

Таким образом, радикальным методом лечения неиммунного тиреотоксикоза является тотальное удаление ЩЖ — тиреоидэктомия или применение радиойодтерапии. Учитывая отсутствие данных о возможности применения радиойодтерапии у новорожденных и детей первых лет жизни, в качестве радикального метода лечения рассматривается тиреоидэктомия.

В семьях с доказанным неиммунным тиреотоксикозом для остальных членов семьи рекомендуем динамический контроль с обязательным определением уровня ТТГ сыворотки для раннего выявления тиреотоксикоза.

Таким образом, неиммунный гипертиреоз может быть заподозрен при клиническом проявлении тиреотоксикоза на фоне отсутствия или низкого титра антител к рТТГ, у лиц с положительным семейным анамнезом по тиреотоксикозу, при низкой эффективности консервативной терапии. Радикальным методом лечения неиммунного тиреотоксикоза является тотальное удаление ЩЖ. Молекулярно-генетическое исследование гена TSHR позволяет своевременно диагностировать и правильно лечить заболевание, предупреждать развитие осложнений тиреотоксикоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alberti L., Proverbio M. C., Costagliola S. et al. // Eur. J. Endocrinol. — 2001. — Vol. 145. — P. 249–254.
2. Arturi F., Chieffari E., Tumino S. et al. // J. Endocrinol. Invest. — 2002. — Vol. 25, N 8. — P. 696–701.
3. Biebertmann H., Schoneberg T., Hess C. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2001. — Vol. 86. — P. 4429.
4. Cole T. J., Bellizzi M. C., Flegal K. M., Dietz W. H. // Br. Med. J. — 2000. — Vol. 320. — P. 1240–1243.
5. Dallas J. S., Foley T. P. Jr. // Pediatric Endocrinology / Ed. F. Lifshitz. — Miami, 2007. — Vol. 2.
6. De Roux N., Polak M., Couet J. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1996. — Vol. 81. — P. 2023–2026.
7. Dumont J. E., Lamy F., Roger P. et al. // Physiol. Rev. — 1992. — Vol. 72. — P. 667–697.
8. Duprez L., Parma J., Van Sande J. et al. // Nat. Genet. — 1994. — Vol. 7. — P. 396–401.
9. Fuhrer D., Wonerow P., Willgerodt H., Paschke R. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1997. — Vol. 82. — P. 4234.
10. Fuhrer D., Warner J., Sequeira M. et al. // Thyroid. — 2000. — Vol. 10. — P. 1035.
11. Gruters A., Schoneberg T., Biebertmann H. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1998. — Vol. 83. — P. 1431–1436.
12. Hayles A. B., Zimmerman D. // Werner's the Thyroid / Eds S. H. Ingbar et al. — 5-th Ed. — Philadelphia, 1986. — P. 1412–1428.
13. Hershman J. M. // Thyroid. — 1999. — Vol. 9. — P. 653.
14. Kohn L., Shimura H., Shimura Y. et al. // Vit. Horm. — 1995. — Vol. 50. — P. 287–384.
15. Kopp P., van Sande J., Parma J. et al. // N. Engl. J. Med. — 1995. — Vol. 332. — P. 150–154.
16. Kopp P., Jameson J. L., Roe T. F. // Thyroid. — 1997. — Vol. 7, N 5. — P. 765–770.
17. Lavard L., Jacobse J. J., Perrild H. et al. // Acta Paediatr. — 2004. — Vol. 93. — P. 1192.
18. Leclere J., Bene M. C., Aubert V. et al. // Horm. Res. — 1997. — Vol. 47. — P. 158.
19. Libert F., Lefort A., Gerard C. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1989. — Vol. 165. — P. 1250–1255.
20. Misrahi M., Loosfelt H., Atger M. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1990. — Vol. 166. — P. 394–403.
21. Nagayama Y., Kaufman K. D., Seto P., Rapoport B. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1989. — Vol. 165. — P. 1184–1190.
22. Parma J., Duprez L., Van Sande J. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1997. — Vol. 82. — P. 2695–2701.
23. Parmentier M., Libert F., Maenhaut C. et al. // Science. — 1989. — Vol. 246. — P. 1620–1622.
24. Pohlenz J., Pfarr N., Kruger S., Hesse V. // Acta Paediatr. — 2006. — Vol. 95, N 12. — P. 1685–1687.
25. Schwab K. O., Sohlmann P., Gerlich M. et al. // Exp. Clin. Endocrinol. Diabet. — 1996. — Vol. 104. — P. 124–128.
26. Thomas J. S., Leclere J., Hartemann P. et al. // Acta Endocrinol. — 1982. — Vol. 100, N 4. — P. 512–518.
27. Tomer Y., Huber G. K., Davies T. F. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1992. — Vol. 74. — P. 1477.
28. Tonacchera M., Van Sande J., Cetani F. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1996. — Vol. 81. — P. 547–554.
29. Vaidya B., Campbell V., Tripp J. H. et al. // Clin. Endocrinol. (Oxford). — 2004. — Vol. 60. — P. 711.
30. Van Vliet G., Polak M. // Pediatric Endocrinology / Ed. F. Lifshitz. — Miami, 2007. — Vol. 2.
31. Калейро Д., Перзани Л., Бэк-Пэкоз П. // Материалы 3-го Международного конгресса по заболеваниям щитовидной железы. — 2005.

Поступила 10.11.08

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 616.64-007.17+616.611-002.2]-036.1-07:577.21

Е. О. Новикова¹, П. М. Рубцов², П. С. Свєрдлова², А. Н. Тюльпаков¹

КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ СИНДРОМА ФРЕЙЗЕРА — ЛОЖНОГО МУЖСКОГО ГЕРМАФРОДИТИЗМА И ХРОНИЧЕСКОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА (ПЕРВОЕ ОПИСАНИЕ В РОССИИ)

¹ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий, ²Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва

Половая дифференцировка организма — процесс становления внутренних и наружных половых органов — включает серию следующих друг за другом процессов, начинающихся с момента оплодотворения яйцеклетки и продолжающихся не только в период эмбрионального развития, но и в постнатальный период.

Эти процессы находятся под контролем каскада генов, экспрессирующихся в строго очерченные

временные рамки и ответственных за определенные этапы формирования пола.

Ключевым моментом половой дифференцировки при мужском генетическом поле является закладка яичка. На Y-хромосоме (локус Yp11.3) находится ген SRY, кодирующий "детерминирующий яичко фактор" (testis-determining factor), в отсутствие которого закладка мужской гонады не происходит. Помимо SRY, в закладке и дифференциров-

ке яйца участвуют и другие гены, среди которых наиболее хорошо изучены расположенный на X-хромосоме ген *NROB1* (*DAX-1*), а также аутомные гены *NR5A1* (*SF-1*), *WT1* и *SOX9*.

Ген опухоли Вильмса (*WT1*) кодирует транскрипционный фактор, играющий ключевую роль в закладке и дифференцировке почек и гонад. Мутации гена *WT1* выявлены у пациентов с комплексом WAGR (опухоль Вильмса, аниридия, мочеполовая патология, умственная отсталость), синдромом Денниса-Драша (ранняя почечная недостаточность, диффузный мезангиальный склероз, разная степень дисгенезии гонад, высокий риск опухоли Вильмса) и синдромом Фрейзера (*Frasier syndrome*). Последний характеризуется полностью женским фенотипом при кариотипе 46XY, очаговым сегментарным гломерулосклерозом с развитием почечной недостаточности во 2-й декаде жизни, гонадами в виде тяжелей и высоким риском развития гонадобластомы. Типичным для синдрома Фрейзера является также наличие гетерозиготной точечной мутации, изменяющей донорный сайт сплайсинга интрона 9 гена *WT1*.

На данный момент в отечественной эндокринологической литературе не существует описаний синдрома Фрейзера. Мы приводим случай характерных клинических проявлений синдрома у пациентки, у которой диагноз был подтвержден выявлением мутации в гене *WT1*.

Описание клинического случая.

Пациентка В. С., 17 лет 7 мес, родилась от первой нормально протекавшей беременности, физиологических срочных родов. Ребенок был зарегистрирован в женском поле, масса тела при рождении 3600 г, длина 54 см. При диспансеризации в возрасте 2 лет общий анализ мочи выявил протеинурию. С этого возраста постоянно наблюдается у нефролога. При обследовании в нефрологическом отделении по месту жительства в 14 лет установлен диагноз: интерстициальный нефрит, нефроптоз I степени, пиелозекстоз слева. По результатам нефробиопсии у девочки был выявлен мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит и назначено лечение глюкокортикоидными препаратами (преднизолон 60 мг/сут) и циклоспорином (200 мг/сут), на фоне которого, однако, сохранялась протеинурия.

В 14 лет пациентка впервые обратилась к эндокринологу с жалобами на задержку полового развития. При обследовании отмечены клинико-лабораторные признаки гипергонадотропного гипогонадизма (ЛГ — 24,9 Ед/л, ФСГ > 100 Ед/л) и установлен кариотип 46XY.

Впервые обследована в эндокринологическом научном центре (ЭНЦ) в возрасте 16 лет 2 мес. На тот момент рост пациентки составлял 171 см (SDS 1,47), масса тела — 52,8 кг (ИМТ 18,1 кг/м²), пубертатное развитие соответствовало стадии I по Таннеру [16]. При гормональном обследовании также было выявлено повышение уровней гонадотропинов крови (ЛГ — 83 Ед/л, норма 2,6—12,1 Ед/л; ФСГ — 147 Ед/л, норма 2—11,6 Ед/л); уровень тестостерона составлял 0,6 нмоль/л (норма 0,3—2,3 нмоль/л), эстрадиола — 56 пмоль/л (норма 50—620 пмоль/л), св.Т₄ — 12,9 пмоль/л (норма 8,5—20 пмоль/л) и ТТГ — 0,5 мЕД/л (норма 0,25—3,5 мЕД/л).

На основании наличия ложного мужского гермафродитизма в сочетании с нефропатией был заподозрен синдром Фрейзера. Для подтверждения диагноза было проведено молекулярно-генетическое исследование. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием стандартных методов. С помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) амплифицировали фрагмент гена *WT1*, включающий экзоны 8 и 9 с примыкающими участками интронов. После электрофореза в 1% агарозном геле продукты ПЦР выделяли и очищали с использованием набора MinElute PCR Purification Kit (Qiagen), а затем секвенировали на автоматическом секвенаторе ABI PRISM Model 3100 ("Applied Biosystems", США). Секвенирование ДНК проводили в Межинститутском центре коллективного

пользования "ГЕНОМ" Института молекулярной биологии РАН, организованном при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 00-04-55000). При проведении ПЦР и последующем секвенировании использовали следующие олигонуклеотиды: *WT1_E8F* — 5'-GCTCCAGCGA-AGTGCCTTAG-3' и *WT1_E9R* — 5'-GCCACGCACTATTCCT-TCTC-3' (см. рисунок на вклейке).

Диагноз был подтвержден молекулярно-генетически: найдена гетерозиготная замена гуанина (G) на аденин (A) в позиции +5 донорного сайта сплайсинга интрона 9 гена *WT1* (IVS9 +5G > A) (см. рисунок на вклейке). У родителей данный участок гена *WT1* изменен не был, что позволяет предположить, что мутация возникла *de novo*.

Учитывая неэффективность лечения нефротического синдрома при данном заболевании препаратами глюкокортикоидного ряда и циклоспорином, ранее назначенная терапия была отменена. В связи с высоким риском развития гонадобластомы у пациентов с синдромом Фрейзера была произведена лапароскопия (выявлены рудиментарная матка и гонады в виде стреков) и двусторонняя гонадэктомия. При гистологическом исследовании в гонадах выявлены клетки Лейдига. Больной была начата заместительная терапия эстрогенами (эстрофем 1 мг/сут).

В возрасте 17 лет 8 мес обследована в ЭНЦ повторно. На тот момент получала заместительную терапию фемостеном 2/10. Рост пациентки составлял 181,3 см (SDS 3,2), длина верхнего сегмента тела — 93 см (SDS 1,7), нижнего — 88,3 см (SDS 3,5), масса тела 54 кг (ИМТ 16,7 кг/м², SDS ИМТ — 2,5). Половое развитие по Таннеру соответствовало стадии ВЗРЗ; менструации с 17 лет, нерегулярные болезненные. Костный возраст составлял 13,9 года (метод TW20). По результатам гормонального анализа сохранялось повышение гонадотропинов крови (ЛГ — 25,5 Ед/л, норма 2,6—12,1 Ед/л; ФСГ — 81,6 Ед/л, норма 2—11,6 Ед/л), которое, однако, было менее выражено по сравнению с данными предыдущего обследования. Уровень тестостерона составлял 0,6 нмоль/л (норма 0,3—2,3 нмоль/л), эстрадиола — 716 пмоль/л (норма 50—620 пмоль/л).

Проведена денситометрия поясничного отдела позвоночника, при которой снижения плотности костной ткани обнаружено не было. При ультразвуковом исследовании почек выявлены нарушения кортико-медуллярной дифференциации и признаки диффузных склеротических изменений в ткани почек.

Проба Реберга не выявила изменений почечной функции: креатинин крови 76 (норма 62—106) мкмоль/л, креатинин мочи 9157 (3450—22 900) мкмоль/л, скорость клубочковой фильтрации 109 мл в 1 мин (80—120), реабсорбция 98% (96—99), мочевины крови 7,2 ммоль/л (1,7—8,3).

В 1964 г. S. Frasier и соавт. [6] описали случай полной дисгенезии гонад в сочетании с гонадобластомой у двух однояйцевых близнецов. В последующем симптомокомплекс, включающий дисгенезию гонад при наборе хромосом 46XY, прогрессирующую гломерулопатию, гонадобластому или высокий риск ее развития, был назван синдромом Фрейзера [2].

В большинстве случаев, как и у нашей обследуемой, заболевание диагностируется только в подростковом возрасте, когда пациенты обращаются с жалобами на отсутствие признаков полового развития и в ходе обследования определяются мужской кариотип, гипоплазированная матка, отсутствие визуализируемых гонад, а при гормональном анализе — характерное для дисгенезии гонад повышение уровня гонадотропинов с преобладанием ФСГ. Почечный компонент синдрома выявляется гораздо раньше (протеинурия при рутинном обследовании), но обычно не связывается с синдромом Фрейзера. Терминальная стадия хронической почечной недостаточности при данном заболевании обычно наступает во 2-й декаде жизни. В случае удачного подбора донора пересадка почки при синдроме Фрейзера дает, как правило, хороший результат, так как возобновление патологического процесса в трансплантате обычно не наблюдается

[15]. У нашей пациентки при обследовании в возрасте 17 лет 8 мес функция почек оставалась сохранной. Риск развития опухоли гонад у больных с синдромом Фрейзера составляет примерно 44%. Большинство из них — гонадобластомы (37%), однако также описаны дисгерминомы и тестостерон-секретирующие аденомы [2, 5]. В связи с высоким риском развития опухоли при данном заболевании у нашей пациентки в 16-летнем возрасте удалены стректы, в которых при гистологическом исследовании обнаружены клетки Лейдига.

Наличие прогрессирующей почечной патологии и высокий риск развития опухолей гонад диктуют необходимость ранней диагностики заболевания, чему, безусловно, должно способствовать внедрение в клиническую практику молекулярного анализа гена *WT1*.

Ген *WT1* был открыт в 1990 г. как ген-супрессор опухоли Вильмса [3, 7]. Ген *WT1* картирован на хромосоме 11p13 и состоит из 10 экзонов. Экзоны 1–6 кодируют пролин/глутамин-богатый трансактивационный домен, а экзоны 7–10 — ДНК-связывающий домен, содержащий 4 мотива так называемых цинковых пальцев. В результате альтернативного сплайсинга в двух участках гена образуются 4 варианта мРНК. Сплайсинг в первом участке приводит к включению или исключению 17 аминокислотных остатков, кодируемых экзоном 5. Другой участок альтернативного сплайсинга находится в 3'-конце экзона 9, при сплайсинге происходит включение или исключение трех аминокислотных остатков — лизина, треонина и серина (KTS) — между 3-м и 4-м цинковым пальцем с образованием так называемой +KTS или -KTS-изоформы [8]. Альтернативные KTS-варианты белка *WT1* обнаружены у всех позвоночных и сохраняются в ходе эволюции, что подчеркивает функциональную важность такой организации гена [10]. Изоформы, содержащие и не содержащие трипептид KTS, имеют разное сродство к ДНК, что, вероятно, и определяет различия в их регуляторной функции [19].

Молекулярная основа синдрома Фрейзера установлена в 1997 г. S. Barbaux и соавт. [1], выявившими у нескольких больных с данной патологией мутации в гене *WT1*. Большинство мутаций, обнаруженных в гене *WT1* у пациентов с синдромом Фрейзера, затрагивают донорный сайт сплайсинга интрона 9. Всего известно 5 таких мутаций (IVS9 +2T > C, IVS9 +4C > T, IVS9 +5G > A, IVS9 +5G > T и IVS9 +6T > A), среди них чаще встречаются IVS9 +4C > T (52% случаев) и IVS9 +5G > A (26% случаев). Показано, что все эти мутации приводят к нарушению соотношения сплайсируемых +KTS и -KTS-изоформ, уменьшая его с нормального 2:1 до 1:2 [1, 11, 13]. Гетерозиготная мутация IVS9 +5G > A была найдена и у нашей пациентки. Следует отметить, что нарушение сплайсинга, по-видимому, не единственный механизм нарушения функции белка *WT1* при синдроме Фрейзера. Японскими авторами описаны две мутации, R390X и F392L, которые не нарушают баланс +KTS/-KTS-изоформ [12].

Ген *WT1* кодирует ДНК-связывающий белок, функционирующий в зависимости от взаимодействия с разными клеточными и хромосомными эле-

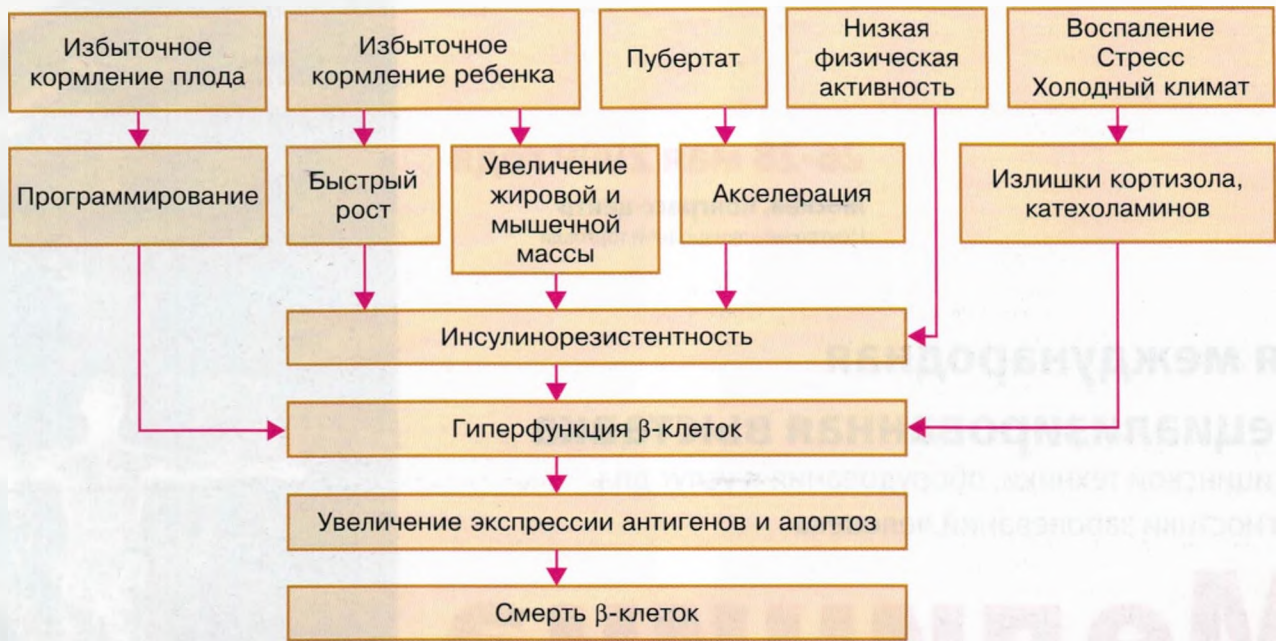
ментами как активатор или как репрессор транскрипции. Помимо функции супрессора опухолей, этот белок выполняет важную роль в эмбрио- и фетогенезе. В период внутриутробного развития *WT1* экспрессируется у позвоночных в клетках-предшественниках почечных клубочков, а также в ткани генитального гребня, фетальной гонады, селезенки и мезотелия [14]. Имеются экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что в процессе дифференцировки гонады *WT1* опосредует эффект SRY. In vitro *WT1* активирует транскрипцию гена SRY, связываясь с его промотором. При трансфекции клеток конструкциями, кодирующими *WT1* с мутациями, выявленными у пациентов с синдромом Дениса—Драша, такой трансактивации не происходит [9]. Эти данные, по-видимому, могут объяснять тот факт, что дефекты *WT1* не оказывают влияния на SRY-независимые процессы закладки и дифференцировки гонад при кариотипе 46XX.

Таким образом, нами описан случай синдрома Фрейзера, подтвержденный анализом гена *WT1*. Данное заболевание является примером врожденной патологии, в основе которой лежат изменения плеiotропного гена, в данном случае ответственного за закладку и формирование почек и гонад. Наше наблюдение подчеркивает необходимость включения детального исследования развития и функции почек в алгоритм дифференциальной диагностики при синдроме ложного мужского гермафродитизма, а также исследования кариотипа у девочек с хронической протеинурией.

ЛИТЕРАТУРА

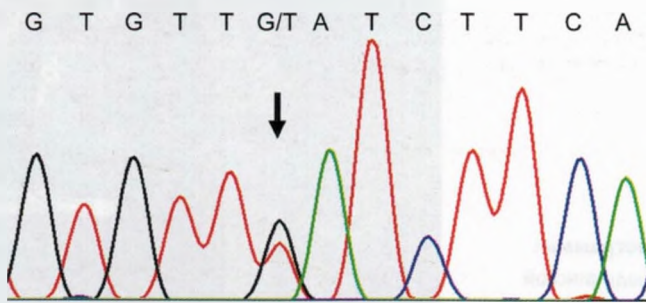
1. Barbaux S., Niaudet P., Gubler M.-C. et al. // Nat. Genet. — 1997. — Vol. 17. — P. 467–470.
2. Barbosa A. S., Hadjiathanasiou C. G., Theodoridis C. et al. // Hum. Mutat. — 1999. — Vol. 13. — P. 146–153.
3. Call K. M., Glaser T., Ito C. Y. et al. // Cell. — 1990. — Vol. 60. — P. 509–520.
4. Cole T. J. // Eur. J. Clin. Nutr. — 2002. — Vol. 56, N 12. — P. 1194–1199.
5. Demmer L., Primack W., Loik V. et al. // J. Am. Soc. Nephrol. — 1999. — Vol. 10. — P. 2215.
6. Frasier S. D., Bashore R. A., Mosier H. D. et al. // J. Pediatr. — 1964. — Vol. 64. — P. 740–745.
7. Gessler M., Poustka A., Cavenee W. et al. // Nature. — 1990. — Vol. 343. — P. 774–778.
8. Haber D. A., Sohn R. L., Buckler A. J. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1991. — Vol. 88. — P. 9618–9622.
9. Hossain A., Saunders G. F. // J. Biol. Chem. — 2001. — Vol. 276. — P. 16817–16823.
10. Kent J., Coriat A. M., Sharpe P. T. et al. // Oncogene. — 1995. — Vol. 11, N 9. — P. 1781–1792.
11. Klamt B., Koziell A., Poulat F. et al. // Hum. Mol. Genet. — 1998. — Vol. 7. — P. 709–714.
12. Kohsaka T., Tagawa M., Takekoshi Y. et al. // Hum. Mutat. — 1999. — Vol. 14. — P. 466–470.
13. Koziel A. B., Grundy R. // Arch. Dis. Child. — 1999. — Vol. 81. — P. 365–369.
14. Pritchard-Jones K., Fleming S., Davidson D. et al. // Nature. — 1990. — Vol. 346. — P. 194–197.
15. Schumacher V., Scharer K., Wühl E. et al. // Kidney Int. — 1998. — Vol. 53. — P. 1594–1600.
16. Tanner J. M. — 2-nd Ed. — Oxford, 1962.
17. Tanner J. M., Whitehouse R. H., Marshall W. A. — New York, 1975.
18. Tanner J. M., Whitehouse R. H. // Arch. Dis. Child. — 1976. — Vol. 51. — P. 170.
19. Wang Z. Y., Qiu Q. Q., Huang J. et al. // Oncogene. — 1995. — Vol. 10. — P. 415–422.

Поступила 07.06.08



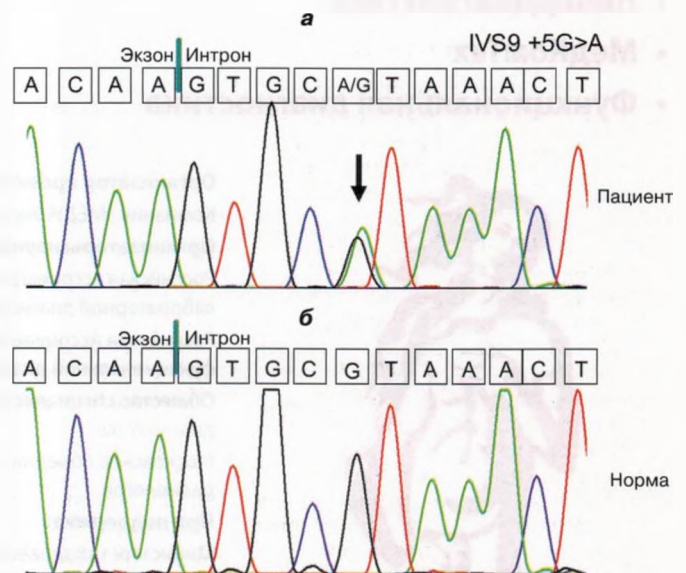
Влияние факторов окружающей среды на деструкцию β-клетки: гипотеза "сверхнагрузки".

К ст. В. А. Петерковой и соавт.



Фрагмент последовательности экзона 10 гена *TSHR* у пациента: гетерозиготная замена G > T, приводящая к замене кодона лейцина (TTG) на кодон фенилаланина (TTG) в положении 629 (L629F).

К ст. Е. О. Новиковой и соавт.



Фрагменты последовательности стыка экзона 9 и интрона 9 гена *WT1*: а — гетерозиготная замена гуанина (G) на аденин (A) в позиции +5 донорного сайта сплайсинга интрона 9; б — нормальная последовательность. Стрелка указывает позицию мутации.