определяющим недостаточную секрецию соматотропина при проведении теста с клонидином и теста с инсулином (с достижением гипогликемии менее 2 ммоль/л), был показатель выброса гормона роста менее 10 нг/мл. У 36 пациентов имелся множественный дефицит гормонов аденогипофиза, у 62 — изолированная соматотропная недостаточность. Все пациенты на момент исследования получали заместительную терапию препаратами гормоном роста из расчета средней терапевтической дозы 0,033 мг/кг массы тела в сутки. В случаях множественного дефицита гормонов аденогипофиза проводили адекватную потребности гормональную заместительную терапию другими препаратами.

С учетом имеющихся в литературе данных о молекулярно-генетических факторах, вовлеченных в процесс секреции гормона роста, были изучены следующие гены: *GH1*, *GHRH*, *GHRHR*, *BTk*, *GHSR*, *PROP1*, *POU1F1*, *HESX1*, *LHX3*, *LHX4*, *SOX3*, *SOX2*, *OTX2*, *GLI2*, *ARNT2*, *ARPC5L*, *DLK1*, *DRD2*, *PAX6*, *RNPC3*, *SHH*, *SPCS2*, *SPCS3*. В рамках исследования было проведено секвенирование этих генов с помощью панели customAmpliseq HP на аппарате IonTorrent (Life technologies, США).

Молекулярно-генетическое исследование методом секвенирования нового поколения (NGS) с помощью технологии «Ампликс» на аппарате IonTorrent (Life technologies, США) представляет собой определение точного порядка нуклеотидов кодирующих регионов генов. Благодаря данной технологии стало возможным определить последовательность 90–95 % кодирующих регионов генов. Данный анализ не включает в себя исследование некодирующих регионов, хромосомных перестроек (транслокаций, делеций, дупликаций, инверсий более 30 пар нуклеотидов), полиплоидии, анеуплоидии, мозаицизм, мутации в GC-богатых участках. Биоинформационный фильтринг результатов секвенирования образцов ДНК проводили с помощью программ Genestack (<https://genestack.com/>), UGENE (<http://ugene.unipro.ru/>), Ion Reporter (<https://ionreporter.lifetechnologies.com/ir/>), SIFT (<http://sift.jcvi.org/>), PolyPhen2 (genetics.

bwh.harvard.edu/pph2/), PAPI (<http://papi.unipv.it/>). Патогенность мутаций сайтов сплайсинга оценивали с применением программы HSF. Верификацию полученных данных проводили методом прямого секвенирования на приборе Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems, США).

### Результаты и их обсуждение

При проведении исследования кроме ранее часто описываемых в литературе мутаций, были диагностированы достаточно редкие генетические изменения. Несмотря на широкий спектр выявленных мутаций, у всех пациентов эффективность заместительной терапии гормоном роста подтверждается уменьшением отклонения SDS роста через 1 год после начала заместительной терапии гормоном роста (табл. 1).

По результатам данного исследования установлено, что частота встречаемости генетических изменений при врожденной соматотропной недостаточности различается в группе пациентов с множественным дефицитом гормонов аденогипофиза (27,7 %) и у больных с изолированным дефицитом гормона роста (9,6 %). Так, количество обследованных пациентов с множественным дефицитом гормонов аденогипофиза составило 36, из них мутации были выявлены у 10 (27,7 %). При изолированной соматотропной недостаточности мутации были выявлены у 6 пациентов из 62 обследованных (9,6 %). Общее количество детей с врожденной соматотропной недостаточностью в Санкт-Петербурге с мутациями в генах, ассоциированных с врожденным гипопитуитаризмом, составляет 16,3 %. Наиболее частыми являются мутации в гене *PROP1*. Отличительная особенность молекулярно-генетических характеристик детей с изолированной соматотропной недостаточностью жителей Санкт-Петербурга заключается в наличии мутаций в генах *ARNT2*, *GHSR*, *BTk* (с редким описанием в литературе), что требует детального рассмотрения.

В диагностическом алгоритме при поиске этиологического фактора соматотропной недостаточности с клинических позиций большое значение имеет обнаружение мутаций, свидетельствующих о множественных гормональных нарушениях (*PROP1*, *POU1F1*) [5]. Такие находки определяют необходимость своевременного назначения заместительной терапии тиреоидными гормонами (мутации в генах *PROP1*, *POU1F1*) и гормонами коры надпочечников (мутации в гене *PROP1*). Недостаточность го-

Таблица 1 / Table 1

Спектр генетических мутаций, выявленных у больных с врожденной соматотропной недостаточностью, включенных в Федеральный регистр (Санкт-Петербург)

Range of genetic mutations identified in patients with congenital growth hormone insufficiency, included in the Federal register (Saint Petersburg)

№	Пол пациента	Возраст постановки диагноза (лет)	Пик соматотропина на пробе (нг/мл)	SDS роста на момент диагностики	SDS роста через 1 год лечения соматропином	Ген	Мутация
1	ж	10,75	1,7	-2,3	-1,06	<i>GH1</i>	Chr17:61995747 (GRCh37) c.130C>T (NM_000515.4) в гетерозиготном состоянии
2	м	5,6	0,9	-2,03	-0,55	<i>SOX2</i>	p.G179V (NM_003106) (rs376567372) в гетерозиготном состоянии
3	м	9	2,2	-3,77	-3,01	<i>PROPI</i>	c.297_302delAG p.C102fsX109 (референсная последовательность AF076215.1) в гомозиготном состоянии
4	м	9	0,83	-4,94	-4,08	<i>PROPI</i>	c.297_302delAG p.C102fsX109 (референсная последовательность AF076215.1) в гомозиготном состоянии
5	м	6,5	0,6	-3,5	-1,85	<i>PROPI</i>	5:177421237C>T (GRCh37) c.212G>A (NM_006261.4) в гетерозиготном состоянии
6	м	6,25	2,5	-3,51	-2,57	<i>PROPI</i>	5:177421237C>T (GRCh37) c.212G>A (NM_006261.4) в гетерозиготном состоянии
7	м	5,6	0,8	-2,63	-0,97	<i>PROPI</i>	c.297_302delAG p.C102fsX109 (референсная последовательность AF076215.1) в гомозиготном состоянии
8	м	8,2	6,42	-1,81	-1,6	<i>HESX1</i>	p.G12E (NM_003865) в гетерозиготном состоянии
9	ж	5,3	2,75	-3,62	-1,92	<i>PROPI</i>	c.150delA p.D53fsX164, c.297_302delAG p.C102fsX109 (референсная последовательность AF076215.1) в гетерозиготном состоянии
10	м	14,4	2,6	-1,84	-1,69	<i>GLI2</i>	Chr2:121744099 (GRCh37) c.2202G>T (NM_005270.4) в гетерозиготном состоянии
11	ж	9,8	8,9	-2,12	-2,26	<i>BTK</i>	ChrX:100608191 (GRCh37) c.1899C>T (G>A) (rs1135363) в гетерозиготном состоянии
12	м	6,5	7,9	-1,43	-0,96	<i>POU1F1</i>	p.M124V (NM_000306.1) (rs143373007) в гетерозиготном состоянии



Окончание табл. 1

№	Пол пациента	Возраст постановки диагноза (лет)	Пик соматотропина на пробе (нг/мл)	SDS роста на момент диагностики	SDS роста через 1 год лечения соматотропином	Ген	Мутация
13	м	6,3	0,5	-2,65	-0,5	<i>PROPI</i>	с.150delA p.D53fsX164 (референсная последовательность AF076215.1) в гомозиготном состоянии
14	ж	10,2	6,84	-2,17	-1,52	<i>GHSR</i>	Chr3:172163215 (GRCh37) с.837C>A (rs201286192) в гетерозиготном состоянии
15	ж	10,2	6,94	-2,12	-1,39	<i>GHSR</i>	Chr3:172163215 (GRCh37) с.837C>A (rs201286192) в гетерозиготном состоянии
16	м	14	0,4	-4,28	-3,32	<i>ARNT2</i>	Chr15:80872810 (GRCh37) с.1672C>T (NM_014862.3) в гетерозиготном состоянии

надотропинов (гипогонадотропный гипогонадизм) в сочетании с соматотропной недостаточностью служит показанием к лечению гипогонадизма на фоне применения ростовых, а в последующем — метаболических доз препаратов гормона роста.

Выявленные единичные случаи мутаций в генах *ARNT2*, *GHSR*, *BTk*, *GLI2* у пациентов с низкой стимулированной секрецией гормона роста по диагностическим тестам являются предметом индивидуального обсуждения. Это связано с гетерогенностью клинической картины в каждом конкретном случае. Общие составляющие для пациентов с редкими генетическими мутациями — это снижение скорости роста и низкие показатели стимулированной секреции соматотропина при проведении диагностических тестов.

Обращает на себя внимание тот факт, что мутации в гене *GH1*, описанные в литературе как наиболее часто встречающиеся при врожденной изолированной соматотропной недостаточности, в нашем исследовании обнаружены у одного пациента с поздней диагностикой.

## Выводы

Таким образом, невысокая частота выявленных мутаций (16,3 %) позволяет предположить необходимость изучения более широкого спектра генов, ответственных за развитие и дальнейшее функционирование системы гипоталамус – гипофиз – инсулиноподобный фактор роста-1, определяющей функциональные вза-

имоотношения всех факторов, влияющих на реализацию ростовых эффектов гормональных и негормональных регуляторов роста.

Небольшое количество обнаруженных генетических отклонений у пациентов с низкими секреторными ответами на стимуляцию секреции гормона роста определяет необходимость поиска более значимых диагностических критериев соматотропной недостаточности с целью разработки персонализированных терапевтических подходов. Показания к проведению молекулярно-генетических исследований при изолированной соматотропной недостаточности у детей следует индивидуализировать с учетом сопутствующей задержки роста клинической симптоматики.

Прогнозирование дальнейшего развития заболевания у пациентов, а также необходимость своевременной коррекции заместительной терапии определяют значимость методов молекулярно-генетической диагностики этиологических факторов соматотропной недостаточности. Своевременное назначение тиреоидных препаратов, глюкокортикоидов и половых гормонов при выявлении мутации в гене *PROPI* определяет ростовой эффект препаратов гормона роста.

*Конфликт интересов отсутствует.*

## Литература

1. Эндокринные заболевания у детей и подростков. Руководство для врачей / Под ред. Е.Б. Башниной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 416 с. [Jendokrinnye

- zabolevanija u detej i podroostkov. Rukovodstvo dlja vrachej. Ed by E.B. Bashninoj. Moscow: GJeOTAR-Media; 2017. 416 p. (In Russ.)]
2. Alatzoglou K, Kular D, Dattani M. Autosomal Dominant Growth Hormone Deficiency (Type II). *Pediatr Endocrinol Rev.* 2015;2(4):347-355.
  3. Fofanova O, Evgrafov O, Polyakov A, et al. A novel splicing mutation in exon 4 (456G>A) of the *GH1* gene in a patient with congenital isolated growth hormone deficiency. *Hormones (Athens).* 2006;5(4): 288-294.
  4. Дедов И.И., Петеркова В.А. Детская эндокринология. Руководство. – М.: Универсум паблишинг, 2006. – 595 с. [Dedov II, Peterkova VA. Detskaja jendokrinologija. Rukovodstvo. Moscow: Universum publishing; 2006. 595 p. (In Russ.)]
  5. Гаврилова А.Е., Нагаева Е.В., Ширяева Т.Ю., и др. Клинико-генетические особенности пациентов с множественным дефицитом гормонов аденогипофиза, обусловленным мутациями в гене *PROP1*: эффективность терапии рекомбинантным гормоном роста // Проблемы эндокринологии. – 2017. – Т. 63. – № 2. – С. 72–81. [Gavrilova AE, Nagaeva EV, Shiryayeva TYu, et al. Clinical and genetic features of patients with multiple anterior pituitary hormone deficiency caused by mutations in the *PROP1* gene; the efficacy of recombinant growth hormone therapy. 2017;63(2):72-81. (In Russ.)]. doi: 10.14341/probl201763272-81.

♦ **Адрес автора для переписки** (*Information about the author*)

Ольга Сергеевна Берсенева / *Olga S. Berseneva*

Тел. / Tel.: +7(911)226-80-62

E-mail: o.berseneva@mail.ru