

Неклассическая форма врожденной дисфункции коры надпочечников, обусловленная дефицитом 11 β -гидроксилазы: описание 3 клинических случаев

Т.А. ИОНОВА*, к.м.н. Н.А. ЗУБКОВА, д.м.н. А.Н. ТЮЛЬПАКОВ, к.х.н. А.Н. НИЖНИК, к.м.н. Л.В. САВЕЛЬЕВА

The non-classical form of congenital adrenal cortical hyperplasia due to 11 β -hydroxylase deficiency: the description of three clinical cases

T.A. IONOVA, N.A. ZUBKOVA, A.N. TYULPAKOV, A.N. NIZHNIK, L.V. SAVELIEVA

ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва

Неклассическая форма врожденной дисфункции коры надпочечников, обусловленная дефицитом 11 β -гидроксилазы (НК11 β ОН), является второй по частоте встречаемости неклассической формой ВДКН. Мутации в гене *CYP11B1*, характерные для данного заболевания, приводят к незначительному снижению активности 11 β -гидроксилазы, что проявляется «мягким» фенотипом и не всегда позволяет отличить НК11 β ОН от других схожих состояний. В мировой литературе имеются единичные публикации, посвященные описанию пациентов с генетически подтвержденной НК11 β ОН; в российских публикациях такие данные не представлены. Нами описано 3 клинических случая НК11 β ОН, обусловленной мутациями в гене *CYP11B1*, и показано, что наличие у пациентов (независимо от пола и возраста) признаков гиперандрогении в сочетании с артериальной гипертензией или без нее и резко повышенного базального и/или стимулированного уровня 11-дезоксикортизола позволяют заподозрить неклассический вариант дефицита 11 β -гидроксилазы. У всех пациентов при проведении молекулярно-генетического исследования были выявлены мутации в гене *CYP11B1*.

Ключевые слова: неклассическая форма врожденной дисфункции коры надпочечников, обусловленная дефицитом 11 β -гидроксилазы (НК11 β ОН), ген *CYP11B1*.

The non-classical form of congenital adrenal cortical hyperplasia due to 11 β -hydroxylase deficiency (11 β -OH CAH) is the second most frequent non-classical form of CAH. Mutations in the *CYP11B1* gene characteristic of this pathology are responsible for the slight reduction in the 11 β -hydroxylase activity manifested as the «soft» phenotype. They make it difficult to distinguish 11 β -OH CAH from similar clinical conditions. There are occasional publications in the world literature describing patients with genetically confirmed 11 β -OH CAH. No such data can be found in the Russian-language literature. We have described three clinical cases of 11 β -OH CAH caused by mutations in the *CYP11B1* gene. Our observations showed that the presence of the signs of hyperandrogenism (regardless of the patients' age and sex) in combination with arterial hypertension or without it as well as the marked increase in the baseline and/or stimulated levels of 11-deoxycortisol gives reason to suspect non-classical variant of 11 β -hydroxylase deficiency. The molecular-genetic study revealed mutations in the *CYP11B1* gene in all the examined patients.

Key words: non-classical form of congenital adrenal cortical hyperplasia due to 11 β -hydroxylase deficiency (11 β -OH CAH), *CYP11B1* gene.

Врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН), обусловленная дефицитом 11 β -гидроксилазы, является второй по частоте встречаемости формой ВДКН (5–8%), распространенность которой в европейской популяции составляет в среднем 1:100 000–200 000 новорожденных [1]. Классический фенотип заболевания ввиду значительного или почти полного отсутствия синтеза кортизола и избыточной продукции андрогенов корой надпочечников характеризуется симптомами пре- и постнатальной вирилизации у девочек и ложного преждевременного полового развития у мальчиков. Накопление промежуточных продуктов синтеза гормонов коры надпочечников, обладающих минералокортикоидной активностью, является причиной артериальной гипертензии [2–4]. Неклассическая форма

дефицита 11 β -гидроксилазы (НК11 β ОН), обусловленная частичным дефектом синтеза кортизола, предполагает более «мягкий» фенотип и проявляется у обоих полов синдромом гиперандрогении, также нередко сочетающимся с артериальной гипертензией [5–7].

Как и в случае классического варианта, причиной НК11 β ОН являются мутации в гене *CYP11B1*, кодирующем фермент 11 β -гидроксилазу. Первые клинические описания случаев классического фенотипа дефицита 11 β -гидроксилазы опубликованы в середине 50-х годов XX века. К настоящему времени в гене *CYP11B1* верифицировано более 70 мутаций, приводящих к развитию этого варианта заболевания [8, 9]. Несмотря на встречающиеся в литературе уже в 80-е годы прошлого столетия клинико-

гормональные характеристики пациентов с неклассической формой дефицита 11 β -гидроксилазы [10], случаи генетически подтвержденной НК11 β ОН опубликованы в единичных зарубежных работах [5—7] только в конце 90-х годов.

До настоящего времени описания пациентов с НК11 β ОН в отечественной литературе отсутствуют. Мы приводим описание 3 клинических случаев неклассической формы дефицита 11 β -гидроксилазы, обусловленными мутациями в гене CYP11B1.

Материал и методы

Гормональные исследования: количественное определение прямого ренина в плазме проводили методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализатора LIASON. Активность ренина плазмы (АРП) измеряли радиоиммунологическим методом с помощью наборов фирмы IMMUNOTECH. Уровни лютеинизирующего гормона (ЛГ) и фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) определяли с использованием автоматического анализатора VITROS Eci («Johnson & Johnson», «Ortho-Clinical Diagnostics»), уровни АКТГ — с помощью автоматического анализатора Cobas e411. Содержание кортизола, тестостерона, 21-дезоксикортизола, 17-ОН-прегненолона, 17-ОН-прогестерона (17-ОНП), кортикостерона, прогестерона, 11-дезоксикортизола, дегидроэпиандростерона (ДГЭА), андростендиона до и после стимуляции синактеном-депо (1 мг в/м однократно) исследовали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии — тандемной масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС) в соответствии с уникальной методикой, разработанной в лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ ЭНЦ. Такой анализ получил название мультистероидного анализа. Система ЖХ-МС/МС состояла из градиентного насоса Agilent 1200 с дегазатором, изократического насоса Agilent 1200 и тандемного масс-спектрометра Agilent 6410, сопряженного с источником ионизации АРПИ (фотоионизация при атмосферном давлении). В качестве внутреннего стандарта использовался 17-гидроксипрогестерон-2,2,4,6,6,21,21,21- d_8 .

Молекулярно-генетические исследования. Геномную ДНК выделяли из периферических лейкоцитов с использованием стандартных методов. С помощью ПЦР амплифицировали 3 фрагмента геномной ДНК, охватывающие кодирующую последовательность гена CYP11B1 [11]. После электрофореза в 1% агарозном геле продукты ПЦР выделяли и очищали с использованием набора Wizard PCR Preps DNA Purification System и затем секвенировали на автоматическом секвенаторе Genetic Analyzer Model 3130 («Applied Biosystems»). В качестве референсной последовательности гена CYP11B1 использовали ссыл-

ку Genbank под номером X55764.1. Обозначение мутаций проводили в соответствии с рекомендациями J. den Dunnen и S. Antonarakis [12].

Описания клинических случаев

Случай 1

Пациентка Д., 33 года. Обратилась в ФГБУ ЭНЦ с жалобами на избыточный рост волос на теле, избыточную массу тела, головные боли, сопровождающиеся подъемом артериального давления (АД) максимально до 145/95 мм рт.ст. Избыточный рост волос дебютировал изолированным аденоархией в возрасте 10 лет, в дальнейшем стабильно прогрессировал до выраженного гирсутизма. Менструации с 13 лет, цикл установился через несколько лет; последние 5 лет отмечались регулярные (цикл 28 дней) небольшие безболезненные менструации. В анамнезе одна беременность, которая закончилась медицинским абортom на 19-й неделе. При неоднократном обследовании по поводу вышеописанных жалоб отмечалось повышение уровня 17-ОНП до 16,3—36 нмоль/л (0,3—2,4), тестостерона до 10,8 нмоль/л (0,45—3,75), 17-кетостероидов (17-КС) мочи до 37,5 мг/сут (7—20). Уровни кортизола, дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-С) иммунореактивного инсулина (ИРИ) находились в пределах нормы. Молекулярно-генетическое исследование гена CYP21 не выявило наиболее частых мутаций. По данным компьютерной томографии (КТ), в области тела правого надпочечника выявлено образование округлой формы размерами до 12 мм; в области тела левого надпочечника визуализировано образование овальной формы размером до 12 мм, толщина ножек до 6 мм. После прерывания беременности в течение 2 лет пациентка получала лечение дексаметазоном с положительным эффектом (уменьшение роста волос, снижение массы тела, улучшение общего самочувствия).

В отделении профилактики и терапии эндокринопатий ФГБУ ЭНЦ впервые обследована в возрасте 30 лет: рост 153 см, масса тела 60 кг, индекс массы тела (ИМТ) = 25,6 кг/м², АД 130/85 мм рт.ст., отмечался избыточный рост волос в андрогензависимых зонах. АКТГ (утро) 56,5 пг/мл (7—60), АРП — 0,04 нг/мл/ч (0,5—1,9), альдостерон — 33,3 пмоль/л (27—291). В базальном мультистероидном профиле крови отмечено повышение уровня 11-дезоксикортизола, снижение уровня кортизола, уровень тестостерона на верхней границе нормы (табл. 1). На фоне стимуляции аналогом АКТГ выявлено повышение уровня 11-дезоксикортизола в сочетании с неадекватно низким ответом кортизола — 286,13 нмоль/л (норма более 500). По данным КТ — узелковая гиперплазия обоих надпочечников. Таким образом, на основании клинико-гормональных данных верифи-

Таблица 1. Мультистероидный анализ крови (случай 1)

Гормон, нмоль/л	Базальный уровень	Норма	+Синактен 12 ч
Кортизол	65,45	150—650	286,13
Тестостерон	2,63	0,1—1,0	3,57
17-ОН-прегненолон	3,85	0—10,5	37,47
17-ОН-прогестерон	3,63	0,1—9	32,63
11-Дезоксикортизол	49,79	3,5—16	852,25
Прогестерон	0,43	0—3,0	26,98
Андростендион	0	1,4—7,9	34,9
ДГЭА	1,94	1,0—12,1	12,62
Кортикостерон	1,9	3,8—66,5	103,67

Таблица 2. Мультистероидный анализ крови (случай 2)

Гормон, нмоль/л	Базальный уровень	Норма	+Синактен 12 ч
Кортизол	229	150—650	266
Тестостерон	3,43	0,1—1,0	5,82
17-ОН-прегненолон	0,8	0—10,5	7,15
17-ОН-прогестерон	7,73	0,1—9	24,38
11-Дезоксикортизол	196	3,5—16	586
Прогестерон	0,65	0—3,0	5,22
Андростендион	16,9	1,4—7,9	29,66
Кортикостерон	53,8	3,8—66,5	69,36

цирована неклассическая форма дефицита 11 β -гидроксилазы и назначена постоянная терапия преднизолоном в суточной дозе 12,5 мг, которую пациентка получает до настоящего времени. На фоне лечения АД стабильно нормально, наступила самостоятельная беременность. При молекулярно-генетическом исследовании гена *CYP11B1* (секвенирование) выявлена гетерозиготная мутация с.756_757delGT p. W253fsX257.

Случай 2

Пациент П., 11 лет 10 мес. Ребенок от первой беременности, протекавшей без особенностей, первых срочных родов. При рождении масса тела 4570 г, рост 56 см. Раннее физическое и психомоторное развитие без особенностей. Из анамнеза известно, что с 4 лет отмечалось ускорение темпов роста, с 6,5—7 лет появилось оволосение на лобке. При первичном обследовании в возрасте 7 лет 7 мес выявлено выраженное ускорение костного возраста (по атласу TW20 соответствовал 14,4 года). В гормональном анализе крови отмечалось повышение уровня тестостерона до 2,1 нмоль/л (норма <1,7), 17-ОНП до 8,6 нмоль/л (норма <5,1), ДГЭА-С до 1,84 мкг/мл (0,02—0,09), андростендиона до 27,9 нмоль/л (<1,0). Впервые обследован в отделении наследственных эндокринопатий ФГБУ ЭНЦ в возрасте 8 лет: рост $\approx$ 140,7 см (SDS = +2,37), масса тела 39 кг, ИМТ 18,19 кг/м² (SDS ИМТ = +0,4), АД=110/55 мм рт.ст. Половое развитие — Таннер 2 (G2P2), яички 4—5 мл.

В гормональном профиле: АРП — 2 нг/мл/ч (0,5—1,9), альдостерон 32,7 пмоль/л (27—291), кортизол 372 нмоль/л (123—656), 17-ОНП 14,2 нмоль/л (1,5—7,2), тестостерон 2,2 нмоль/л (0,1—1,0), ДГЭА-С 9560 нмоль/л (500—2600). В базальном мультистероидном профиле отмечено повышение уровня 11-дезоксикортизола, андростендиона, 17-ОНП, ДГЭА, тестостерона (табл. 2). По результатам мультистероидного профиля на фоне стимуляции аналогом АКТГ выявлено значимое повышение уровня 11-дезоксикортизола — 586 нмоль/л, низкий ответ кортизола — 266 нмоль/л (норма >500). При проведении супрессивного теста с дексаметазоном исключена автономная секреция стероидов: кортизол — 26 нмоль/л, 17-ОНП — 0,3 нмоль/л, тестостерон — 0,09 нмоль/л, ДГЭА-С — 2170 нмоль/л. Тест с аналогами рилизинг-гормона (РГ-ЛГ) позволил исключить гонадотропинзависимое преждевременное половое развитие: максимальный выброс ЛГ — 2,4 Ед/л, ФСГ — 4,9 Е/л. При ультразвуковом исследовании (УЗИ) надпочечников выявлена гиперплазия левого надпочечника. Учитывая ускорение темпов роста и костного возраста, клинику преждевременного адренархе, повышение уровня 11-дезоксикортизола в базальном профиле и на пробе с аналогом АКТГ заподозрена «врожденная дисфункция коры надпочечников, дефицит 11 β -гидроксилазы». При молекулярно-генетическом исследовании гена *CYP11B1* выявлены 2 гетерозиготные мутации R448C/R384P. Ребенку назначена заместительная

терапия глюкокортикоидами (кортеф) в дозе 15 мг/сут (12,5 мг/м²). Повторно обследован в ФГБУ ЭНЦ в возрасте 8 лет 9 мес: рост 142,7 см (SDS=+2,08), масса тела 40 кг, ИМТ 19,64 кг/м² (SDS ИМТ=+1,56), скорость роста 3,2 см/год (SDS скорости роста=2,88). В гормональном профиле (на фоне приема глюкокортикоидов): АКТГ — 26,6 пг/мл (7–60), тестостерон — 1,09 нмоль/л (0,1–1,5), 11-дезоксикортизол — 14,95 нмоль/л (3,5–16), 21-дезоксикортизол — 2,05 нмоль/л (0,81–1,24), ФСГ — 1,1 Ед/л, ЛГ — 0,2 Ед/л. С 8 лет 10 мес самостоятельно отменили терапию глюкокортикоидами. За период отмены терапии у мальчика отмечалась выраженная прогрессия полового оволосения, появились клинические признаки истинного полового развития (увеличение объема яичек, размеров полового члена), угревые высыпания на лице и шее. Поведение ребенка стало агрессивным, появились раздражительность, бессонница. Терапия глюкокортикоидами была возобновлена в 11,5 года (перерыв 1,5 года). При госпитализации в ФГБУ ЭНЦ в возрасте 11 лет 9 мес: рост — 152,5 см (SDS=+0,92), масса тела — 41 кг, ИМТ=17,67 кг/м² (SDS=+0,21), АД — 110/60 мм рт.ст. Половое развитие — Таннер 4–5 (G4–5 P4), объем яичек VS=VD — 15–18 мл. На коже лица множественные угревые высыпания, над верхней губой имелись темные волосы. Костный возраст соответствовал 15,3 года (по атласу TW 20). В гормональном профиле на фоне возобновленного лечения глюкокортикоидами: АКТГ — 11,5 пг/мл (7–66), 17-ОНП — 2,1 нмоль/л (0,9–6,6), тестостерон — 3,8 нмоль/л (1,5–12), ДГЭА-С — 9,15 нмоль/л (0,66–6,7), АРП — 1,0 нг/мл/ч (0,5–1,5). Рекомендовано продолжить терапию глюкокортикоидами в суточной дозе 15 мг гидрокортизона (11,6 мг/м²).

Случай 3

Пациентка А., 9 лет. Девочка от 2-й беременности (1-я беременность — прерывание по медицинским показаниям на 24-й неделе), протекавшей на фоне нефропатии, угрозы прерывания. Роды с помощью планового кесарева сечения на 37–38-й неделе. При рождении: рост — 51 см, масса тела — 2800 г. Раннее развитие без особенностей. Наследственность по эндокринопатиям неотягощена. Из анамнеза известно, что с 1,5 до 2 лет у девочки появились единичные остевые волосы на лобке, утомляемость, головная боль. С 3 лет рост волос на лобке усилился, ускорились темпы роста, отмечалось усиленное потоотделение с резким запахом, угревая сыпь на лице. Костный возраст соответствовал 8 годам 10 мес (по атласу Грейлиха—Пайля, при хронологическом возрасте 3 года 7 мес). При исследовании гормонального профиля в возрасте 4 лет отмечалось лишь умеренное повышение уровня 17-ОНП до 3,45 нг/мл (0,07–1,7). Уровни других гормонов находились в

пределах нормальных значений: тестостерон — 1,3 нг/мл, кортизол — 398 нмоль/л (126–626), эстрадиол — 70 пг/мл, ЛГ — 0,3 МЕ/л, ФСГ — 0,4 МЕ/л, ДГЭА-С — 252 мкг/мл. По данным УЗИ, объемных образований надпочечников или их гиперплазии не выявлено; размеры матки и яичников соответствовали возрастной норме. С целью уточнения диагноза девочка направлена в ФГБУ ЭНЦ.

Впервые обследована в отделении наследственных эндокринопатий ФГБУ ЭНЦ в возрасте 4 лет 5 мес: рост — 115,1 см (SDS роста=+2,69), масса тела — 24 кг, ИМТ=18,12 кг/м² (SDS ИМТ=+1,88), АД — 100/70 мм рт.ст. Кожные покровы с явлениями *acne vulgaris* на лице, выраженный запах пота. Половое развитие Таннер 2 (B1P2), умеренная вирилизация клитора. Костный возраст соответствовал 11 годам (по атласу Грейлиха—Пайля). По данным УЗИ органов малого таза, размеры матки и яичников соответствовали 8–9 годам. Гормоны крови (базальный профиль): кортизол — 268 нмоль/л (126–656), 17-ОНП — 31,2 нмоль/л (0,27–6,1), ДГЭА-С — 7260 нмоль/л (100–800), тестостерон — 2,8 нмоль/л (0,1–1,0), эстрадиол — 59 пмоль/л (0–200), ЛГ <0,01 Ед/л (2,6–12,1), ФСГ — 1,3 Ед/л (2–11,6). По данным пробы с аналогом АКТГ (синактен-депо): кортизол — 375 нмоль/л (норма >500), 17-ОНП — 65,8 нмоль/л, ДГЭА-С — 14 750 нмоль/л. По данным пробы с дексаметазоном (8 мг в течение 2 сут): кортизол — 22,7 нмоль/л, 17-ОНП — 0,6 нмоль/л, ДГЭА-С — 1390 нмоль/л, тестостерон — 0,3 нмоль/л. Исключена автономная секреция андрогенов. При молекулярно-генетическом исследовании гена CYP21 (в 16 определяемых позициях) мутации не обнаружены. Девочке назначена терапия глюкокортикоидами (кортеф) в суточной дозе 8,75 мг (9,9 мг/м²), которую она принимала в течение 2,5 мес. В связи с выраженной прибавкой массы тела, увеличением грудных желез препарат был самостоятельно отменен. Повторно была обследована в отделении наследственных эндокринопатий ФГБУ ЭНЦ в возрасте 6 лет 2 мес в связи с жалобами на избыточный рост волос, увеличение грудных желез, избыток массы тела, выраженный запах пота, угревую сыпь, высокий рост. Объективно: рост — 131 см (SDS роста=+3,18), масса тела — 36 кг, ИМТ — 20,98 кг/м² (SDS ИМТ=+2,28), АД — 115/80 мм рт.ст. Половое развитие Таннер 4 (B3P4), умеренная вирилизация клитора. Костный возраст соответствовал 12 годам (по атласу Грейлиха—Пайля). По результатам проведенного обследования: АРП — 0,4 нг/мл/ч (0,5–1,9), АКТГ — 110,3 пг/мл (7–60). В базальном мультистероидном профиле отмечено повышение уровня 11-дезоксикортизола, андростендиона, 17-ОН-прегненолона, ДГЭА-тестостерона, снижение уровня кортизола (табл. 3). На фоне стимуляции аналогом АКТГ отмечалось выраженное повышение уровня 11-дезоксикорти-

Таблица 3. Мультистероидный анализ крови (случай 3)

Гормон, нмоль/л	Базальный уровень	Норма	+Синактен 12 ч
Кортизол	95,76	150—650	153,73
Тестостерон	3,77	0,1—1,0	5,2
17-ОН-прегненолон	62,44	0—10,5	139,88
17-ОН-прогестерон	2,34	0,1—9	6,19
11-Дезоксикортизол	425,5	3,5—16	868,44
Прогестерон	0,35	0—3,0	4,51
Андростендион	23,25	1,4—7,9	41,34
ДГЭА	53,27	1,0—12,1	102,8
Кортикостерон	45,96	3,8—66,5	99,14

зола до 868,44 нмоль/л при низком ответе кортизола — 153,73 нмоль/л (норма >500). На основании пробы с РГ-ЛГ исключено гонадотропинзависимое преждевременное половое развитие (максимальный выброс ЛГ — 0,09 Ед/л). Таким образом, клинико-гормональные данные позволили диагностировать неклассический вариант дефицита 11 β -гидроксилазы. В ходе молекулярно-генетического анализа выявлена гетерозиготная мутация R374Q в гене *CYP11B1*. Рекомендована терапия глюкокортикоидами 15 мг/сут / (12,6 мг/м²).

Обсуждение

ВДКН — группа заболеваний с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленных дефектом одного из ферментов или транспортных белков, принимающих участие в синтезе кортизола. Самой распространенной формой ВДКН, встречающейся более чем в 90% всех случаев, является дефицит 21-гидроксилазы. Второй по частоте встречаемости (5—8%) является дефицит фермента 11 β -гидроксилазы (P450c11) [1]. Нарушение биосинтеза кортикостероидов, связанное с недостаточностью 11 β -гидроксилазы, встречается с частотой 1:100 000—200 000 в европейской популяции [13] при наибольшей распространенности среди населения Израиля (от 1:5000 до 1:7000 новорожденных) [14]. Фермент 11 β -гидроксилаза, относящийся к семейству цитохрома P450, участвует в последнем этапе биосинтеза кортизола из 11-дезоксикортизола в пучковой зоне коры надпочечников, а также катализирует реакцию превращения 11-дезоксикортикостерона в кортикостерон в клубочковой зоне [4]. На коротком плече 8-й хромосомы (8q21) в непосредственной близости друг к другу расположены 2 гена — *CYP11B1* и *CYP11B2*, кодирующие соответственно 11 β -гидроксилазу и 18-гидроксилазу [15]. Мутации *CYP11B1* обуславливают недостаточность 11 β -гидроксилазы, а дефект *CYP11B2* приводит к блокаде превращения кортикостерона в альдостерон и служит причиной редкой формы гипоальдо-

стеронизма, известной под названием «изолированная минералокортикоидная недостаточность». В редких случаях ввиду высокой гомологичности 2 этих генов (до 95%) при неравном кроссинговере происходит образование химерного гена, состоящего из АКТГ-чувствительного промотора *CYP11B1* и кодирующей части *CYP11B2*. Это приводит к развитию редкого заболевания — глюкокортикоидподавляемого гиперальдостеронизма, которое характеризуется артериальной гипертензией, гипокалиемией, слабо повышенным уровнем альдостерона (нечувствительным к ангиотензину II) и чувствительностью к глюкокортикоидам [16]. Для фенотипической реализации генетически обусловленных заболеваний с аутосомно-рецессивным типом наследования, к которым относится и дефицит 11 β -гидроксилазы, необходимо наличие гомозиготной или 2 гетерозиготных мутаций (компаундная гетерозигота) на аллелях пораженного гена. До настоящего момента описано более 70 мутаций гена *CYP11B1*. В опытах *in vitro* показано, что классический фенотип заболевания встречается при снижении активности фермента 11 β -гидроксилазы от 5% и менее, неклассический — от 20 до 60%. Однако более чем в половине случаев, описанных мутаций активность фермента *in vitro* не изучалась [6, 8].

Классический вариант дефицита 11 β -гидроксилазы впервые описан в 50-е годы прошлого столетия [17]. Снижение или почти полное отсутствие синтеза кортизола, обусловленное дефицитом 11 β -гидроксилазы, через активацию АКТГ приводит к гиперплазии коры надпочечников и избыточному синтезу андрогенов, которые являются причиной внутриутробной и постнатальной вирилизации у девочек и преждевременного полового развития у мальчиков. Для лиц обоего пола также характерны такие проявления синдрома гиперандрогении, как ускорение темпов роста и преждевременное закрытие зон роста в костях [3, 4]. Помимо этого, накопление промежуточных продуктов, обладающих минералокортикоидной активностью (11 β -дезоксикортизол, дезоксикортикостерон и др.), вызывают задержку на-

трия, повышение экскреции калия с мочой и гиперволемию, что у $2/3$ пациентов способствует развитию стойкой артериальной гипертензии [2]. Это послужило поводом выделить дефицит 11 β -гидроксилазы в отдельную — гипертоническую форму ВДКН [1]. Следует отметить, что артериальная гипертензия довольно редко встречается у детей грудного и младшего возраста и зачастую имеет невыраженный характер, затрудняя клиническую диагностику дефицита 11 β -гидроксилазы среди других форм ВДКН, сопровождающихся синдромом гиперандрогении.

Лабораторная диагностика недостаточности 11 β -гидроксилазы основана на выявлении повышенного уровня 11-дезоксикортизола и дезоксикортикостерона в сыворотке (базальные и стимулированные аналогами АКТГ) в сочетании с низкой АРП. Повышение экскреции тетрагидропроизводных 11-дезоксикортизола (THS) и дезоксикортикостерона в моче (17-КС, прегнантриола, тетрагидрокортизола и его производных) как критерий дефицита 11 β -гидроксилазы в настоящее время почти не применяется [3, 4].

По аналогии с дефицитом 21-гидроксилазы выделяют и так называемую неклассическую форму дефицита 11 β -гидроксилазы (НК11 β ОН), характеризующуюся частичной потерей функции фермента (от 15 до 40%). Заболевание считается очень редким; его точная распространенность до сих пор остается неизвестной. НК11 β ОН манифестирует незначительной вирилизацией у девочек, преждевременным половым созреванием пациентов обоего пола, а также другими компонентами синдрома гиперандрогении (например, олигоаменореей и/или ановуляцией у женщин репродуктивного возраста). В отличие от классической формы заболевания, артериальная гипертензия встречается у таких пациентов значительно реже [5—7]. Наиболее информативным гормональным маркером неклассической формы дефицита 11 β -гидроксилазы, как и классической формы, является повышение уровня базального и стимулированного аналогами АКТГ уровня 11 β -дезоксикортизола. Количественные критерии данного показателя неоднозначны, однако некоторые авторы [18] предлагают считать достоверным повышение стимулированного 11-дезоксикортизола в 3 раза и более выше установленных нормативных значений.

Первые предположения о существовании неклассической формы дефицита 11 β -гидроксилазы появились в 1983 г., когда была описана группа пациентов (12 человек), с клиническими признаками гиперандрогении (гирсутизм, аменорея у девочек, преждевременное половое созревание у мальчиков) в сочетании с нестабильной артериальной гипертензией у части пациентов. Более чем у половины пациентов были обнаружены повышенные уровни

тетрагидро-11-дезокортизола в моче и стимулированного аналогами АКТГ 11-дезоксикортизола в крови [2]. В 1991 г. группа авторов из США [19] завершила обследование 260 женщин с синдромом гиперандрогении, среди которых только у 0,8% стимулированный уровень 11-дезоксикортизола был в 3 раза и более выше 95-го перцентиля, что позволило предположить у них неклассическую форму дефицита 11 β -гидроксилазы. Проведенные в период с 1990 по 1996 г. исследования также продемонстрировали, что среди пациенток с гиперандрогенией 0,6—8% предположительно имели НК11 β ОН, а среди женщин с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) 8,4% имели повышенные базальные и стимулированные уровни 11-дезоксикортизола в крови, достоверно отличающиеся от таковых у пациентов из группы контроля [20]. Однако все эти сведения основывались только на данных гормонального профиля, тогда как генетическая верификация диагноза не проводилась.

Первые мутации в гене *CYP11B1*, кодирующем фермент 11 β -гидроксилазу и приводящие к развитию неклассической формы дефицита 11 β -гидроксилазы, были описаны в 1997 г. Клинически у всех пациентов отмечались признаки преждевременного адrenaрхе, ускоренные темпы роста и костного созревания. Указаний на повышение артериального давления в анамнезе или при осмотре ни у одного из пациентов не было. В гормональном профиле у 1 пациентки 8,5 лет (П. 1) выявлено повышение уровня 11-дезоксикортизола (табл. 4). У второй 6-летней пациентки (П. 2) уровни кортизола и 11-дезоксикортизола исследованы не были, в моче отмечался значительно повышенный уровень тетрагидро-11-дезоксикортизола, а у мальчика 8,5 лет (П. 3) выявлен повышенный уровень THS и 11-дезоксикортизола в крови. В ходе молекулярно-генетического анализа у 2 девочек были выявлены компаундные гетерозиготные мутации, унаследованные от обоих родителей (здоровых носителей): у первой пациентки — 2 миссенс-мутации N133H и T319M, у второй — миссенс-мутация P42S и нонсенс-мутация Y423X. У мальчика, несмотря на яркую клинико-лабораторную картину заболевания, мутаций выявлено не было, что, по мнению авторов, не исключало диагноз, и было связано с интронной локализацией генного дефекта. Все 4 мутации были описаны впервые. В опытах *in vitro* было продемонстрировано, что мутации N133H, T319M и P42S приводят к снижению активности фермента на 17, 37 и 15% соответственно, что сравнимо с неклассической формой дефицита 21-гидроксилазы, для которой потеря функции фермента составляет от 20 до 60% [5].

В 2010 г. было описано еще 2 пациента с доказанной неклассической формой дефицита 11 β -гидроксилазы. У мальчика 10 лет без артериальной гипертензии (П. 4) отмечались клинические

Таблица 4. Характеристика пациентов с НК11βОН

Характеристика	Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3	Пациент 4	Пациент 5	Пациент 6	Пациент 7	Пациент 8
Пол	Ж	Ж	М	М	Ж	Ж	М	Ж
Возраст на момент обращения	8 лет 5 мес	5 лет 10 мес	8 лет 5 мес	10 лет 3 мес	33 года	33 года	8 лет	4 года 5 мес
Рост	>95 процентиля	75 процентиля	>95 процентиля	+3,26 SDS	?	Конечный 153 см	+2,37 SDS	+2,69 SDS
Костный возраст	12	12	13	14	—	—	14,4	11
Половое развитие по Таннер	P2	P2	P2	P3G3, яички по 8 мл	5, теппс с 13,5 года	5, теппс с 13 лет	P2	BP2
Другие симптомы гиперандрогении	?	Акне	Акне	Акне	—	Гипертрихоз, невынашивание беременности	—	Усиленное потоотделение, запах пота, акне
Артериальное давление, мм рт.ст.	?	?	?	норма	норма	145/95	110/55	100/70
Уровни 11-дезоксикортизола базальные	12 (<5)	—	84 (<5)	114 (<11,6)	—	49,79 (3,5–16)	196 (3,5–16)	425,5 (3,5–16)
Уровни 11-дезоксикортизола на стимуляции аналогами АКГГ	41 (<8)	—	171 (<8)	135 (<23,1)	—	852,25	586	868,44
Кортизол на стимуляции аналогами АКГГ	101 (<300)	—	—	—	—	286,13	266	153,73
Тетрагидрокортизон мочи	—	1690 (<50)	4421 (<50)	—	—	—	—	—
Тестостерон	—	—	—	—	—	2,63 (0,1–1,0)	3,43 (0,1–1,0)	3,77 (0,1–1,0)
Андростендион	—	—	—	—	—	Норма	16,9 (1,4–7,9)	23,25 (1,4–7,9)
Молекулярно-генетическая диагностика	N133H/T319M	P42S?Y423X	Нет	M88I/R384Q	P159L/P159L	c.756_757delGT p.W253fsX257	R448C/R384P	p.R374Q/—
Снижение активности фермента относительно гена дикого типа (представлены данные по каждой мутации соответственно)	17%/37%	15%/данных нет	39,8%/0%	25,8%/25,8%	Не проводилось	Не проводилось	Не проводилось	Не проводилось

признаки преждевременного полового развития: Таннер 3: G3P3; объем яичек 8 мл, акне, ускорение темпов роста и костного созревания. В базальном гормональном профиле и на фоне стимуляции аналогом АКТГ было выявлено характерное повышение уровня 11-дезоксикортизола (см. табл. 4). У второй пациентки 40 лет, имевшей в анамнезе преждевременное изолированное пубархе (с 7 лет), гормональное обследование не проводилось, однако на фоне лечения преднизолоном 4 беременности закончились рождением 4 здоровых детей. Данные о повышении артериального давления также отсутствуют. В ходе молекулярно-генетического обследования у первого пациента (П. 4) обнаружена компаундная гетерозиготная мутация (ранее неизвестная p.M881 и характерная для классической формы заболевания p.R384Q); у второй пациентки (П. 5) — ранее не описанная гомозиготная мутация (p.P159L) в гене *CYP11B1*. Опыты *in vitro* продемонстрировали снижение ферментативной активности при наличии вышеописанных мутаций от $25,8 \pm 3,3\%$ (для P159L) до $39,8 \pm 6,4\%$ (для p.M881), что сравнимо с данными предыдущих исследований [6].

В настоящей работе впервые в отечественной литературе нами описано 3 клинических случая неклассического варианта дефицита 11 β -гидроксилазы. Клинико-гормональные характеристики, результаты молекулярно-генетического обследования, а также сравнительная характеристика основных параметров с ранее описанными 5 клиническими случаями приведены в табл. 4. Возраст наших пациентов на момент обращения колебался от 4,5 года до 33 лет. Ведущие клинические симптомы заболевания были представлены синдромом гиперандрогении: адренархе, ускорение темпов роста, выраженное опережение костного созревания, что согласуется с ранее проведенными исследованиями К. Joehreg и соавт. [5, 6]. У одного из наших пациентов (П. 6) отмечалась умеренная артериальная гипертензия, у 2 других артериальное давление (АД) было на верхней границе возрастной нормы. В имеющейся литературе указаний на артериальную гипертензию у пациентов с данным заболеванием не было. Это позволяет предположить, что артериальная гипертензия у пациентов с НК11 β ОН встречается редко. В нашем исследовании, как и в 2 ранее приведенных, у всех пациентов, у которых был исследован уровень 11-дезоксикортизола, он оказался повышенным. Даже базальный уровень 11-дезоксикортизола был значительно выше приведенных нормативных значений (в 3, 12, 26 раз соответственно), что было характерно и для пациентов, описанных К. Joehreg и соавт. [5, 6], а также соотносится с ранее применяемыми диагностическими критериями [1]. Однако наиболее информативным критерием считается увеличение уровня стимулированного анало-

гами АКТГ 11-дезоксикортизола [5, 6, 16], который оказался в десятки раз выше приведенной нормы у наших пациентов и имел более высокий процент превышения верхнего порогового уровня по сравнению с базальными значениями у 5 ранее описанных пациентов. К сожалению, до настоящего момента отсутствуют установленные нормативы для стимулированного аналогами АКТГ уровня 11-дезоксикортизола. У 2 пациентов (П. 2 и П. 3), обследованных в 1997 г., маркером заболевания также оказался повышенный уровень THS в моче, который у наших пациентов не определялся. По нашим данным, у всех 3 пациентов имела место гормонально подтвержденная надпочечниковая недостаточность (уровень стимулированного кортизола ни в одном случае не превышал 500), а высокий уровень базального тестостерона подтверждал наличие гиперандрогении. При молекулярно-генетическом исследовании гена *CYP11B1* диагноз был подтвержден у всех наших пациентов. У одного обследуемого (П. 7) была выявлена компаундная гетерозиготная мутация, одна из которых (R448C) была ранее описана S. Galey и соавт. как характерная для классической формы дефицита 11 β -гидроксилазы. Вторая мутация (R384P) в литературных источниках не описана. У другого нашего пациента (П. 8) выявлена только одна гетерозиготная мутация (R374Q), также характерная для классической формы заболевания, впервые описанная К. Cignow и соавт. [8] в 1993 г. Совокупность клинико-гормональных данных не ставит под сомнение наличие у пациента НК11 β ОН, а отсутствие второй мутации можно объяснить интронной локализацией генного дефекта, что предполагалось и у одного из ранее описанных пациентов (П. 3) [5]. При молекулярно-генетическом исследовании гена *CYP11B1* у взрослой пациентки (П. 6) была также выявлена одна мутация (c.756_757delGT p.W253fsX257), ранее в литературе не описанная и приводящая к сдвигу рамки считывания, что также не позволяет исключить у пациентки НК11 β ОН ввиду наличия яркой клинико-лабораторной картины заболевания. Исследования зарубежных ученых показали, что степень снижения активности фермента *in vitro* при найденных ими мутациях, вызывающих НК11 β ОН, составляет от 15 до 39,8%; это согласуется с результатами исследований при неклассической форме дефицита 21-гидроксилазы [20]. Активность фермента 11 β -гидроксилазы *in vitro* при найденных нами ранее неописанных мутациях не исследовалась. Всем пациентам были назначены препараты глюкокортикоидов в заместительной дозе с положительным эффектом.

Таким образом, наличие признаков гиперандрогении в сочетании с артериальной гипертензией или без нее и резко повышенным базальным и/или стимулированным уровнем 11-дезоксикортизола у пациентов независимо от пола и возраста позволяет

заподозрить неклассический вариант дефицита 11 β -гидроксилазы. Несмотря на то что в 2 из 3 описанных случаев были выявлены мутации в гетерозиготном состоянии, их характер, приводящий к выраженной потере функции белка, и типичные клинико-лабораторные изменения позволяют с большой долей вероятности предположить наличие в каждом случае второй мутации в некодирующей области гена *CYP11B1*.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — А.Н. Тюльпаков

Сбор и обработка материала — А.Н. Тюльпаков, Н.А. Зубкова, Т.А. Ионова, А.Н. Нижник, Л.В. Савельева

Написание текста — Н.А. Зубкова, Т.А. Ионова

Редактирование — А.Н. Тюльпаков, Н.А. Зубкова, А.Н. Нижник, Л.В. Савельева

ЛИТЕРАТУРА

1. White P, Cumow K, Pascoe L. Disorders of steroid 11-hydroxylase isoenzymes, *Endocrin Rev* 1994; 15: 421–438.
2. Hague W, Honour J. Malignant hypertension in congenital adrenal hyperplasia due to 11-hydroxylase deficiency. *Clin Endocrinol (Oxford)* 1983; 18: 505–510.
3. Soardi F, Penachioni J, Justo G. Novel mutations in CYP11B1 gene leading to 11beta-hydroxylase deficiency in Brazilian patients. *J Clin Endocrinol Metabol* 2009; 94: 9: 3481–3485.
4. Spoudeas H, Slater J, Rumsby G. Deoxycorticosterone, 11-hydroxylase and the adrenal cortex. *Clin Endocrinol (Oxford)* 1994; 39: 245–251.
5. Joehrer K, Geley S, Elisabeth M.C. et al. CYP11B1 mutations causing non-classic adrenal hyperplasia due to 11-hydroxylase deficiency. *Human Mol Genet* 1997; 6: 11: 1829–1834.
6. Parajes S, Loidi L, Reisch N, Dhir V, Rose I.T., Hampel R, Quinkler M., Conway G.S., Castro-Feijoo L., Araujo-Vilar D., Pombo M., Dominguez F, Williams E.L., Cole T.R., Kirk J.M., Kaminsky E., Rumsby G., Arlt W, Krone N. Functional consequences of seven novel mutations in the CYP11B1 gene: four mutations associated with nonclassic and three mutations causing classic 11 (beta)-hydroxylase deficiency. 2010.
7. Clark P.A. Nonclassic 11 beta-hydroxylase deficiency: report of two patients and review. *J Pediatr Endocrinol Metabol* 2000; 13: 1: 105–109.
8. Curnow K., Slutsker L., Vitek J. Mutations in the CYP11B1 gene causing congenital adrenal hyperplasia and hypertension cluster in exons 6, 7, and 8. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 4552–4556.
9. Krawczak M., Cooper D. The humangene mutation database. *Trends Genet* 1997; 13: 121–122.
10. Kelestimur F., Sahin Y., Ayata D., Tutus A. The prevalence of non-classic adrenal hyperplasia due to 11 beta-hydroxylase deficiency among hirsute women in a Turkish population. *Clin Endocrinol (Oxford)* 1996; 45: 4: 381–384.
11. Geley S., Kapelari K., Johrer K., Peter M., Glatzl J., Vierhapper H., Schwarz S., Helmberg A., Sippell W., White P., Kofler R. CYP11B1 mutations causing congenital adrenal hyperplasia due to 11 β -hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metabol* 1996; 81: 2896–2901.
12. Den Dunnen J.T., Antonarakis S.E. Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion. *Hum Genet* 2001; 109: 1: 121–124.
13. Zachmann M., Tassinari D., Prader A. Clinical and biochemical variability of congenital adrenal hyperplasia due to 11 beta-hydroxylase deficiency. A study of 25 patients. *J Clin Endocrinol Metabol* 1983; 56: 2: 222–229.
14. Rosler A., Leiberman E., Cohen T. High frequency of congenital adrenal hyperplasia (classic 11 beta-hydroxylase deficiency) among Jews from Morocco. *Am J Med Genet* 1992; 42: 6: 827–834.
15. Momet E., Dupont J., Vitek A., White P. Characterization of two genes encoding human steroid 11-hydroxylase (P45011B). *J Biol Chem* 1997; 264: 20961–20967.
16. Portrat S., Mulatero P., Cumow K., Chaussain J.L., Morel Y., Pascoe L. Deletion genes, due to unequal crossing over between CYP11B1 (11 β -hydroxylase) and CYP11B2 (aldosterone synthase) cause steroid 11-hydroxylase deficiency and congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metabol* 2001; 86: 3197–3201.
17. Shepard T., Clausen S. Case of adrenogenital syndrome with hypertension treated with cortisone. *Pediatrics* 1951; 8: 805–813.
18. Arnaout M.A. Late-onset congenital adrenal hyperplasia in women with hirsutism. *Eur J Clin Inv* 1992; 22: 10: 651–658.
19. Azziz R., Boots L., Parker C. 11 beta-hydroxylase deficiency in hyperandrogenism. 1991; 55: 4: 733–741.
20. Sahin Y., Kelestimur F. The frequency of late-onset 21-hydroxylase and 11 β -hydroxylase deficiency in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 1997; 137: 6: 670–674.