

ГНЦ РФ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ХАБИБУЛЛИНА ДИНА АЛЬБЕРТОВНА

**Гонадотропинзависимое преждевременное половое развитие:
клинические характеристики и молекулярно-генетическая
гетерогенность**

3.1.19 - ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Доктор медицинских наук
Безлепкина Ольга Борисовна

Москва, 2024

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1 Регуляция полового созревания.....	10
1.2 Молекулярная генетика преждевременной активации гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси.....	14
1.2.1 Гены <i>KISS1</i> и <i>KISS1R</i>	14
1.2.2 Ген <i>DLK1</i>	19
1.2.3 Ген <i>MKRN3</i>	28
1.2.4 Другие гены-кандидаты, потенциально ассоциированные с преждевременным половым развитием	32
1.3 Медикаментозная терапия гонадотропинзависимого преждевременного полового развития.....	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	36
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ..	44
3.1 Клиническая и лабораторно-инструментальная характеристика пациентов	44
3.2 Результаты молекулярно-генетического анализа у детей с преждевременным половым развитием	51
3.2.1 Вариантные замены, ассоциированные с преждевременной активацией ГГГО в периоде детства (молекулярно-генетический полиморфизм).....	51
3.2.2 Моногенные формы ППР, обусловленные вариантами заменами в гене <i>MKRN3</i>	63
3.3 Медикаментозная терапия ППР пролонгированными аналогами ГнРГ (Трипторелин).....	71
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	75

ЗАКЛЮЧЕНИЕ	87
ВЫВОДЫ	90
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	91
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	92
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	93

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Гонадотропинзависимое (истинное) преждевременное половое развитие (ППР) – появление вторичных половых признаков у девочек до 8 лет, у мальчиков до 9 лет вследствие преждевременной активации механизмов импульсной секреции гонадотропин-рилизинг гормона (ГнРГ). Причиной истинного ППР могут быть опухоли хиазмально-селлярной области (гамартома, глиома, астроцитомы), органические поражения ЦНС (арахноидальные кисты, травмы, гидроцефалия), избыток половых стероидов вследствие периферических форм ППР. В 90% случаев среди девочек и в 25–60% случаев у мальчиков генез гонадотропинзависимого ППР остается неясным – идиопатическое ППР. По данным мировой литературы частота ППР составляет 1:5000-1:10000, при этом в 10-25 раз чаще среди девочек [1–5].

Большой интерес представляет изучение механизмов активации полового созревания, поскольку его сроки определяются комплексным взаимодействием генетических, эпигенетических и социально-средовых факторов. Доказательства генетической регуляции являются неоспоримыми, что подтверждается рядом исследований, продемонстрировавших корреляцию между возрастом начала полового созревания у детей и родителей, а также сходство сроков полового созревания у монозиготных близнецов [6–8]. Согласно зарубежным данным каждый четвертый случай (22-27,5%) идиопатического ППР является семейным вариантом, позволяя заподозрить моногенный характер наследования [9–11].

В настоящее время вариантные замены в генах *KISS1*, *KISS1R*, *MKRN3*, *DLK1* ассоциированы с преждевременной активацией гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси (ГГГО) и развитием ППР [8,12,13]. Мутации в гене *MKRN3* признаны самой частой причиной моногенных форм ППР, описано более 50 вариантных замен, ассоциированных с развитием заболевания [13]. Среди эпигенетических механизмов описаны аномалии метилирования, раз-

личные вариации числа копий вследствие делеций или однородительской дисомии [8]. На сегодняшний день в РФ есть лишь единичные описания клинических случаев моногенных форм ППР [14], однако данные о частоте семейных и генетически детерминированных вариантов ППР отсутствуют, что определяет актуальность исследования.

Преждевременное половое созревание связано с неудовлетворительным ростовым прогнозом, психосоциальной дезадаптацией и повышенным риском различных метаболических осложнений в будущем. Это диктует необходимость своевременной диагностики и терапии. «Золотым стандартом» терапии центрального ППР являются препараты пролонгированных аналогов ГнРГ. Вопрос о выборе оптимальной дозы и режима введения остается дискуссионным, что обуславливает актуальность проблемы.

Цель исследования:

Изучить молекулярно-генетическую основу, клинические и гормонально-метаболические особенности идиопатического гонадотропинзависимого преждевременного полового развития.

Задачи исследования:

1. Определить частоту и характер изменений в генах, ассоциированных с гонадотропинзависимым преждевременным половым развитием при семейных и спорадических формах заболевания.
2. Сравнить клинические и гормонально-метаболические проявления преждевременного полового развития в зависимости от формы и молекулярно-генетической основы заболевания.
3. Оценить эффективность различных режимов терапии гонадотропинзависимого преждевременного полового развития пролонгированными аналогами гонадотропин-рилизинг гормона.

Научная новизна:

Оценена частота семейных вариантов гонадотропинзависимого преждевременного полового созревания у детей в Российской Федерации, составившая 49,0% (95%ДИ [39,5; 58,6]).

Впервые на большой выборке детей с идиопатическим гонадотропинзависимым преждевременным половым развитием проведено молекулярно-генетическое исследование методом NGS (next generation sequencing), изучены генетические основы заболевания. Оценена частота вариантных замен в гене *MKRN3* и других генетических дефектов у детей с гонадотропинзависимым ППР при семейных и спорадических случаях заболевания. Проведена оценка ассоциации генотип-фенотип.

Продемонстрирована эффективность метода молекулярно-генетической диагностики синдрома Темпл у детей с гонадотропинзависимым преждевременным половым развитием и прадероподобными фенотипическими особенностями.

Проведена оценка сравнительной эффективности различных режимов терапии гонадотропинзависимого ППР.

Теоретическая и практическая значимость:

Детальный анализ семейного анамнеза с определением характера наследования гонадотропинзависимого ППР позволяет определить показания к проведению молекулярно-генетического анализа. Идентификация генетической основы заболевания является важной для медико-генетического консультирования семей, выделения групп риска по развитию ППР и определения подхода к наблюдению и своевременному лечению.

Оценка ассоциации фенотипических проявлений и результатов молекулярно-генетического анализа позволили продемонстрировать эффективность диагностики синдрома Темпл путем исследования 14 хромосомы методом хромосомного микроматричного анализа (ХМА) или MLPA (метилование-специфичная мультиплексная лигазозависимая амплификация).

Терапия пролонгированными аналогами ГнРГ в дозе 11,25 мг ежеквартально обладает сопоставимой клинической эффективностью и безопасностью в сравнении со стандартным введением 3,75 мг ежемесячно (отсутствие прогрессии вторичных половых признаков, снижение скорости роста и отсутствие прогрессии костного созревания). Выбор ежеквартальных инъекций может повысить приверженность к лечению и добиться лучших терапевтических результатов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Распространенность семейных вариантов преждевременного полового развития, где у одного и более членов семьи отмечается преждевременное половое развитие, составляет 49,0% (95%ДИ [39,5; 58,6]).

2. Молекулярно-генетические дефекты в генах, ассоциированных с регуляцией работы гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси и фенотипом ППР, идентифицированы в 30% случаев (95%ДИ [19,0; 42,8]) при семейных вариантах заболевания и в 21,1% случаев (95%ДИ [12,0; 34,2]) – при спорадических вариантах.

3. Среди однонуклеотидных вариантов преобладали мутации в гене *MKRN3* – 53,8% (95%ДИ [35,4; 71,2]), более чем в половине случаев установлено наследование дефекта по отцовской линии – 64,3% случаев (95%ДИ [38,6; 83,2]).

4. Фенотипы детей с моногенной формой преждевременного полового развития (вследствие дефектов в гене *MKRN3*) и идиопатической (генетически недетерминированной) формой заболевания не отличаются.

5. Терапия пролонгированными аналогами ГнРГ в дозах 11,25 мг и 3,75 мг обладает сопоставимой клинической эффективностью и безопасностью. При ежеквартальном введении препарата отмечена тенденция к большему снижению скорости роста.

Степень достоверности

Достоверность полученных выводов и практических рекомендаций подтверждается данными опубликованных зарубежных исследований по клинической и молекулярно-генетической гетерогенности гонадотропозависимого ППР; применением методов исследования с доказанной эффективностью; проведением экспериментальных методов согласно стандартам; обработкой полученных результатов согласно правилам статистического анализа.

Этическая экспертиза

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, протокол № 26 от 22.12.2021. Информированное согласие получено от родителей и/или законных представителей всех обследованных пациентов.

Личное участие автора в получении научных результатов

Автор лично провел анализ состояния научной проблемы в мире на основании данных литературы, сформулировал цель, задачи и дизайн диссертационной работы. Принимал непосредственное участие в клинической работе с пациентами, в организации проведения лабораторных и инструментальных исследований, прочтении данных, полученных по результатам полноэкзомного секвенирования. Автор подготовил базу данных, систематизировал полученные данные, осуществил статистический анализ, подготовил публикации по теме диссертации.

Апробация результатов:

Результаты и основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на:

1. I Конференции по орфанным и детским эндокринным заболеваниям с международным участием «Достижения науки в практику детского эндокринолога» (4-5 декабря 2021 г, Москва);
2. II Конференции по орфанным и детским эндокринным заболеваниям с международным участием «Персонализированный подход в детской эндокринологии» (29-30 марта 2022 г, г. Москва);

3. III Конференции по орфанным и детским эндокринным заболеваниям с международным участием «Молекулярно-генетические исследования в практике детского эндокринолога» (28-29 марта 2023 год, г. Москва);
4. XIX Российской научно-практической конференции детских эндокринологов «Достижения науки в практику детского эндокринолога» (30 апреля 2023 года, г. Санкт-Петербург);
5. IV Конференции по орфанным и детским эндокринным заболеваниям с международным участием «Эндокринная орфанетика: достижения и перспективы» (26–27 марта 2024 года, г. Москва).

Публикации:

Всего автором опубликовано 13 печатных работ. По теме диссертационной работы опубликовано 11 работ, из них 3 тезиса – в сборниках зарубежных конференций, 6 тезисов – в сборниках российских конференций, 2 полнотекстовых оригинальных исследования, опубликованных журналах, входящих в Перечень ведущих рецензируемых журналов и изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 106 страницах печатного текста, состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений. Библиография представлена 15 отечественными и 129 зарубежными источниками. Работа содержит 17 рисунков и 11 таблиц.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Гонадотропинзависимая форма преждевременного полового развития обусловлена преждевременной активацией механизма импульсной секреции ГнРГ вследствие функциональных или органических поражений ЦНС, что приводит к преждевременному высвобождению ЛГ и ФСГ, и развитию клинической картины истинного полового созревания. При отсутствии патологии центральной нервной системы данное состояние традиционно обозначается идиопатическим. По данным мировой литературы частота ППР составляет от 1:5000 до 1:10 000 детского населения, в 10-25 раз чаще встречаясь среди девочек [6,15–20].

1.1 Регуляция полового созревания

Половое созревание — это переходный период между детством и половой зрелостью, контролируемый комплексом нейроэндокринных факторов, обеспечивающих физическую, психическую и репродуктивную зрелость организма. Соматический рост, достижение половозрелых пропорций и развитие вторичных половых признаков являются результатом действия гормонов и нейросекреторных факторов. Активация ГГГО, приводящая к повышению секреции половых стероидов, играет ведущую роль в инициации полового созревания, обеспечивая комплекс физиологических, морфологических и психосоциальных изменений организма ребенка.

ГГГО включает в себя несколько популяций нейронов в гипоталамусе, гонадотрофы гипофиза и гонады. В настоящее время ведется множество научных исследований, предметом которых является изучение механизмов, регулирующих активность ГГГО. Область гипоталамуса, генерирующая пульсирующее высвобождение ГнРГ, известна как «генератор импульсов ГнРГ» — термин, впервые появившийся в начале 80-х годов, когда было установлено, что пульсовая активность ГнРГ напрямую зависит от скоординированного действия нейронов, распространяющихся от дугообразного ядра гипоталамуса и преоптической области до роstralной области гипоталамуса. К настоящему времени определено влияние различных нейропептидов на деятельность ГнРГ

«генератора»: стимулирующее влияние оказывают нейрокинин В, глутамат, норадреналин, ингибирующее – ГАМК, эндогенные опиаты, Y-нейропептид [21].

Предметом активного изучения является генетическая основа механизмов полового созревания. Убедительные доказательства влияния генетических факторов на сроки полового созревания были представлены исследованиями, в которых роль генетических факторов иллюстрирована схожим возрастом наступления менархе у матерей и дочерей, а также высокой согласованностью периода полового созревания у монозиготных близнецов по сравнению с дизиготными [7]. Кроме того, до 27,5% случаев центрального преждевременного полового созревания являются семейными вариантами и предполагают моногенный аутосомно-доминантный характер наследования с неполной пенетрантностью, зависящей от пола [7,22,23]. Несмотря на многочисленные данные, свидетельствующие о том, что возраст начала полового развития в основном определяется генетическими факторами (60-80%), генетические детерминанты сроков инициации пубертата, в частности, центрального преждевременного полового созревания, остаются недостаточно изученными [23–26].

Клинические описания семейных форм ППП встречаются в литературе с 1981 г., когда N. Norwood и соавт. впервые описали отца и двух сибсов с центральным ППП, предположив тем самым моногенный характер наследования заболевания [27]. Многие специалисты проводили исследования для выяснения механизмов, которые активируют пульсовую секрецию ГнРГ, способствуя старту полового созревания. В последнее десятилетие отмечается расширение возможностей и доступности молекулярно-генетических исследований, что позволило идентифицировать несколько новых генов в сети ингибирующих и стимулирующих нейроэндокринных факторов, которые непосредственно модулируют сроки полового созревания. В настоящее время наиболее изученными моногенными причинами гонадотропинзависимого ППП являются гены

KISS1, *KISS1R*, *DLK1* и *MKRN3* (таблица 1), встречающиеся как при семейных, так и при спорадических формах заболевания (рисунок 1).

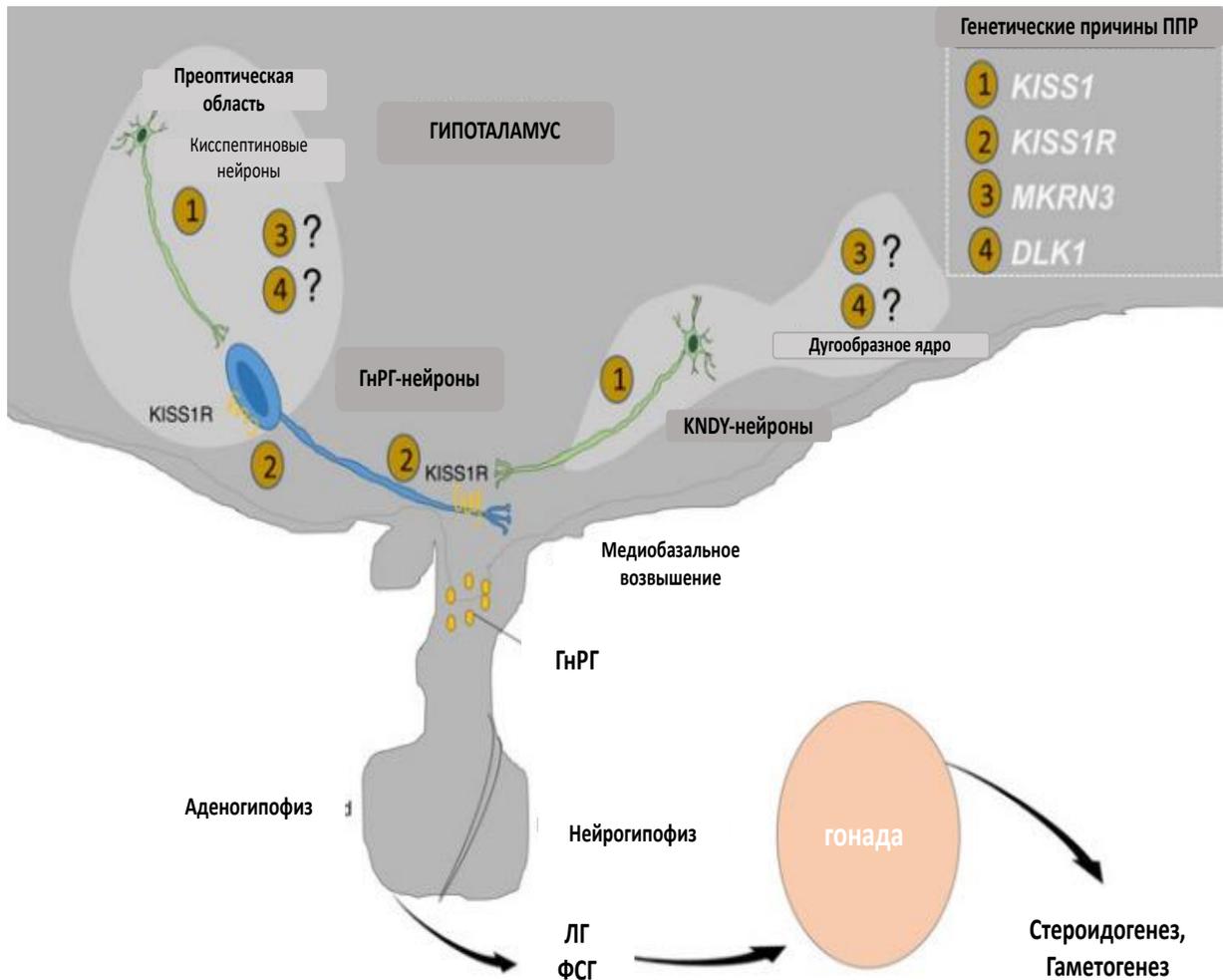


Рисунок 1. Активация работы гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси (Roberts S. и соавт. [8])

В таблице 1 представлены данные о характере экспрессии и типе наследования основных генов-кандидатов, ассоциированных с ППР, различные нарушения нуклеотидных последовательностей в которых способствуют преждевременной активации ГГГО.

Таблица 1. Гены, ассоциированные с гонадотропинзависимым преждевременным половым развитием [8,28,29]

<i>Ген</i>	<i>Первичные точки экспрессии</i>	<i>Результат нарушений в нуклеотидной последовательности</i>	<i>Тип наследования признака</i>
<i>KISS1</i>	Гипоталамус (воронкообразное ядро, преоптическая область)	Стимулирующее действие: длительная активация внутриклеточных сигнальных путей, продолженная внутриклеточная передача сигнала	Аутосомно-рецессивный
<i>KISS1R</i>	Гипоталамус (ГнРГ-секретирующие нейроны)	Стимулирующее действие: повышение стабильности, снижение деградации, усиление рециркуляции рецептора на плазматической мембране	Аутосомно-доминантный
<i>DLKI</i>	Ядра гипоталамуса, гипофиз, надпочечники, гонады	Ингибирующее действие: потеря экспрессии гена способствует преждевременной дифференцировке <i>KISS1</i> нейронов (точный механизм неизвестен)	Аутосомно-доминантный. Феномен импринтинга
<i>MKRN3</i>	Гипоталамус (дугобразное ядро)	Ингибирующее действие: потеря экспрессии гена стимулирует пульсовую секрецию ГнРГ, стимулирует секрецию ксипептина и нейрокина В (точный механизм не известен)	Аутосомно-доминантный. Феномен импринтинга

1.2 Молекулярная генетика преждевременной активации гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси

1.2.1 Гены *KISS1* и *KISS1R*

Гипоталамический контроль репродуктивной функции находится под влиянием множества нейроэндокринных факторов, одним из которых является экспрессия кисспептина совместно нейрокинином В и динорфином, обозначаемых термином «KNDY-нейроны» (кисспептин-нейрокинин В-динорфин). Предполагается, что стимулирующее воздействие кисспептин- и нейрокинин-В-нейронов в сочетании со снижением ингибирующего эффекта динорфина способствует увеличению экспрессии генов и секреции ГнРГ [30,31]. Гипотеза о том, что кисспептин влияет на биосинтез и/или секрецию ГнРГ, была подтверждена исследованиями *in vivo*, доказавшими, что периферическое и центральное введение кисспептина является катализатором массивной ГнРГ-индуцированной секреции ЛГ и ФСГ [31–33].

Демонстрация роли передачи сигналов KISSPEPTIN-KISS1R была открытием, которое прочно установило данную систему в качестве критического регулятора репродуктивной функции. Нейроны, секретирующие кисспептин, в основном локализируются в воронкообразном ядре и преоптической области гипоталамуса, в прочной взаимосвязи с KNDY – нейронами, ко-секретирующие нейрокинин и динорфин. Аксоны данных нейронов образуют плотные перикапиллярные сплетения в стебле воронки- месте нейросекреции ГнРГ [31,34]. Взаимодействие кисспептина с его клеточным рецептором (KISS1R) на ГнРГ – секретирующих нейронах является определяющим фактором в активации нейронов, высвобождающих ГнРГ, и в регуляции работы гипофиза и гонад. Однако помимо ЦНС рецептор кисспептина обнаружен в плаценте, спинном мозге и поджелудочной железе. Менее выраженная экспрессия рецептора обнаружена в желудке, тонкой кишке, тимусе, легких, аорте, коронарных артериях, гонадах, почках и печени плода. Такое разнообразие локализации рецептора свидетельствует о влиянии кисспептина на деятельность и

других органов и систем организма, помимо репродуктивной функции [35–38].

Исследованиями *in vivo* было показано, что гипоталамическая экспрессия мРНК *KISS1* и *KISS1R* значительно повышается в период полового созревания у млекопитающих, а процент ГнРГ-нейронов деполяризующихся в ответ на кисспептин увеличивается от ювенильных (25%) до препубертатных (50%) и взрослых (90%), что позволяет предположить что нейроны ГнРГ приобретают повышенную чувствительность к кисспептину начиная с периода полового созревания [33,39]. В дополнение к этим физиологическим изменениям, связывающим передачу сигналов кисспептина со временем полового созревания, введение экзогенного кисспептина приводило к выбросу гонадотропинов и более раннему половому созреванию у крыс и обезьян [40,41].

О факторах, влияющих непосредственно на *KISS1*-нейроны, известно мало, однако существует гипотеза о непосредственной роли половых стероидов на экспрессию кисспептина. Рядом исследований на поверхности *KISS1*-нейронов были обнаружены эстрогеновые рецепторы ER- α и ER- β , отсутствующие на поверхности ГнРГ-секретирующих нейронов, кроме того, было продемонстрировано, что влияние кисспептина на активность ГнРГ-нейронов является дозозависимым и усиливается эстрадиолом [37,38,42]. В препубертатном периоде низкие уровни половых стероидов маловероятно могут выступать полноценным катализатором экспрессии кисспептина, однако существует предположение, что снижение активности ингибирующих нейропептидов (ГАМК, эндогенные опиаты, Y-нейропептид) может быть достаточным для активации нейронов в условиях низкой концентрации эстрогенов [43–46]. Помимо этого, лептин также способен оказывать влияние на секрецию кисспептина, воздействуя опосредованно через глутаматергические нейроны [47,48].

Ген *KISS1* впервые идентифицирован в 1996 г, как супрессор метастазирования злокачественной меланомы человека. Кисспептин («белок поцелуев»), кодируемый геном *KISS1*, был открыт в 1999 году. Свое название ген

получил благодаря известной продукции американской компании по производству шоколада Херши – конфетам «Hershey's Kiss». Лаборатория, где было сделано открытие, находилась неподалеку от городка Hershey в штате Пенсильвания, где также базируется одноименная компания.

Ген *KISS1* локализован на длинном плече 1 хромосомы (1q32) и состоит из четырех экзонов. Продуктом экспрессии гена является полипептид из 145 аминокислот, который расщепляется до белка, состоящего из 54 аминокислот. Первоначально транскрипт из 54 аминокислот был назван «метастинном» благодаря его способности подавлять клетки метастазов злокачественных новообразований. Метастин и более короткие пептиды, состоящие из 10, 13 и 14 аминокислот, в совокупности получили название кисспептинов, поскольку все являются результатом протеолиза общего белка-предшественника, кодируемого геном *KISS1*, и имеют общую С-концевую последовательность Arg-Phe-NH₂ [49].

В 2005 г. Киношита с соавторами исследовали, является ли метастин, продукт гена-супрессора метастазирования *KISS1*, центральным нейропептидом, регулирующим всплески секреции ГнРГ-ЛГ, а затем и цикличность секреции эстрогена у самок крыс. Инъекция метастина в третий желудочек или преоптическую область гипоталамуса, где располагается наибольшее количество нейронов ГнРГ, увеличивала концентрацию ЛГ в плазме у крыс с овариэктомией. Напротив, блокада локального действия метастина в преоптической области специфическими моноклональными антителами к метастину полностью устраняла выброс ЛГ и ингибировала цикличную секрецию эстрогенов. Так, авторы пришли к выводу, что метастин, высвобождаемый в преоптической области, индуцирует секрецию ЛГ, регулируя тем самым секрецию половых стероидов [50]. В 2001 году кисспептин был идентифицирован как лиганд G-протеин связанного рецептора *KISS1R*, ранее известного как GPR54. При связывании с кисспептином *KISS1R* активирует фосфолипазу C, запуская высвобождение вторичных внутриклеточных мессенджеров: инозитолтрифос-

фата и диацилглицерина, которые, в свою очередь, опосредуют высвобождение кальция и активацию протеинкиназы С. Данным каскадом реакций осуществляется деполяризация мембраны, опосредующая функцию кисспептина [51–53].

Одной из гипотез возникновения ППР считается наличие мутаций и/или полиморфизмов в генах *KISS1* и *KISS1R*, имеющих одно из основополагающих влияний на сроки полового созревания. В 2008 г. Teles MG с соавторами впервые описали моногенный характер центрального ППР у девочки – гетерозиготная активирующая мутация с.1157C>G (p.Arg386Pro) гена *KISS1R*. С рождения у пациентки отмечалось медленно прогрессирующее телархе, с 7 лет – быстрая прогрессия вторичных половых признаков, ускорение темпов роста и костного созревания. Клинические и лабораторно-инструментальные методы обследования подтвердили идиопатический гонадотропинзависимый характер ППР. Несмотря на отсутствие возможности проанализировать семейный анамнез, анализ данных популяционных частот позволил предположить непосредственную роль мутации в патогенезе заболевания. Исследования *in vitro* показали, что наличие мутации не меняет активность самого рецептора, так же как и его сродство к лиганду, однако приводит к длительной активации внутриклеточных сигнальных путей, в частности, пролонгированное накопление инозитолфосфата (до 18 часов после связывания кисспептина с рецептором), что соответственно приводит к продолженной внутриклеточной передаче сигнала. В отличие от активирующих мутаций, ассоциированных с усилением функции G-белок-сопряженных рецепторов, которые вызывают их автономную активацию, мутации гена *KISS1R* снижают степень десенсibilизации мутантного рецептора на поверхности клеток после его связывания с лигандом. Действительно, идентифицированная мутация приводит к снижению деградации *KISS1R*, в результате чего увеличивается количество активированных рецепторов на плазматической мембране. Это, в свою очередь, что может усиливать стимулирующие эффекты кисспептина на секрецию GnRH, ускоряя тем самым созревание репродуктивной оси [54,55].

На сегодняшний день проведено не одно исследование, посвященное поиску взаимосвязи между мутациями генов кисспептинового пути с ППР. Группа китайских ученых провела генетический анализ среди 272 китайских девочек с идиопатическим ППР, выявив 8 полиморфизмов в гене *KISS1*, ассоциированных по мнению авторов с развитием заболевания [56]. Аналогичное исследование проводилось среди корейских детей, где в исследуемой группе из 194 девочек с идиопатическим ППР было также обнаружено 7 полиморфизмов и миссенс-мутация с.1091T>A (p.Leu364His) в гене *KISS1R* [57]. По данным исследований ученых Ирана было выявлено 3 полиморфизма в кодирующей области гена *KISS1R* среди 25 пациентов с отягощенным по преждевременному половому развитию семейным анамнезом и 4 полиморфизма *KISS1* среди 30 детей с идиопатическим ППР [58,59]. Paganì с соавторами описали миссенс вариант в гене *KISS1R* с.1091T>A (p.Leu364His) среди пациенток с ранним и преждевременным половым развитием, ранее описанный в ассоциации с ППР у корейских девочек. Вариант был идентифицирован в обеих группах, однако авторы не исключили, что данная однонуклеотидная замена может предрасполагать к преждевременной активации ГГО [57,60]. В другом исследовании, проведенном в Бразилии, Silveira et al. исследовали мутации гена *KISS1* у 83 пациентов с идиопатическим ППР: было обнаружено две миссенс-мутации (с. 369C > T (p.Pro74Ser) и с. 417C > G (p.His90Asp) у троих неродственных детей. Гетерозиготный вариант p.Pro74Ser в гене кисспептина был идентифицирован у мальчика с ранним началом ППР – манифестация заболевания с 12 месяцев жизни. Анализ семейного анамнеза подтвердил спорадический характер заболевания, а у матери и бабушки пациента была обнаружена идентичная вариантная замена в гетерозиготном состоянии. Несмотря на это, на основании функциональных исследований на животных моделях, было выдвинуто предположение о неполной пенетрантности гена *KISS1*. Количество нейронов, экспрессирующих кисспептин в гипоталамусе, более чем в 10 раз выше у женских особей, следовательно, мутации в данном гене могут приводить к различным функциональным изменениям по половому признаку[61].

На основании исследований *in vitro*, авторами было сделано заключение о большей стабильности мутантного нейропептида и его устойчивости к деградации, что предполагает более выраженную способность стимулировать передачу сигнала к лиганду как причину преждевременного полового созревания [62].

Несмотря на то, что вышеописанные клинические случаи расширяют знания о генетической основе ППР, активирующие мутации генов кисспептинового пути по-прежнему являются редкими в структуре моногенных форм заболевания. Учитывая низкую частоту встречаемости мутаций в данных генах относительно частоты случаев семейных форм ППР, несомненно, существуют и альтернативные пути секреции ГнРГ, не зависящие от кисспептина.

1.2.2 Ген *DLK1*

Роль *DLK1* в патогенезе моногенных причин ППР впервые продемонстрирована Dauber et al. в 2017 году. В данном исследовании авторы описали семейный случай ППР, где у пятерых членов одной семьи были идентифицированы крупная делеция 1 экзона (~14 kb), включая сайт начала трансляции, и дупликация (269-bp) области 3 интрона. Клинически все пациенты имели классический симптомокомплекс ППР в сочетании с избыточной массой тела или ожирением [63]. Следующие клинические случаи были описаны в долгосрочном исследовании Gomes et al., где из 60 пациенток с ППР в анамнезе у 31 отмечался семейный характер заболевания. Среди данной группы (n=31) в трех неродственных семьях было идентифицировано три гетерозиготных варианта со сдвигом рамки считывания в *DLK1*: c.594_594delC (p.Gly199Alafs*11), c.810_810delT (p.Val271Cysfs*14) и c.479_479delC (p.Pro160Leufs*50). При ретроспективном анализе фенотипических проявлений было установлено, что метаболические нарушения в группе пациенток с мутациями в *DLK1* встречались в 10 раз чаще в сравнении с контрольной группой (20 пациенток с идиопатическим ППР) [64].

Полученные результаты послужили началом для поиска мутаций в данном гене у пациентов с семейными формами гонадотропинзависимого ППР.

Как и при других гонадотропинзависимых формах ППР, клиническая картина при инактивирующих мутациях в гене *DLK1* характеризуется этапным развитием вторичных половых признаков, ускорением костного созревания, пубертатным уровнем гонадотропных гормонов и половых стероидов. Однако отличительной особенностью фенотипа при мутациях в *DLK1* является наличие метаболических нарушений, включая избыточный вес и/или ожирение, нарушения липидного и углеводного обмена с ранней манифестацией. Несмотря на это частота выявления вариантных замен в гене *DLK1* у пациентов с идиопатической формой преждевременного полового развития остается невысокой. По данным корейского исследования среди 100 девочек с идиопатическим преждевременным половым развитием, идентифицировано 5 миссенс – вариантов в кодирующей области *DLK1*, без достоверной разницы по частоте встречаемости в сравнении с группой контроля из 100 здоровых девочек [65]. Итальянским исследователям удалось обнаружить 8 полиморфизмов в *DLK1* среди 60 девочек с гонадотропинзависимым ППР, среди которых в 23 случаях (38,3%) сообщалось об отягощенном по патологии полового развития семейном анамнезе [66]. Chen Ting et al. в своем исследовании провели скрининг 173 пациентов, как с семейными, так и спорадическими формами ППР. Авторам удалось идентифицировать 4 патогенных варианта в гене *MKRN3* и ни одного в гене *DLK1*. Однако секвенирование *DLK1* было проведено только у 19 пациентов из всей выборки, что является существенным ограничивающим фактором [67]. В работе Montenegro, включавшей 168 детей с гонадотропинзависимым ППР, авторам удалось идентифицировать гетерозиготные варианты в *DLK1* лишь у трех пациенток со спорадической формой заболевания: делеция с.401_404+8del и три синонимичные замены с. 402C>T, с. 222 C>A, с. 223 G>A [68].

В большинстве случаев синонимичные замены чаще считаются непатогенными, поскольку не приводят к изменению аминокислотной последовательности. В ряде случаев синонимичные мутации способны влиять на эффективность и скорость трансляции, что, в свою очередь, может влиять на укладку

и функцию белка [65,69]. Таким образом, имеющиеся исследования подтверждают редкость моногенных форм гонадотропинзависимого ППП вследствие мутаций *DLK1*, а частота встречаемости последних достоверно не известна, что определяет актуальность дальнейших исследований.

Ген *DLK1* (дельта – подобный гомолог 1), также известный как преади-поцитарный фактор 1 (Pref-1) или фетальный антиген (FA1), локализован на длинном плече 14 хромосомы (14q32.2). В отличие от большинства аутосомных генов, имеющих биаллельную экспрессию, *DLK1* относится к импринтированным генам и проявляет моноаллельную экспрессию. Моноаллельная экспрессия (феномен импринтинга) обусловлена хорошо известными эпигенетическими модификациями, включая изменения в метилировании динуклеотидов ДНК (С-G/цитозин-гуанин) в промоторных областях или модификацию гистоновых белков. Результатом данных модификаций является подавление процесса транскрипции генов. Помимо этого, транскрипция также может варьироваться в зависимости от тканеспецифичных эпигенетических модификаций, включая воздействия факторов окружающей среды. Ген *DLK1* импринтирован по материнскому аллелю и в норме не экспрессируется, следовательно, фенотип заболевания развивается только в тех случаях, когда дефект унаследован от отца [70].

DLK1 является лигандом в сигнальном пути Delta-Notch, который регулирует широкий спектр онтогенетических процессов, включая детерминацию, пролиферацию и терминальную дифференцировку клеток. Notch-рецепторы и их лиганды представляют собой трансмембранные белки, принадлежащие к семейству белков, подобных эпидермальному фактору роста (EGF). В настоящее время описано четыре рецептора Notch (NOTCH 1-4), пять классических (канонических) активирующих лигандов (*JAGGED1*, *JAGGED2*, *DLL1*, *DLL3* и *DLL4*) и два неклассических (неканонических) лигандов – *DLK1*, *DLK2*. Учитывая широкое участие сигнального пути во множестве клеточных взаимодействий, aberrации, приводящие к увеличению или потере компонентов и функций передачи сигналов Notch, могут вызывать различные нарушения,

при которых Notch может действовать как активатор, так и репрессор [63,71,72]. После связывания лиганда рецепторы Notch высвобождают свой внутриклеточный домен (NICD), который расщепляется γ -секретазой и перемещается в ядро. NICD взаимодействует с ДНК-связывающим репрессором транскрипции C-repeat/DRE Binding Factor 1 (CBF1), широко известным как рекомбинационный связывающий белок для J-области иммуноглобулина (RBP-J), и превращает его в активатор транскрипции. Такой каскад протеолитических реакций в конечном итоге индуцирует транскрипцию генов-мишеней в ядре [73].

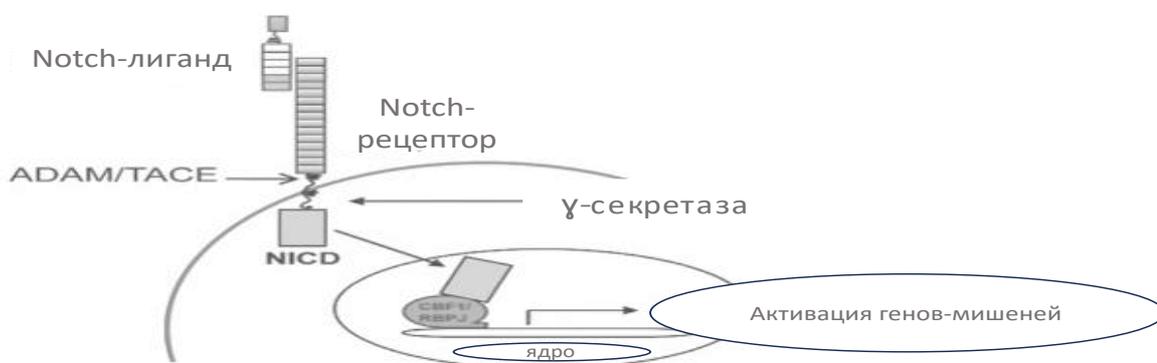


Рисунок 2. Механизм передачи сигналов внутриклеточного сигнального пути Notch (Falix F. и соавт. [72])

В процессе эмбрионального развития *DLK1* экспрессируется практически повсеместно, постнатально наибольшая экспрессия зафиксирована в тканях гипоталамуса, гипофиза, надпочечников и яичников. Нейроэндокринная функция *DLK1* подтверждена доказательствами постнатальной экспрессии *DLK1* в нескольких ядрах гипоталамуса. В 2013г Villanueva С. и соавт. в исследованиях *in vivo* обнаружили прогрессирующее увеличение экспрессии *DLK1* с 6го до 20го дня постнатального периода, что коррелировало с увеличением экспрессии кисспептина. Было продемонстрировано, что опосредованная *Rbpj-k* (рекомбинационный связывающий белок для J-области иммуноглобулина) передача сигналов Notch имеет решающее значение для своевременного развития нейронов кисспептина в дугообразном ядре гипоталамуса с последующей экспрессией гена *KISS1* [74]. Известно, что лиганд *DLK1* является

негативным (инактивирующим) регулятором передачи сигналов Notch путем нарушения транскрипционного комплекса Notch1/RBP-Як. Было показано, что соответствующий уровень активной RBPЯк-зависимой передачи сигналов Notch необходим для поддержания клеток-предшественников и имеет решающее значение для своевременного образования кисспептиновых нейронов в ядрах гипоталамуса. Однако важность передачи сигналов Notch в развитии кисспептиновых нейронов не ограничивается ранним нейрогенезом, а также необходима во взрослом возрасте [75]. Как негативный регулятор передачи сигналов Notch пути, *DLK1* участвует в нескольких процессах дифференцировки, включая б-клетки поджелудочной железы, адипогенез и остеогенез, что объясняет его роль в развитии метаболических нарушений [64,76]. Точный механизм, с помощью которого *DLK1* регулирует время полового созревания достоверно не изучен, однако можно предположить, что потеря ингибирующей функции *DLK1* вследствие инактивирующих мутаций может косвенно вмешиваться в нейрогенез гипоталамуса и особенно кисспептиновых нейронов. Активная передача сигналов Notch тормозит дифференцировку клеток нейронной сети, тогда как условная потеря передачи сигналов Notch ведет к преждевременной дифференцировке этих нейронов. Следовательно, в отсутствие влияния *DLK1* передача сигналов Notch будет усилена, что приведет к увеличению экспрессии некоторых генов-мишеней, в частности, к ускорению созревания и/или секреции кисспептиновых нейронов, способствующих фенотипу ППР [73,77].

Как было сказано ранее, ген *DLK1* локализован в импринтированном локусе (14q32) 14 хромосомы. Данный локус содержит кластер генов, которые характеризуются моноаллельной импринтированной экспрессией в зависимости от родительского происхождения. Так, гены *DLK1*, *RTL1* и *DIO3* в норме экспрессируются исключительно с отцовского аллеля, а гены этого же локуса на материнском аллеле (*GTL2/MEG3*, *MEG8*) являются «немыми», а продуктами их экспрессии являются некодирующие РНК.



Рисунок 3. Гены импринтированного локуса 14 хромосомы (14q32)

Интересно, что нарушение регуляции и экспрессии генов импринтированного локуса, в частности *DLK1*, является патогенетической основой синдрома Темпла (СТ). Среди молекулярных причин развития данной аномалии можно выделить: (1) хромосомные аномалии, а именно материнская однородительская дисомия в 70-80% случаев; (2) изменение числа копий хромосом – делеции и/или дупликации, включая *DLK1* и *GTL2/MEG3* в 10% случаев и (3) эпигенетические ошибки до 12%. Однородительская материнская дисомия 14 хромосомы как наиболее признанная причина СТ, приводит к потере экспрессии всех отцовских генов и избыточной экспрессии «немых» материнских генов [66,78,79].

Впервые синдром был описан в 1991 году на основании клинических данных 18 – летнего пациента с материнской однородительской дисомией по 14 хромосоме – преждевременные роды на 32 неделе гестации, задержка моторного развития на первом году жизни, лицевые дисморфии, сколиоз, акромикрия и клинодактилия, преждевременное половое развитие и низкорослость. В 2008 году заболевание получило свое название в честь автора – Isobel Karen Temple, впервые опубликовавшей свои наблюдения [80,81]. Как и большинство болезней импринтинга, СТ считается полигенным заболеванием, клинические проявления которого являются результатом дефекта нескольких генов. К основным и наиболее распространенным клиническим проявлениям синдрома относятся низкий вес при рождении, мышечная гипотония и задержка моторного развития в младенчестве, раннее половое созревание с выраженной прогрессией костного возраста и значительное снижение конечного роста. Заболеванию также присущи фенотипические особенности, включая лицевые дисморфии (выступающие лобные бугры, микрогнатия, треугольная

форма лица и эпикантус) и патологию опорно-двигательного аппарата (акромикрия, клинодактилия, кифосколиоз, гемигипоплазия и гипермобильность суставов).

Клинические проявления СТ гетерогенны и во многом зависят от возраста пациента, затрудняя тем самым раннюю диагностику. Кроме того, истинная распространенность заболевания по-прежнему не установлена, что частично обусловлено изменчивостью фенотипа и совпадением клинических симптомов с другими расстройствами импринтинга, в частности, с синдромом Прадера-Вилли (СПВ) и синдромом Сильвера-Рассела (ССР). На сегодняшний день не принят «золотой стандарт» генетической диагностики СТ и, в большинстве случаев, диагноз устанавливается на основании прадероподобного фенотипа при отрицательном генетическом тестировании на СПВ и ССР. Однако, сочетание задержки развития в раннем возрасте, низкого роста и преждевременного полового созревания со значительным ускорением костного возраста можно считать отличительным диагностическим критерием синдрома Темпла и показанием к проведению генетического анализа 14 хромосомы методами ХМА и MLPA, позволяющих выявлять хромосомные аномалии и эпигенетические нарушения [82–85].

В анализе Ioannides Y, объединившем все имеющиеся исследования с 1991 года по 2013, сообщается о 51 клиническом случае СТ, которые были выявлены среди когорт пациентов с отрицательным генетическим анализом на СПВ и ССР. Проведенный анализ подтвердил клиническую и генетическую гетерогенность заболевания: в 78,4% случаев (n=40) выявлена материнская одnorodительская дисомия (UPD 14), в 11,7% (n=6) – эпигенетические дефекты метилирования, в 9,8% (n=5) – делеция импринтированной области (14p32) по отцовской хромосоме. Умеренно выраженная мышечная гипотония и задержка моторного развития в раннем возрасте отмечались в 93% и 83% случаев соответственно. Часто встречались преждевременные роды (30%) и трудности с кормлением вследствие слабости сосательного рефлекса. Среди фено-

типических особенностей наиболее часто сообщалось об акромикрии (маленькие кисти и стопы в 87% и 96% случаев соответственно). Говоря о эндокринных проявлениях синдрома, в подавляющем большинстве (86%) зафиксировано преждевременное или раннее половое созревание с клинически значимым ускорением костного созревания, при этом средний возраст наступления менархе составлял до 10 лет. Почти в половине случаев отмечалось ожирение с дебютом в раннем возрасте без склонности к гиперфагии, осложнившееся сахарным диабетом 2 типа у описанных пациентов. У 2-х пациентов отмечались рецидивирующие гипогликемии, у 1-го был диагностирован дефицит гормона роста [78]. Полученные данные по анализу фенотипической гетерогенности сопоставимы с исследованием Prasasya et al., которые проанализировали клинические характеристики у всех зарегистрированных до 2020г пациентов с СТ. Аналогичные результаты продемонстрированы в работе Juriaans и соав., включившей 15 пациентов с СТ. В обоих исследованиях авторы отмечают, что несмотря на схожесть фенотипических проявлений синдрома Темпла с СПВ и ССР, среди эндокринных нарушений наиболее характерными являются гонадотропинзависимое ППР в сочетании с ожирением и ранней манифестацией метаболических осложнений, отличающие данный синдром от других болезней импринтинга [86,87]. Одним из типичных симптомов заболевания является задержка роста с раннего возраста. Преждевременное половое созревание, которое способствует раннему пубертатному скачку и созреванию скелета, также является ключевым фактором, приводящим к снижению показателей конечного роста. По данным зарубежных авторов, показатели конечного роста пациентов с СТ ниже 2-х стандартных отклонений (медиана роста $-2,04 SD$) от средних значений в популяции. Назначение пролонгированных аналогов ГнРГ позволяет затормозить прогрессию костного созревания, оказывая тем самым положительный эффект в отношении конечного роста. В настоящее время имеется лишь небольшой клинический опыт лечения пациентов с СТ препаратами рекомбинантного гормона роста (рГР). Полученные

данные свидетельствуют о краткосрочном повышении скорости роста у пациентов, получавших терапию в ростостимулирующих дозах. Имеются сообщения, что терапия рГР в течение 1 года у пациентов с допубертатным половым статусом привела к медианному увеличению роста на 1,31 SD и скорости роста на 5,30 см/год. Однако на сегодняшний день упоминается лишь о 18 случаях назначения препаратов соматотропина при отсутствии долгосрочных наблюдений, поэтому достоверные доказательства о значимом улучшении показателей конечного роста в когорте пациентов с СТ отсутствуют [79,86].

Среди генов, вовлеченных в патогенез СТ, *DLK1* считается главным кандидатом, ассоциированным с развитием преждевременного полового развития. Поскольку подавляющее большинство пациентов с СТ имеют избыточный вес и/или ожирение, метаболические нарушения и в 90% случаев центральное ППР, можно предположить, что дефекты импринтированного *DLK1*, являются основной причиной эндокринопатий в составе синдрома [81,88].

1.2.3 Ген *MKRN3*

Роль *MKRN3* в патогенезе гонадотропинзависимой формы ППР была впервые продемонстрирована в 2013 году в работе Abreu и соавт. По результатам полноэкзомного секвенирования 32 пациентов с ППР, у 15 человек из 5 неродственных семей было идентифицировано наличие различных гетерозиготных вариантов в гене *MKRN3* [89]. Полученные данные стали толчком к дальнейшему поиску мутаций в данном гене у пациентов с семейным характером ППР. К настоящему времени в литературе описано около 50 инактивирующих вариантов как в кодирующей, так и промоторной областях *MKRN3* у пациентов с семейной и спорадической формой заболевания, что позволяет признать данный ген как наиболее распространенную причину моногенных форм ППР [13]. Во всех случаях семейных форм ППР прослеживается ауто-сомно-доминантный характер наследования с неполной пенетрантностью фенотипических проявлений. Анализ данных литературы подтверждает высокую распространенность дефектов в *MKRN3* у пациентов с ППР. Так, среди семейных форм патологии нуклеотидные варианты встречаются вплоть до 46% случаев, среди спорадических – от 5% до 17,5% [8,12,66,89–93]. По данным крупного мета-анализа Valadares и соавт., включившего 880 пациентов, общая распространенность дефектов *MKRN3* в структуре идиопатического ППР составила 9% [94].

Клинические проявления ППР в случае инактивирующих мутаций *MKRN3* характеризуются этапным развитием вторичных половых признаков с ускорением темпов роста и полового созревания, не отличаясь от таковых при идиопатических генетически недетерминированных формах заболевания, о чем сообщается в ряде мультицентровых исследований [14,95–97]. В литературе имеется ограниченное количество исследований, продемонстрировавших наличие различий между пациентами с мутациями в *MKRN3* и без них. Так, Macedo et al., сообщили о более высоких уровнях базального ФСГ у пациентов с дефектами в *MKRN3* (n=8) в сравнении с группой генетически недетерминированных случаев ППР (n=207). Однако полученная статистическая разница

($p=0,016$) основана на анализе малой выборки пациентов с мутациями, что является существенным ограничением вывода [92]. В работе Simon D с соавт., включившей 46 пациентов с ППР, среди которых 8 были носителями мутаций *MKRN3*, продемонстрирован более ранний возраст манифестации заболевания у пациенток с моногенными формами в сравнении с идиопатическими ($p=0,01$). Остальные клинико-лабораторные показатели в исследуемых выборках были сопоставимы [91]. В исследовании Seraphim CE и соавт., сообщается, что возраст постановки диагноза и SDS роста на момент первичного обследования были значимо меньше ($p=0,01$ и $p=0,04$ соответственно) в группе девочек с мутациями ($n=45$) по сравнению с девочками из группы контроля ($n=156$). В подавляющем большинстве у пациенток с дефектами в *MKRN3* отмечался семейный характер ППР, что объясняет более ранний возраст постановки диагноза ввиду повышенной осведомленности членов семьи о необходимости своевременного обследования. Также в своей работе авторы проводили анализ генотип-фенотипической корреляции среди всех пациентов с положительным результатом генетического анализа ($n=71$). Всего было идентифицировано 18 мутаций, приводивших к сдвигу рамки считывания ($n=6$), преждевременному стоп-кодону ($n=1$), делеции промоторной области ($n=1$), в общей сложности классифицированные как «тяжелые» и 10 миссенс-вариантов, обозначенные «легкими». Согласно полученным результатам, в группе пациентов с «тяжелыми» мутациями отмечались большая прогрессия костного возраста ($p=0,048$) и более высокие уровни базального ЛГ ($p=0,018$), когда остальные параметры, включая возраст манифестации заболевания, были сопоставимы между группами [96]. Несмотря на наличие некоторых различий, авторы вышеупомянутых исследований делают вывод о том, что в совокупности пациенты с моногенной формой ППР при инактивирующих дефектах *MKRN3* не отличимы от таковых при идиопатических генетически недетерминированных формах заболевания.

Интересен тот факт, что подавляющее большинство исследований по генетической гетерогенности основаны на группах девочек, что отражает известную, более высокую распространенность заболевания среди них. Следует отметить, что первые клинические проявления полового созревания у девочек (телархе) являются более очевидными в сравнении с увеличением объема яичек у мальчиков, что может объяснять гендерный диморфизм в распространенности патологии и, в свою очередь, ограничивать раннюю постановку диагноза. Тем не менее, в литературе имеется несколько сообщений, описывающих различные дефекты гена *MKRN3* среди мальчиков с ранним половым созреванием [98–100]. В 2016 году Dimitrova-Mladenova с соавт., впервые описали двух бессимптомных носителей мутаций в гене *MKRN3*, дочери которых имели ППР, предположив тем самым неполную пенетрантность гена в зависимости от пола [101]. В исследовании Bessa et al., включавшем 20 мальчиков и 234 девочки с идиопатическим ППР, распространенность дефектов в *MKRN3* у мальчиков составила 40% в сравнении с 6,4% среди девочек. Средний возраст манифестации заболевания среди мальчиков с мутациями составил 8,2 лет, что погранично с нормальным возрастом начала пубертата, тогда как для мальчиков с идиопатическим ППР данный показатель составил 7 лет ($p=0.033$) [102]. При этом по данным аналогичных исследований среди девочек, средний возраст манифестации ППР составляет 6 лет [91,92,96]. В объединенном анализе Valadares и соавт. общая распространенность мутаций *MKRN3* в мужской популяции также значительно превышала таковую среди женского населения – 22% против 7% соответственно, что соответствует более высокой частоте мутаций среди мальчиков [94]. Возможно, мутации *MKRN3* оказывают менее выраженный эффект на преждевременную активацию ГГГО среди мальчиков, а в литературе имеются данные, свидетельствующие о заметных половых различиях в уровнях *MKRN3*: у мальчиков допубертатного возраста средний уровень *MKRN3* в сыворотке был на 50% ниже по сравнению с девочками [103]. Несмотря на это, молекулярные механизмы данного феномена остаются не известными.

Ген *MKRN3* картирован на 15 хромосоме в критическом регионе синдрома Прадера-Вилли (15q11-q13). Ген *MKRN3*, также как *DLK1* ген, является импринтированным, в норме экспрессируясь только с отцовской аллели. Метилирование материнской аллели, являясь одним из механизмов импринтинга, препятствует трансляции и обуславливает моноаллельный характер экспрессии продуктов гена. В тканях человека отмечается повсеместная экспрессия *MKRN3*, при этом в процессе эмбрионального развития наиболее выражена в центральной нервной системе и постмейотических зародышевых клетках сперматозоидов, а во взрослом возрасте в гонадах [104]. В исследовании Abreu et al. было показано, что у млекопитающих *MKRN3* высоко экспрессируется в дугообразном ядре гипоталамуса во время младенческого и раннего детского периодов с выраженным снижением экспрессии к началу полового созревания. Считается, что именно дугообразное ядро, где локализовано наибольшее количество регуляторов секреции ГнРГ (кисспептин, нейрокинин В, динарфин) является ключевым в контроле полового созревания [89].

Ген кодирует белок, принадлежащий к семейству цинковых пальцев макоринов, содержащий в своей структуре содержит четыре типа «цинковых пальцев»: три СЗН области, богатых цистеином и гистидином, и одну СЗНС4 область, которые обеспечивают РНК-связывающую и сильную убиквитин-лигазную активность соответственно, что определяет его способность не только контролировать процесс трансляции мРНК, но и участвовать в деградации синтезированных полипептидов [14,93,105]. Точный механизм, посредством которого ген контролирует работу ГГГО, не известен, однако существует гипотеза, что действуя как убиквитин-лигаза на уровне гипоталамуса, *MKRN3* участвует в деградации белка, влияющего на пульсовую секрецию ГнРГ, оказывая на него ингибирующее действие и тем самым блокируя наступление полового развития в периоде детства [105]. Второй предполагаемый механизм действия рассматривает *MKRN3* как репрессор транскрипции. В *in vitro* исследованиях было продемонстрировано прямое взаимодействие *MKRN3* с промоторами генов *KISS1* (кисспептин) и *TAC3* (нейрокинин В), непосредственно

модулирующих время полового созревания [93]. Таким образом, мутации, инактивирующие *MKRN3*, могут приводить в преждевременной пульсовой секреции ГнРГ и старту полового созревания. Это подтверждается функциональными исследованиями, в которых продемонстрировано прогрессирующее снижение мРНК *MKRN3* на фоне повышения секреции киспептина по мере прогрессии полового развития, а также препубертатным снижением циркулирующего маркорина в сыворотке крови у обоих полов [93,103,105–108].

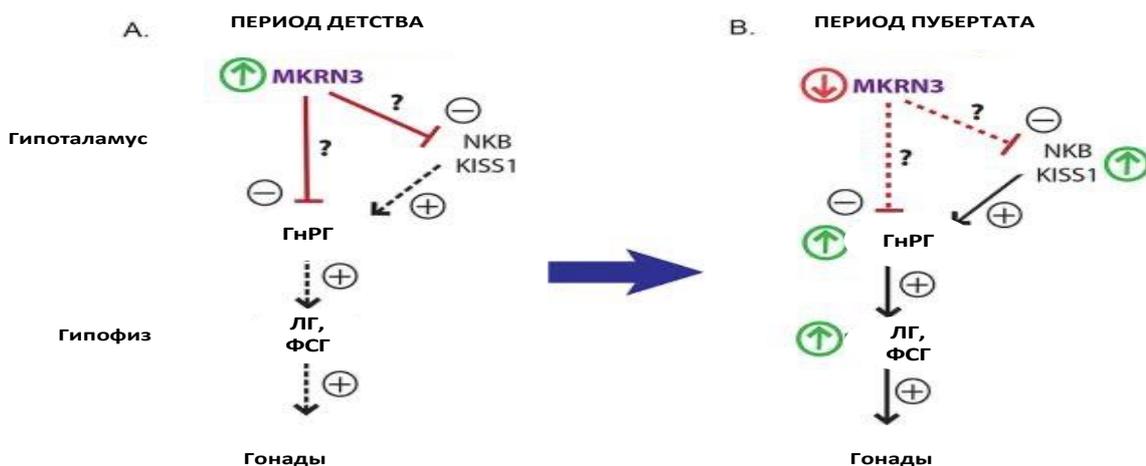


Рисунок 4. Схематическое изображение механизма действия *MKRN3* (Abreu A. и соавт. [105])

1.2.4 Другие гены-кандидаты, потенциально ассоциированные с преждевременным половым развитием

Несмотря на имеющиеся генетические исследования по четырём основополагающим генам, патогенетически связанных с преждевременной активацией ГТГО в периоде детства, установить молекулярно-генетическую природу заболевания удаётся не всегда. Тем не менее, с расширением возможностей молекулярной генетики в литературе появляется все больше сообщений об ассоциации некоторых вариантов с фенотипом ППР. По данным исследований полногеномных ассоциаций (GWAS) идентифицировано несколько десятков генов, модулирующих сроки полового созревания, в частности, телархе и менархе, в разных этнических группах [8,109–112]. Однако для установления их

взаимосвязи с фенотипом ППР актуально дальнейшее проведение научных исследований с последовательным секвенированием всех новых генов-кандидатов, принимающих участие в регуляции работы ГГГО.

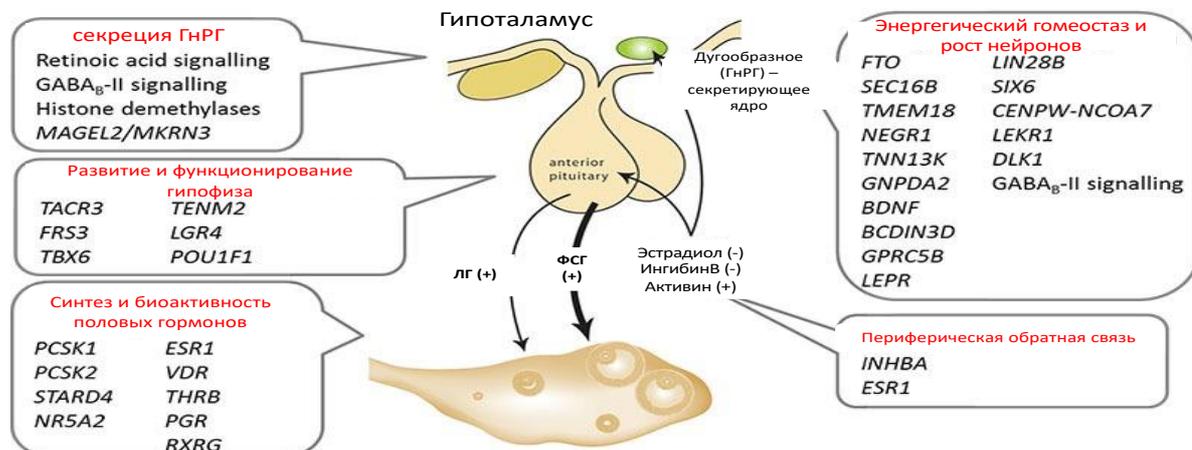


Рисунок 5. Гены-кандидаты, участвующие в регуляции работы гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси (Perry J. и соавт.[111])

1.3 Медикаментозная терапия гонадотропинзависимого преждевременного полового развития

«Золотым стандартом» терапии гонадотропинзависимой формы ППР вне зависимости от ее этиологии является назначение пролонгированных аналогов ГнРГ (Трипторелин, Лейпрорелин) [113,114]. Механизм действия препаратов основан на подавлении циркадного ритма эндогенного ГнРГ путем связывания с его рецепторами в гипофизе, к которым они обладают повышенным сродством. Применение пролонгированных депо-форм обеспечивает стойкую десенсибилизацию гонадотрофов гипофиза, что обеспечивает снижение уровня ЛГ и ФСГ, тем самым, блокируя дальнейшую прогрессию полового развития. Данный метод используется в мировой практике уже несколько десятков лет, тем не менее, остается ряд спорных вопросов, касающихся оптимальных сроков начала и завершения терапии, а также наличие побочных эффектов [5,115–117].

По данным литературы, у пациентов с моногенными формами ППР отмечается удовлетворительный клинический и лабораторный ответ на терапию

пролонгированными аналогами ГнРГ не отличающийся от такового при генетически недетерминированных формах заболевания, однако отдаленные эффекты терапии в данной группе пациентов не исследовались [91,94,96,106,118,119].

Дискутабельным остается вопрос о выборе оптимальной дозы препарата (3,75 мг с кратностью введения 1/28 дней или 11,25 мг с кратностью введения 1/90 дней), поскольку имеются противоречивые данные касательно терапевтического преимущества того или иного метода лечения. На сегодняшний день имеется ограниченное количество исследований по сравнительной эффективности аналогов ГнРГ в дозах 3,75 мг и 11,25 мг [120–122]. Как правило, в качестве клинического эффекта терапии принимается отсутствие прогрессии или регресс вторичных половых признаков, снижение пубертатной скорости роста и костного созревания, а биохимическими маркерами компенсации считаются базальные уровни половых гормонов или, в сомнительных случаях, пиковый уровень ЛГ, исследованный после введения пролонгированного аналога ГнРГ [113,114].

Так, в небольшом краткосрочном исследовании Bertelloni и соавт., у всех пациенток отмечался сопоставимый удовлетворительный клинико-лабораторный ответ на терапию 3,75 мг (n=20) и 11,25 мг (n=15) трипторелина в течение 3 и 6 месяцев динамического наблюдения: отсутствие прогрессии вторичных половых признаков и костного возраста, так же как и снижение темпов роста были сопоставимы между группами [120]. Тем не менее имеются сообщения, в которых продемонстрировано, что при оценке промежуточных результатов (3-12 месяцев от начала лечения по данным разных исследований) в группах пациентов, получавших 11.25 мг трипторелина пиковый уровень ЛГ был выше, чем в группах 3.75 мг трипторелина, что косвенно расценивается критерием неполной компенсации [122–125]. В исследовании Chung и соавт. 2022 года по сравнительной оценке эффективности ежемесячных (3,75 мг) и ежеквартальных (11,25 мг) инъекций пролонгированных аналогов ГнРГ в группе у 106 девочек с ППР было продемонстрировано, что через 6 месяцев от начала

лечения лишь в 90% случаев у пациенток, получавших 11,25 мг трипторелина, отмечался полный биохимический ответ на терапию в сравнении с 98% из группы контроля ($p=0,160$). Через год лечения полная компенсация отмечалась у 93,5% и 100% девочек, получавших ежеквартальные и ежемесячные инъекции соответственно ($p=0,226$). При оценке клинических параметров компенсации снижение скорости роста до средних по возрасту (6,2 см/год против 5,6 см/год, $p=0,481$) и отсутствие прогрессии КВ более чем на год ($p=0,176$) были эквивалентны между группами [122]. В объединенном исследовании Durand A и соавторов также сообщалось, что на фоне ежеквартальных инъекций 11,25 мг трипторелина лишь 87,6% и 92,8% пациентов соответствовали критерию полной биохимической компенсации через 3 и 6 месяцев лечения соответственно. Однако необходимо отметить, что клинические параметры компенсации (отсутствие прогрессии полового развития, снижение скорости роста и костного созревания), являющиеся основной целью лечения, не имели существенных различий между группами за периоды динамического наблюдения [125]. Согласно данным Лагно О.В. и соавт., средние базальные значения гонадотропинов и эстрадиола среди пациентов, получавших терапию 3,75 мг или 11,25 мг трипторелина, были сопоставимы, однако не во всех случаях соответствовали критериям полной биохимической компенсации. Тем не менее, оба режима терапии продемонстрировали эффективность в отношении снижения скорости роста и замедления темпов костного созревания у большинства пациентов [126].

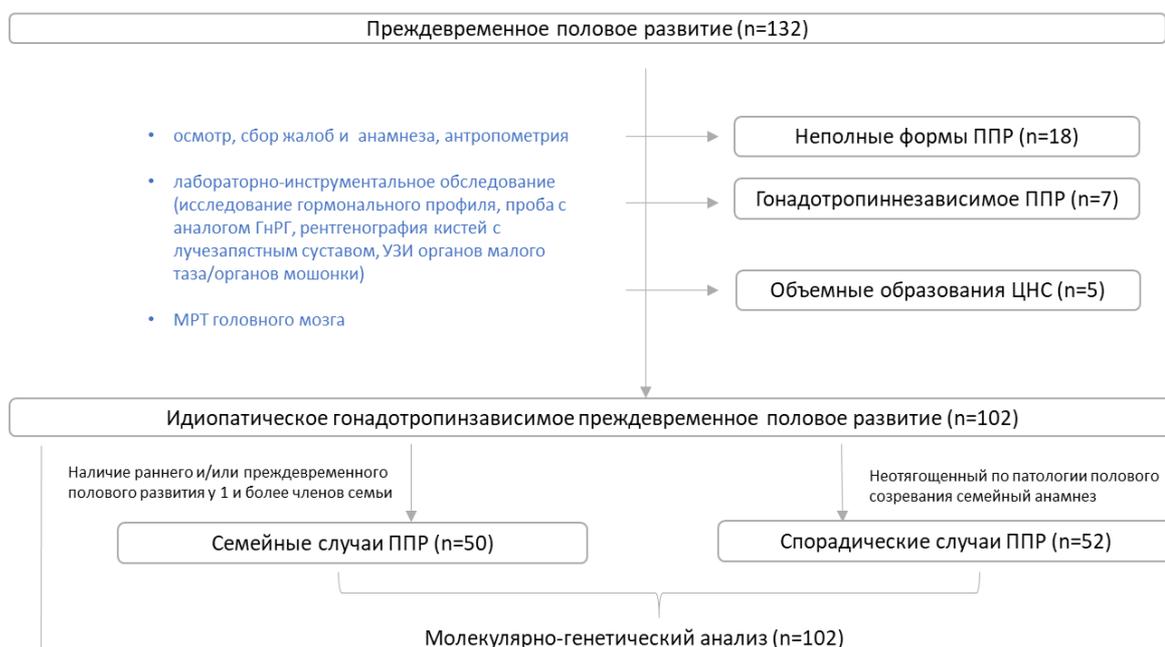
Поскольку оба препарата обладают сопоставимой клинической эффективностью, единого мнения о преимуществах выбора ежемесячных (3,75 мг) или ежеквартальных (11,25 мг) инъекций на сегодняшний день нет, однако ежеквартальные инъекции могут позволить улучшить приверженность к терапии и тем самым добиться лучших терапевтических результатов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего обследовано 132 пациента с преждевременным половым развитием в возрасте от 1 года 3 месяцев до 9,0 лет.

Из 132 обследованных детей были исключены пациенты с неполными формами ППР (изолированное телархе, изолированное адренархе, n=18), с гонадотропиннезависимым ППР (n=7), с наличием объемных образований ЦНС вследствие органической патологии (объемные образования ЦНС, n=5). Пациенты с идиопатическим гонадотропинзависимым ППР были включены в дальнейший анализ (основная группа, n=102). На I этапе работы на основании данных о наследственном анамнезе пациенты были распределены на две подгруппы: семейные и спорадические случаи ППР (для анализа молекулярно-генетических, клинических и лабораторно-инструментальных особенностей заболевания). На II этапе исследования проводилась оценка эффективности терапии пролонгированными аналогами ГнРГ (рис. 6).

I этап (обследование)



II этап (лечение)

1. **Основная группа:** терапия пролонгированными аналогами ГнРГ (Трипторелин) в дозе 11,25 мг с кратностью инъекций 1 раз в 90 дней (девочки, n=11)
2. **Контрольная группа:** терапия пролонгированными аналогами ГнРГ (Трипторелин) в дозе 3,75 мг с кратностью инъекций 1 раз в 28 дней (девочки, n=11)

Рисунок 6. Порядок формирования групп пациентов в исследовании

Место проведения. Все пациенты были обследованы на базе Института детской эндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Источники случаев. Пациенты, обследованные с декабря 2021г. по январь 2023 г., а также архивные данные (медицинская документация пациентов, обследованных в период с 2019 г. по 2021 г.).

Исследование состояло из двух этапов.

I этап – одноцентровое интервенционное одномоментное сравнительное исследование с использованием ретроспективно полученной информации по оценке молекулярно-генетических, клинических и лабораторно-инструментальных особенностей ППР (задачи 1-2).

Способ формирования выборки: сплошной

Критерии включения в основную группу на первом этапе исследования:

1. Подтвержденное идиопатическое гонадотропинзависимое ППР у девочек в возрасте до 8 лет, у мальчиков в возрасте до 9 лет
2. Письменное информированное согласие родителей или законного опекуна пациента об участии в исследовании.

Критерии исключения:

1. Наличие органической патологии ЦНС
2. Неполные формы ППР (изолированное телархе, изолированное адренархе)
3. Гонадотропиннезависимое ППР
4. Отказ законных представителей пациента от участия в исследовании.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническое обследование

Всем пациентам проведен сбор жалоб, анамнеза жизни и заболевания, анализ наследственного анамнеза. Оценка антропометрических параметров (измерение роста, скорости роста), расчет показателей SDS роста и SDS скорости роста, SDS массы тела и SDS индекса массы тела проведен посредством компьютерной программы Auxology 1,0 b17 (Pfizer, США). Половое развитие

оценивалось по шкале Таннер (степень полового развития Таннер 2 и более у девочек младше 8 лет и мальчиков младше 9 лет является критерием ППР).

Лабораторное обследование

Лабораторная диагностика уровней ЛГ, ФСГ, эстрадиола и тестостерона проводилась всем пациентам в клиничко-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России на автоматическом иммунохемилюминесцентном анализаторе Vitros 3600 Ortho Clinical Diagnostics, «Johnson & Johnson», США, (заведующая лабораторией – к.м.н. Никанкина Л.В.). За допубертатные нормы половых стероидов принимались уровни ЛГ менее 0,2 Ед/л, эстрадиола менее 55 пмоль/л, тестостерона менее 0,6 нмоль/л [127]. При проведении функциональной пробы с аналогом ГнРГ (Бусерелин по 150 мкг интраназально) оценивались базальные и стимулированные уровни ЛГ и ФСГ на 60 и 240 минутах. Диагностически значимым считался выброс ЛГ более 6 Ед/л и отсутствие значимого превышения стимулированного ФСГ над ЛГ. Согласно отечественным клиническим рекомендациям «Преждевременное половое развитие» девочкам при стадии полового развития по Таннер 3 и более в сочетании с пубертатными базальными значениями ЛГ, проба с аналогом ГнРГ не проводилась [113,114].

Инструментальное обследование

Ультразвуковое исследование проводилось всем пациентам с использованием конвексного датчика с частотой 3,5–5 МГц при проведении УЗИ органов малого таза и с использованием линейного датчика с частотой 1–12 МГц при проведении УЗИ органов мошонки в консультативно-диагностическом центре ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (руководитель – д.м.н. Волеводз Н.Н.). Допубертатными нормами (возраст 2 -7 лет) считались размеры матки соответствующие 3,2x1,5x0,9 см, а объем яичников не превышающий 1,7 см³ [114,127]. Объем тестикул рассчитывался, используя формулу объема эллипсоида: $0,52 \times d1 \times d2 \times d3$, где d1, d2, d3 — переднезадний, верхненижний размеры яичка и толщина.

Рентгенография кистей с лучезапястными суставами проводилась всем пациентам в референс-центре лучевых методов диагностики ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (руководитель – к.м.н. Тарбаева Н.В.) в прямой проекции по стандартной методике с оценкой костного возраста по рентгенологическому атласу Tanner Whitehouse (TW-20).

Магнитно-резонансная томография головы проводилась всем пациентам в референс-центре лучевых методов диагностики ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (руководитель – к.м.н. Тарбаева Н.В.) на аппарате Optima MR450w, (GE Healthcare) с напряженностью магнитного поля 1,5 Тесла. Исследование проводилось в T1 и T2 взвешенных режимах по стандартной методике.

Диагноз «Идиопатическое гонадотропинзависимое преждевременное половое развитие» устанавливался на основании клинической картины (появление вторичных половых признаков у девочек до 8 лет и у мальчиков до 9 лет по шкале Таннер) в сочетании с ускорением роста и/или скорости роста (более 2SD относительно целевого на данный возраст), костного созревания (более чем на 2 года от паспортного) и пубертатных значений гонадотропных гормонов и половых стероидов, подтверждённые данными лабораторной диагностики, при отсутствии патологических изменений головного мозга по данным МРТ [113,114].

Специальные методы исследования

Молекулярно-генетический анализ проводился всем пациентам в лаборатории генетики моногенных эндокринных заболеваний Института персонализированной медицины ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (под руководством д.м.н. Тюльпакова А.Н. с 2019 г. по 2021 г. далее – к.м.н. Попова С.В.) методом массового параллельного секвенирования (nextgeneration sequencing, NGS) на платформе Illumina методом парно-концевого чтения (2x100 п.о.) с использованием таргетной панели, включавшей гены *ANOS1*, *BBS1*, *BBS10*, *BBS12*, *BBS2*, *BBS4*, *BBS7*, *BBS9*, *CHD7*, *DNMT3L*, *DUSP6*, *FEZF1*, *FGF17*, *FGF8*, *FGFR1*, *FLRT3*, *GNRH1*, *GNRHR*, *HS6ST1*,

IL17RD, INSL3, KISS1, KISS1R, LEP, LEPR, LHB, MC4R, MKKS, MKRN3, MKS1, MTP, NR0B1, NSMF, NTRK2, PCSK1, PNPLA6, POLR3A, POLR3B, PROK2, PROKR2, PROP1, RBM28, RNF216, RXFP2, SEMA3A, SH2B1, SIM1, SOX10, SPRY4, TAC3, TACR3, TTC8, WDR11 – 11 пациентам и методом полноэкзомного секвенирования – 89 пациентам. Забор венозной крови производился в пробирки с консервантом этилендиаминтетраацетатом в концентрации 1,2–2,0 мг на 1 мл крови. Геномную ДНК из периферической крови извлекали роботизированной станцией Allsheng Autopure-96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd., China) с использованием набора для выделения геномной ДНК из цельной крови NucleoMag Blood(MN). Выделенную ДНК качественно и количественно анализировали с помощью спектрофотометра Eppendorf Biospectrometer Fluorescence (Eppendorf AG, Germany) и набора Qubit dsDNA HS Assay (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) соответственно. Подготовка полногеномной библиотеки (КАРА HyperPlus, Roche, Швейцария) и обогащение матрицы ДНК (КАРА HyperCapture, Roche, Швейцария) проводились в соответствии с протоколами производителя используя набор зондов КАРА HyperExome (Roche, Швейцария). Обработка данных секвенирования проводилась с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (HG38), постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов и фильтрацию вариантов по качеству, а также аннотацию выявленных вариантов по всем известным транскриптам каждого гена из базы RefSeq с применением компьютерных алгоритмов предсказания патогенности вариантов (SIFT, PolyPhen-2 HDIV, Polyphen-2 HVAR, PROVEAN, CADD). Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использовались данные международного проекта gnomAD Exomes для экзонных вариантов и базы gnomAD Genomes для интронных вариантов. Для предсказания эффекта изменений в сайтах сплайсинга и прилежащих к сайту сплайсинга интронных участках использовались программы SpliceAI и AdaBoost. Для оценки клинической релевантности выяв-

ленных вариантов использовались базы данных OMIM, HGMD, специализированные базы данных по отдельным заболеваниям при наличии таковых и литературные данные. Заключение о клинической значимости найденных вариантов даны с учетом рекомендаций American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) и российского руководства по интерпретации данных NGS. В заключение включались только те варианты, которые имеют возможное отношение к клиническим проявлениям у пациента. Полиморфизмы, классифицированные по различным критериям как нейтральные, не включались в заключение. Средняя глубина покрытия составила не менее 70x, процент целевых нуклеотидов с эффективным покрытием >10x — не менее 97%. Двум пациенткам (n=2) с фенотипическими проявлениями синдрома однородительской материнской дисомии (синдром Темпл) проведено цитогенетическое исследование методом хромосомного микроматричного анализа в лаборатории молекулярной патологии медико-генетического центра «Геномед».

II этап – проспективное сравнительное исследование по оценке эффективности терапии пролонгированными аналогами ГнРГ (Трипторелин) в различных режимах в течение 1 года. Среди пациенток, получавших медикаментозную терапию, 11 девочек получали Трипторелин в дозе 11,25 мг с кратностью инъекций 1 раз в 90 дней в течение года (основная группа). В контрольную группу путем подбора пар включены 11 девочек, которые получали стандартную терапию Трипторелином в дозе 3,75 мг с кратностью инъекций 1 раз в 28 дней.

Через 6 месяцев от начала терапии проводилась оценка полового развития и исследование уровня половых гормонов (ЛГ, эстрадиол за 1-3 дня до очередной инъекции препарата) по вышеуказанной методике. Критериями эффективности терапии считались отсутствие прогрессии полового развития и значения ЛГ менее 0,5 Ед/л, эстрадиола – менее 70 пмоль/л [113]. Через 12 месяцев от начала терапии по вышеуказанной методике проводился контроль антропометрических параметров, а также УЗИ органов малого таза, рентгенография кистей с лучезапястными суставами и исследование уровня половых

гормонов. Критериями эффективности считались отсутствие прогрессии полового развития, снижение скорости роста и костного созревания (прогрессия костного возраста не более чем на 1 год) [113].

Критерии включения в основную группу (произвольный способ формирования выборки):

- Получение добровольного согласия родителей или законных представителей пациенток на терапию пролонгированными аналогами ГнРГ в дозе 11,25 мг с кратностью инъекций 1 раз в 90 дней.

Контрольная группа сформирована путем подбора пар к пациенткам основной группы по следующим критериям:

- Хронологический возраст (разница возраста на момент начала лечения не более 6 месяцев)
- Костный возраст (разница костного возраста на момент начала лечения не более 12 месяцев).

Статистический анализ данных

Размер выборки не был рассчитан предварительно. Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного интервала: Me [Q1; Q3] для всех параметров, кроме эхографических размеров матки и яичников, которые представлены в виде среднего, минимального и максимального значений (мин; макс). Качественные характеристики представлены в виде абсолютных значений (n) и/или частот (%). Для выявления статистически значимых различий между двумя независимыми группами для всех количественных признаков был использован критерий Манна-Уитни. 95% доверительный интервал (ДИ) для относительных частот рассчитан с помощью метода Клоппера–Пирсона с использованием интернет-калькулятора www.graphpad.com/quickcalcs/confinterval1. Частоты категориальных признаков на втором этапе исследования сравнивались между собой с помощью двустороннего точного критерия Фишера. Расчет данных производился с помощью статистического пакета Statistica 13.3 (TIBCO Software Inc., США). Пороговым уровнем статистической значимости p считались значения менее 0,5.

Для нивелирования проблемы множественных сравнений применялась поправка Бонферрони.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клиническая и лабораторно-инструментальная характеристика пациентов

В анализ клинико-лабораторных параметров (на основании критериев включения и отсутствия критериев исключения) было включено 102 ребенка с идиопатическим ППР, из которых 95 девочек (93,1% случаев, 95% ДИ [86,3; 96,9]) в возрасте от 1 года до 8 лет и 7 мальчиков (6,9% случаев, 95%ДИ [3,1; 13,7]) в возрасте от 1 года 3 месяцев до 9 лет.

Медиана (Me) возраста дебюта заболевания среди всех детей составила 6 [5; 7] лет, при этом Me возраста на момент постановки диагноза – 7 [6,3; 7,7] лет. Среднее время с момента появления первых клинических симптомов до установки диагноза составило 0,6 [0,9; 1,5] лет. Все пациенты имели пубертатные вторичные половые признаки, ускорение роста и/или скорости роста более 2 стандартных отклонений (SD), опережение костного возраста от хронологического, а также пубертатные базальные и/или стимулированные уровни половых гормонов.

Согласно данным наследственного анамнеза среди всей исследуемой группы детей (n=102) семейные формы ППР, где у одного и более родственников отмечалось раннее и/или преждевременное половое развитие, составили 49,0% (n=50, 95%ДИ [39,5; 58,6]). При этом в подавляющем большинстве семейные варианты выявлялись среди девочек (n=45, 90,0%, 95%ДИ [78,2; 96,1]). Детальный анализ семейного анамнеза позволил установить, что у 24 пациентов раннее и/или преждевременное половое развитие отмечалось у родственников по отцовской линии (23,5%, 95%ДИ [16,3; 32,7]), у 16 пациентов – по материнской линии (15,7%, 95%ДИ [9,8; 24,0]), у 10 пациентов ППР также имело семейную форму и было диагностировано у сибсов при клинически здоровых родителях и других членов семьи (9,8%, 95%ДИ [5,2; 17,3]).

В 51% случаев (n=52, 95%ДИ [41,4; 60,5]) семейный анамнез не был отягощен по патологии полового развития, что расценивалось как спорадическая форма заболевания (рис. 7).

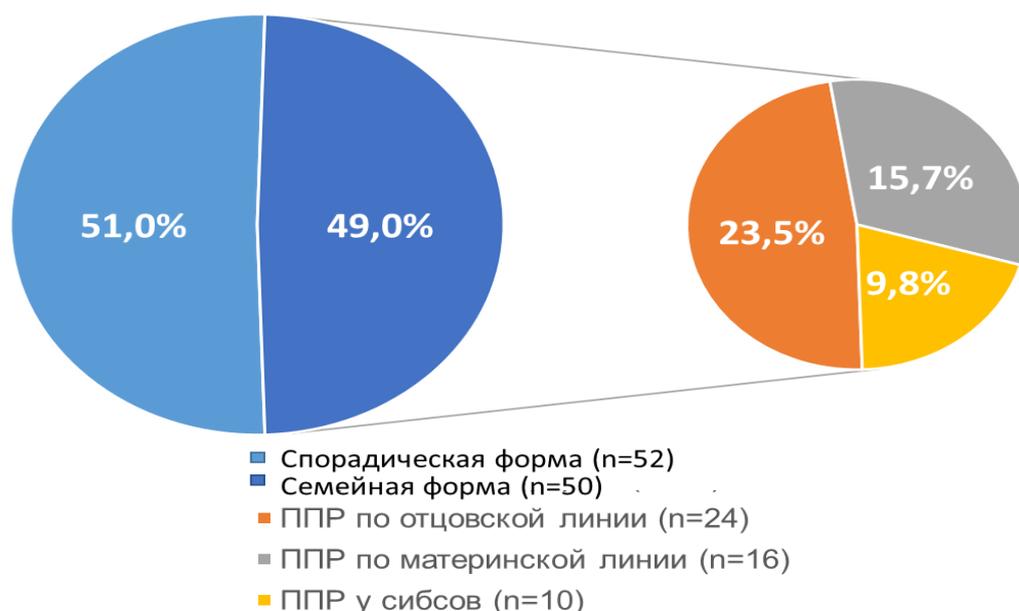


Рисунок 7. Особенности наследования ППР среди исследуемой группы детей (n, %)

Основные клинико-лабораторные характеристики девочек (n=95) на момент первичного обследования в Институте детской эндокринологии представлены в таблице 2.

Таблица 2. Клинические и лабораторно-инструментальные характеристики девочек

Показатель	Девочки с ППР (n=95)
Возраст манифестации, лет	6,0 [5,0; 6,7]
Возраст постановки диагноза, лет	7,0 [6,3; 7,6]
SDS роста, SD	1,9 [1,1; 2,6]
Скорость роста, см	8,6 [7,9; 10,0]
SDS скорости роста, SD	3,1 [1,9; 4,4]
Костный возраст, лет	9,5 [8,2; 11,0]
Опережение костного возраста, лет	2,6 [1,9; 3,5]
Эхографические размеры матки	
Длина, см	3,4 (1,0; 5,1)
Ширина, см	2,1 (0,5; 3,9)
Толщина, см	1,3 (0,3; 2,6)
Толщина м-эхо, мм	2,0 (0; 8,1)
Объем яичников	
Правый яичник, см ³	2,9 (0,9; 9,3)
Левый яичник, см ³	2,8 (0,6; 7,0)
Базальные значения половых гормонов	
ЛГ, Ед/л	1,5 [0,6; 4,0]

ФСГ, Ед/л	4,2 [2,9; 6,0]
Эстрадиол, пмоль/л	96,5 [75,9; 129,5]
Максимальный уровень гонадотропинов на пробе с аналогом ГнРГ	
ЛГ, Ед/л	23 [12,5; 43,0] n=72
ФСГ, Ед/л	25,5 [15,3; 33,0] n=72
<i>Количественные данные представлены в виде Me [Q1; Q3] для всех параметров, кроме эхографических размеров матки и яичников, которые представлены в виде среднего (мин; макс) значений.</i>	

С целью оценки репрезентативности изучаемой выборки использовались данные ранее проведенных исследований (табл. 3).

Таблица 3. Сравнение изучаемой выборки пациентов с генеральной совокупностью по данным ранее проведенных исследований

Исследование	Пол, %, 95%ДИ	Возраст девочек на момент исследования, лет	Форма ППР, %, 95%ДИ
Изучаемая выборка, n=102	93,1% [86,3; 96,9] – девочки 6,9% [3,1; 13,7] – мальчики	7,0 [6,3; 7,6] Me [Q1; Q3]	49,0% [36,5; 58,6] – семейная 51% [41,4; 60,5] – спорадическая
E. Giabicani и соавт., n=493 [128]	100% – девочки	6,7 ± 1,5 Среднее значение ± SD	47,2% [35,8; 56,6] – семейная 52,8% [42,7; 63,3] – спорадическая
C. Harbulot и соавт., n=332[11]	96,1% [93,4; 97,8] – девочки 3,9% [2,2; 6,7] – мальчики	7,0 [6,5; 7,5] Me [Q1; Q3]	25% [20,4; 29,6] – семейная 68,4% [63,6; 73,1] – спорадическая 6,6% [4,4; 9,9] – усыновленные дети
De Vries и соавт., n=156 [9]	94,3% [89,3; 97,1] – девочки 5,7% [2,9; 10,7] – мальчики	6,99 ± 1,1 Среднее значение ± SD	27,5% [21,8; 36,6] – семейная 68,4% [63,6; 73,1] – спорадическая

На основании представленных в таблице данных с высокой долей вероятности можно считать, что исследуемая выборка являлась репрезентативной по полу и возрасту с неполной репрезентативностью по форме ППР.

Для сравнительного анализа клинико-лабораторных характеристик заболевания в сопоставлении с семейным анамнезом группа девочек (n=95) была распределена на подгруппы на основании данных о случаях раннего и/или преждевременного полового развития у членов семьи. Так, у 45 пациенток (47,4%, 95%% ДИ [37,6; 57,3]) семейный анамнез был отягощен по раннему

и/или преждевременному половому созреванию, у 50 пациенток (52,6%, 95%ДИ [42,7; 62,4] диагностирована спорадическая форма заболевания.

Клинико-лабораторная характеристика пациенток в выделенных подгруппах на момент первичного обследования представлена в таблице 4. У всех пациенток отмечался правильный порядок появления вторичных половых признаков, в 100% случаев первым симптомом заболевания было телархе. На момент первичного обследования у 55 девочек (58%) развитие молочных желез соответствовало 2 стадии по шкале Таннер, у 29 девочек (30,5%) – 3 стадии, у 11 девочек (11,5%) – 4 стадии. Среди всех пациенток у 13 девочек (13,7%) к моменту первичного обследования манифестировало менархе: Ме возраста наступления менархе составила 7 [6,5; 8,7] лет.

Таблица 4. Клинические и лабораторно-инструментальные характеристики девочек с семейной и спорадической формой ППР

Показатель	Семейная форма ППР (n=45)	Спорадическая форма ППР (n=50)	p
Возраст манифестации, лет	6,0 [5,0; 7,0]	6,0 [5,0; 6,3]	0,087
Возраст постановки диагноза, лет	7,4 [6,9; 7,8]	6,7 [6,0; 7,1]	0,0002
SDS роста, SD	1,9 [1,1; 2,2]	2,1 [1,2; 2,9]	0,227
Скорость роста, см	8,2 [7,1; 9,4]	9,2 [8,0; 11,0]	0,019
SDS скорости роста, SD	2,9 [1,9; 3,7]	3,3 [2,1; 5,0]	0,086
Костный возраст, лет	10,0 [8,9; 11,0]	9,0 [7,5; 10,4]	0,039
Опережение КВ, лет	2,6 [2,0; 3,3]	2,7 [1,8; 2,7]	0,955
Эхографические размеры матки			
Длина, см	3,4 (2,0; 5,0)	3,3 (1,0; 4,7)	0,796
Ширина, см	2,2 (1,2; 3,9)	1,9 (1,0; 3,5)	0,129
Толщина, см	1,5 (0,3; 2,8)	1,5 (0,8; 2,5)	0,752
Толщина м-эхо, мм	2,1 (0; 8,1)	2,1 (0; 9,0)	0,925
Объем яичников			
Правый яичник, см ³	3,1 (0,9; 9,2)	2,7 (0,9; 6,4)	0,462
Левый яичник, см ³	3,0 (0,6; 7,2)	2,6 (0,6; 6,0)	0,274

Базальные уровни половых гормонов			
ЛГ, Ед/л	1,7 [0,4; 4,0]	1,4 [0,7; 3,6]	0,628
ФСГ, Ед/л	4,7 [2,4; 6,0]	4,0 [3,0; 6,0]	0,586
Эстрадиол, пмоль/л	99,5 [84,0; 142,0]	93,0 [44,0; 125,0]	0,291
Максимальный уровень гонадотропинов на пробе с аналогом ГнРГ			
ЛГ, Ед/л	24,8 [11,0; 44,2], n=32	24,9 [14,7; 43,0] n=41	0,570
ФСГ, Ед/л	25,5 [15,0; 32,1] n=32	26,1 [15,3; 32,7] n=41	0,968

Примечание: количественные данные представлены в виде Ме [Q1; Q3] для всех параметров, эхографические размеры матки и яичников представлены в виде среднего (мин; макс) значений.
Для проведения сравнительного анализа двух групп использовался критерий Манна-Уитни. Пороговый P=0,002 (после применения поправки Бонферрони)

Таким образом, по результатам проведенного анализа, у девочек со sporadicческой формой ППР диагноз был установлен несколько раньше ($p = 0,0002$) в сравнении с группой девочек, где отмечался семейный характер заболевания (рис.8). Остальные параметры, включая возраст манифестации ППР, были сопоставимы между группами.

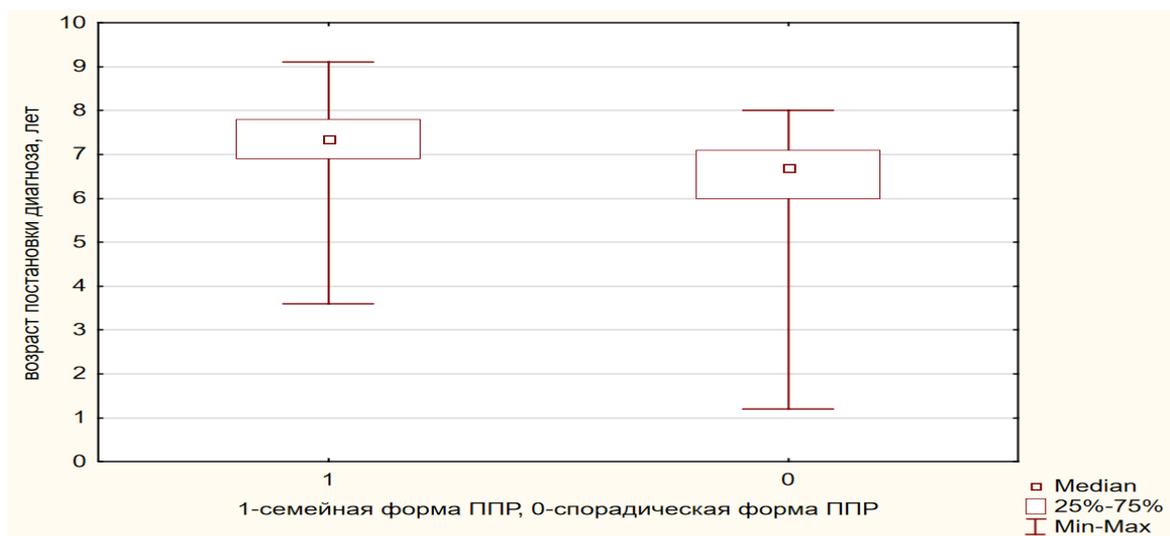


Рисунок 8. Возраст постановки диагноза среди пациенток с ППР: 1 – пациентки с семейной формой заболевания (n=45), 0 – пациентки со sporadicческой формой ППР (n=50), Ме [Q1; Q3].

Учитывая ограниченное количество мальчиков в исследуемой выборке (n=7), данная группа в сравнительный анализ не включалась, основные клинико-лабораторные характеристики пациентов представлены в таблице 5. На момент первичного обследования 4 пациента имели II стадию полового развития по шкале Таннер, 2 пациента – III стадию, 1 пациент – IV стадию.

При анализе данных семейного анамнеза установлено, что у 5 пациентов отмечался семейный характер заболевания, у 2 пациентов семейный анамнез не был отягощен по патологии полового созревания (спорадическая форма).

Таблица 5. Клинические и лабораторно-инструментальные характеристики мальчиков с ППР

Параметры	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7
Форма заболевания	<i>Семейная форма ППР</i>					<i>Спорадическая форма ППР</i>	
Возраст дебюта заболевания, лет	8,3	1,3	7,8	8,4	8,0	4,0	5,9
Возраст постановки диагноза, лет	8,7	1,5	8,0	9,1	8,9	4,6	6,3
Половое развитие по Таннер, стадия	3	2	2	2	4	2	3
SDS роста, SD	2,8	0,9	0,1	1,5	3,5	1,9	2,9
Скорость роста, см	8,0	10,2	7,9	8,6	13,6	8	9,8
SDS скорости роста, SD	2,1	3,2	2,9	3,3	2,9	1,1	1,9
Костный возраст, лет	11,0	1,3	8,5	10,4	11,6	6,1	8,5
Опережение костного возраста, лет	2,2	0,4	0,5	1,3	2,7	1,5	2,2
Базальный уровень ЛГ, Ед/л	1,1	3,4	1,0	0,2	1,4	0,5	2,9
Базальный уровень ФСГ, Ед/л	1,5	2,1	0,8	0,6	1,9	0,6	1,7
Тестостерон, нмоль/л	5,7	6,7	2,2	3,0	12,6	1,4	3,7
Максимальный уровень ЛГ на пробе с аналогом ГнРГ, Ед/л	17,1	27,4	34,4	29,3	18,2	7,9	13,3
Максимальный уровень ФСГ на пробе с аналогом ГнРГ, Ед/л	11,2	10,0	47,2	18,4	12,2	7,6	9,4

3.2 Результаты молекулярно-генетического анализа у детей с преждевременным половым развитием

3.2.1 Вариантные замены, ассоциированные с преждевременной активацией ГГГО в периоде детства (молекулярно-генетический полиморфизм)

102 пациентам было проведено молекулярно-генетическое исследование, по результатам которого генетические дефекты были идентифицированы у 26 пациенток (25,5%, 95%ДИ [18,0; 34,8]) среди всей исследуемой группы детей.

Среди 26 девочек благодаря методу массового параллельного секвенирования NGS с использованием таргетной панели, включавшей гены *ANOS1*, *BBS1*, *BBS10*, *BBS12*, *BBS2*, *BBS4*, *BBS7*, *BBS9*, *CHD7*, *DNMT3L*, *DUSP6*, *FEZF1*, *FGF17*, *FGF8*, *FGFR1*, *FLRT3*, *GNRH1*, *GNRHR*, *HS6ST1*, *IL17RD*, *INSL3*, *KISS1*, *KISS1R*, *LEP*, *LEPR*, *LHB*, *MC4R*, *MKKS*, *MKRN3*, *MKS1*, *MTTP*, *NR0B1*, *NSMF*, *NTRK2*, *PCSK1*, *PNPLA6*, *POLR3A*, *POLR3B*, *PROK2*, *PROKR2*, *PROP1*, *RBM28*, *RNF216*, *RXFP2*, *SEMA3A*, *SH2B1*, *SIM1*, *SOX10*, *SPRY4*, *TAC3*, *TACR3*, *TTC8*, *WDR11* у 11 пациенток (11,6%, 95% ДИ [6,4; 19,7]) идентифицированы однонуклеотидные варианты в генах, ассоциированных с фенотипом ППР, методом полноэкзомного секвенирования у 13 пациенток (13,7%, 95%ДИ [8,04; 22,2]) идентифицированы однонуклеотидные варианты в генах-кандидатах, ассоциированных с нейроэндокринными механизмами регуляции работы ГГГО и развитием ее преждевременной активации в периоде детства. Двум пациенткам в связи с наличием ряда фенотипических особенностей, характерных клинических проявлений, а также данных неонатального и раннего анамнеза проведен хромосомный микроматричный анализ (ХМА), по результатам которого выявлены вариации числа копий, а именно делеции участка 14 хромосомы (2,11%, 95%ДИ [0,1; 7,8]).

Среди пациенток с положительным результатом молекулярно-генетического анализа, у 15 девочек отмечался семейный характер ППР (57,7% случаев, 95%ДИ [38,9; 74,5]), у 11 семейный анамнез не был отягощен по патологии полового созревания (42,3% случаев, 95%ДИ [25,5; 61,1]).

В общей сложности, среди исследуемой группы детей с семейной формой ППР (n=50) вариантные замены удалось идентифицировать у 15 пациенток (30% случаев, 95%ДИ [19,0; 42,8]). При спорадической форме ППР (n=52) молекулярно-генетические дефекты выявлены в несколько меньшей частоте – у 11 пациенток (21,1% случаев, 95%ДИ [12,0; 34,2]).

Результаты молекулярно-генетического анализа и некоторые клинические характеристики пациенток представлены в таблице 6. Среди 26 девочек, в большинстве случаев (n=14) были идентифицированы гетерозиготные варианты в гене *MKRN3* (53,8%, 95%ДИ [35,4; 71,2]), широко известным в качестве моногенной причины ППР, у 10 пациенток – редкие однонуклеотидные варианты в генах, ассоциированных по данным ряда исследований с нейроэндокринными механизмами работы ГГГО и возможной взаимосвязью с фенотипом ППР (38,5%, 95%ДИ [22,4; 57,5]), у 2 пациенток – делеции участка 14 хромосомы, ассоциированной с развитием синдрома Темпл (7,7%, 95%ДИ [1,02; 25,1]), рисунок 9 и 10.

Все пациентки с идентифицированными однонуклеотидными заменами (n=24) имели классический симптомокомплекс ППР, у 2 пациенток с делециями 14 хромосомы наблюдался фенотип синдрома Темпл – маловесность к сроку гестации, мышечная гипотония и вялость сосания в младенчестве, задержка психо-моторного развития, характерные стигмы дисэмбриогенеза (акромикрия, микрогнатия, клинодактилия), ожирение, а также гонадотропинзависимое ППР (табл.7, клинические случаи №1 и №2).

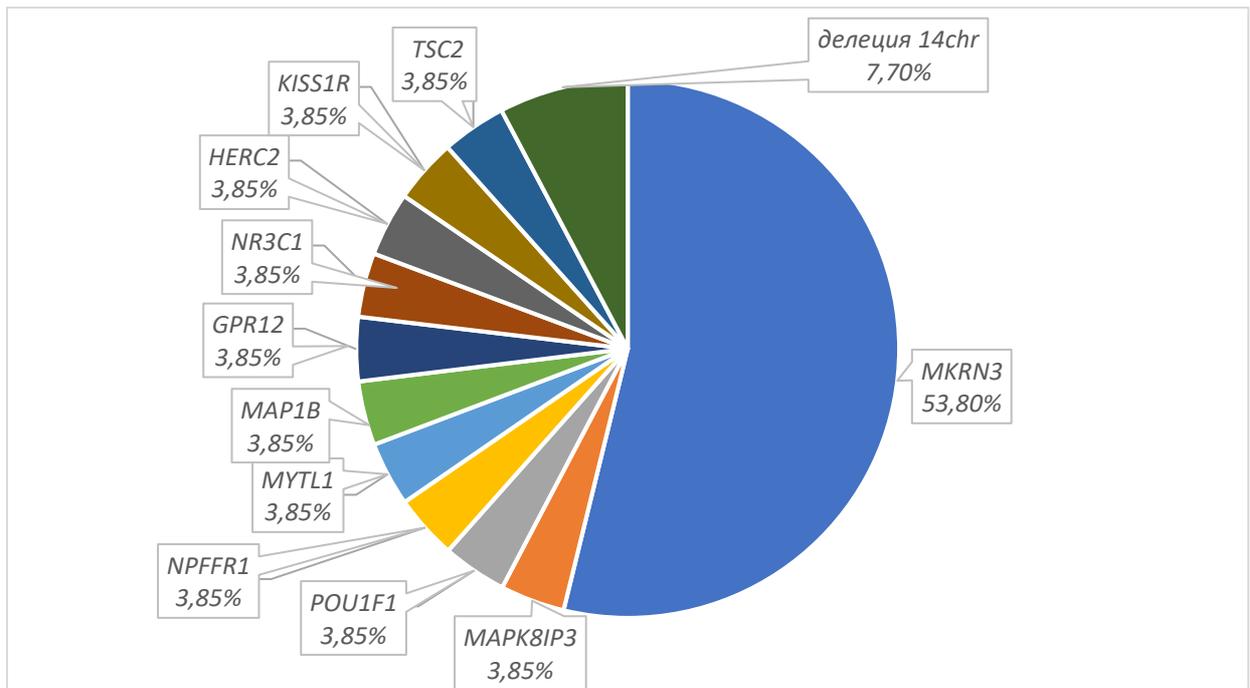


Рисунок 9. Полиморфизм результатов молекулярно-генетического анализа у пациенток с ППР (%)

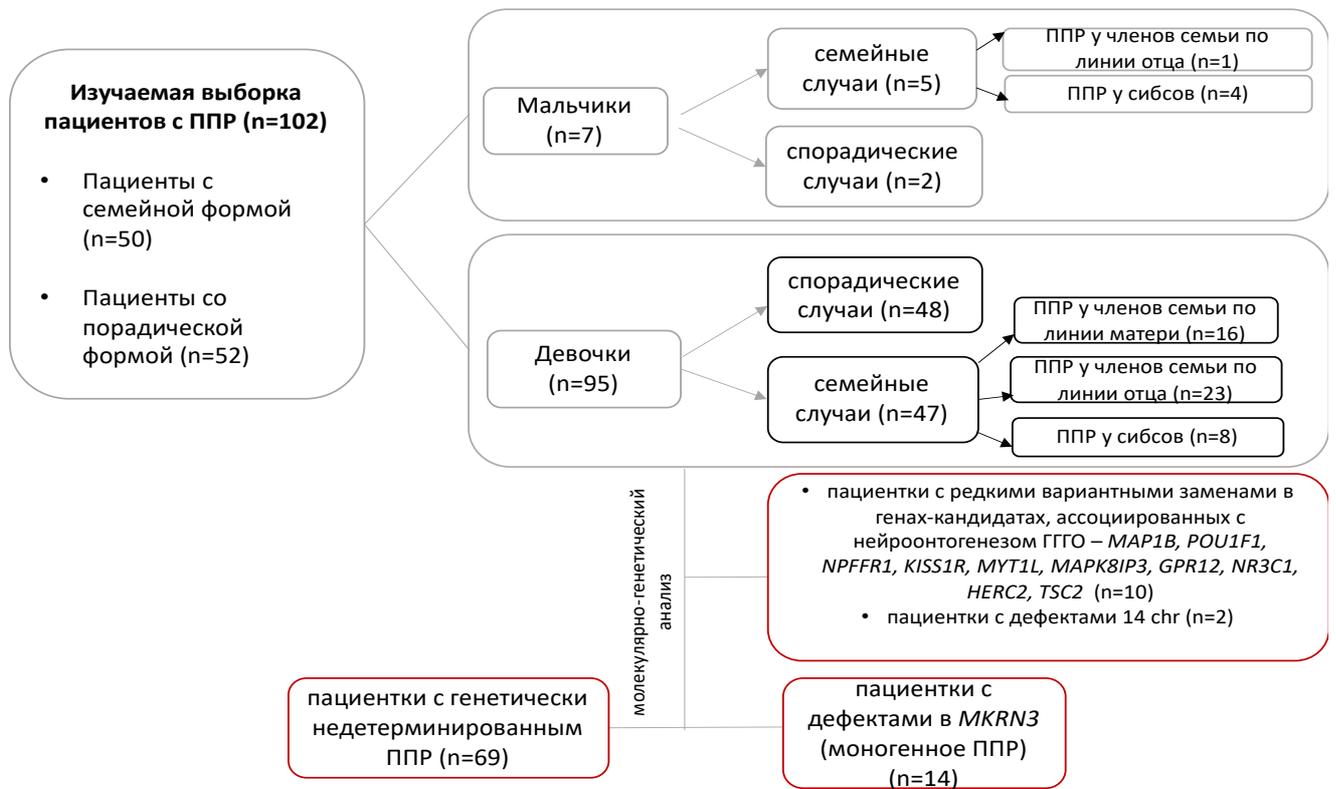


Рисунок 10. Исследуемая выборка пациентов с ППР

Таблица 7. Результаты молекулярно-генетического анализа и некоторые клинические характеристики пациенток

Данные семейного анамнеза	Пациенты	Возраст манифестации, годы	Возраст постановки диагноза, годы	Молекулярно – генетический анализ				
				Ген	Вариант, белок	Тип мутации	In silico анализ	Патогенность ACMG
ППР у членов семьи по отцовской линии	№1	5,0	6,6	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.690dupT (p. T230fs)	Fs	П	ВП
	№2	6,0	7,8	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.1091G>C (p. Cys364Ser)	M	П	ВП
	№3	5,8	7,0	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.1091G>C (p. Cys364Ser)	M	П	ВП
	№4	4,2	5,1	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.118G>T (p.E40X)	N	П	ВП
	№5	5,0	9,1	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.118G>T (p.E40X)	N	П	ВП
	№6	6,5	8,0	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.118G>T (p.E40X)	N	П	ВП
	№7	5,0	6,9	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.343T>A (p.Cys115Ser)	M	П	НКЗ
	№8	6,5	6,11	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.343T>A (p.Cys115Ser)	M	П	НКЗ
	№9	6,1	7,0	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.1091G>C (p.Cys364Ser)	M	П	ВП

	№10	5,0	5,4	<i>MAP1B</i> (NM_005909.5)	c.1456C>T (p. Arg486Ter)	N	П	ВП
ППР у членов семьи по материн- ской линии	№11	0,4	4,1	<i>POU1F1</i> (NM_000306.4)	c.370A>G (p.Met124Val)	M	Н	НКЗ
	№12	7,2	7,4	<i>NPFFR1</i> (NM_022146.5)	c.452A>T (p.Glu151Val)	M	ВП	НКЗ
	№13	7,5	7,8	<i>MYT1L</i> (NM_001303052.2)	c.2311G>C (p.Gly771Arg)	M	ВП	НКЗ
	№14	4,0	7,5	<i>MAPK8IP3</i> (NM_001318852.2)	c.3830G>T (p.Gly1277Val)	M	Н	НКЗ
ППР у сибсов	№15	6,0	7,3	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.1199G>C (p.Cys400Ser)	N	ВП	НКЗ
Спорадиче- ская форма ППР	№16	7,0	8,0	<i>GPR12</i> (NM_005288.4)	c.166A>G (p. Thr56Ala)	M	ВП	НКЗ
	№17	7,0	7,5	<i>NR3C1</i> (NM_001018077.1)	c.862A>T (p. Thr288Ser)	M	ВП	НКЗ
	№18	6,0	6,4	<i>HERC2</i> (NM_004667.6)	c.2797_2798del (p.Leu933SerfsTer 8)	Fs	П	НКЗ
	№19	0,8	1,8	<i>KISS1R</i> (NM_032551.5)	c.220C>G (p.Arg74Gly)	M	Н	НКЗ
	№20	6,3	6,7	<i>TSC2</i> (NM_000548.5)	c.2932C>T (p.Arg978Cys)	M	ВП	НКЗ
	№21	4,8	7,0	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.982C>T (p.Arg328Cys)	M	П	ВП
	№22	7,7	8,3	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.1088A>G (p. Gln363Arg)	M	ВП	НКЗ

	№23	6,7	7,0	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.482dup (p.Ala162GlyfsTer 15)	Fs	П	НКЗ
	№24	6,0	7,0	<i>MKRN3</i> (NM_005664.4)	c.1033C>T (p.Arg345Cys)	М	П	НКЗ

Примечание: П – патогенный, ВП – вероятно патогенный, Н – нейтральный, НКЗ – неопределенная клиническая значимость; М – missense, N – nonsense; Fs – frameshift; ASMG – American College of Medical Genetics and Genomic; in silico анализ – биоинформатические алгоритмы предсказания патогенности

Характерные особенности фенотипа и результаты генетического анализа пациенток с синдромом Темпл представлены в таблице 7.

Таблица 7. Клинические характеристики пациенток с синдромом Темпл

Пациент	Фенотипические особенности	Возраст манифестации ППР, лет	Возраст постановки диагноза, лет	Метод исследования	Делеция
№1	Маловесность к сроку гестации, мышечная гипотония и вялость сосания на первом году жизни, задержка психо-моторного развития, акромикрия, микрогнатия, клинодактилия, ожирение, ППР	5,9	6,4	ХМА	<i>14q32.2-14q32.3</i>
№2	Акромикрия, микрогнатия, миндалевидный разрез глаз, выступающие лобные бугры, маловесность к сроку гестации, мышечная гипотония и снижение сосательного рефлекса в младенчестве, задержка психо-моторного развития, ППР, СТГ-дефицит	6,7	7,1	ХМА	<i>14q32.2-q32.31</i>
Примечание: ХМА – хромосомный микроматричный анализ, СТГ – соматотропный гормон					

Клинические случаи №1 и №2 демонстрируют полиморфизм клинических проявлений и сложности дифференциально-диагностического поиска при диагностике синдрома Темпл. Анализ клинической картины заболевания, данных анамнеза, сопутствующих фенотипических особенностей в сочетании

с характерным для синдрома гонадотропинзависимым ППР позволил сузить диагностический поиск и заподозрить наличие аномалии 14 хромосомы с необходимым подтверждающим методом диагностики.

Клинический случай №1.

Пациентка №1, наблюдается в детском отделении ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России с возраста 6,5 лет. Поводом для первичного обращения были жалобы на избыточный вес с 4-х лет и прогрессию вторичных половых признаков с 5 лет. Из анамнеза известно, что ребенок от 1-й беременности, протекавшей на фоне низкого предлежания плаценты, родов путем кесарева сечения на 38 неделе гестации. При рождении отмечалась маловесность к сроку гестации: масса тела 2300 г (SDS: -2.49), длина тела 46 см (SDS: -1.80). В период новорожденности отмечалась умеренно выраженная мышечная гипотония и снижение сосательного рефлекса с необходимостью установки назогастрального зонда. С раннего возраста наблюдались задержка психомоторного развития (голову удерживает с 4-х мес., сидит с 9 мес., фразовая речь после 4-х лет), низкие темпы роста, а также рецидивирующие инфекции верхних дыхательных путей и отиты.

При первичном обследовании в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России в возрасте 6,5 лет: рост 118 см (SDS роста: 0,57), скорость роста: 10,94 см/год (SDS скорости роста: 4,99), вес 25 кг (SDS индекса массы тела: 1,3), половое развитие по Таннер (B2 P2) Aх 0, Me abs, обращал внимание фенотип – микрогнатия, акромикрия, готическое небо, клинодактилия 5-х пальцев. В гормональном профиле отмечались пубертатные значения половых гормонов: ЛГ – 1.87 Ед/л (0–1,5), ФСГ – 4,56 Ед/л (0–2,5), эстрадиол 112 пмоль/л. Для уточнения генеза преждевременного полового развития проведена проба с аналогом гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ), по результатам которой максимальный выброс ЛГ составил 63,2 Ед/л, что свидетельствовало в пользу гонадотропинзависимой формы заболевания. По данным инструментального обследования на УЗИ органов малого таза: размеры матки соответствовали возрастной группе 9-10 лет, яичников – 10-11 лет.

На рентгенограмме кистей отмечалось значимое опережение костного возраста (КВ соответствовал 8,5-9 годам по атласу TW-20). При проведении МРТ головного мозга органической патологии хиазмально-селлярной области не выявлено. Учитывая значимое опережение костного возраста, с целью улучшения ростового прогноза и социальной адаптации, рекомендована терапия аналогами ГнРГ пролонгированного действия в дозе 3,75 мг с кратностью в 28 дней.

Наличие гонадотропинзависимого варианта преждевременного полового развития на фоне избытка массы тела у ребенка с маловесного к сроку гестации, с мышечной гипотонией, задержкой психомоторного развития и частыми отитами в раннем анамнезе в сочетании с характерными фенотипическими стигмами позволило заподозрить заболевание с нарушением механизма геномного импринтинга. Кариотип 46, XX. По результатам генетического исследования нарушений метилирования и однородительской дисомии 7-й хромосомы (UPD 7) не выявлено, что позволило сузить диагностический поиск. Дальнейший анализ наследования микросателлитных маркеров (динуклеотидный D14S, тетра nukлеотидный tacc chr14:101382965-101383139 и тринуклеотидный tgg chr14:101512709-101513523), расположенных импринтированной области 14 хромосомы (14q32.2-14q32.3) выявил отсутствие аллелей микросателлитных маркеров, что свидетельствует о делеции отцовского происхождения либо о однородительской материнской дисомии, соответствующие молекулярно-генетической причине синдрома Темпл.

При динамическом обследовании на фоне проводимой терапии препаратами трипторелина отмечалось отсутствие значимой прогрессии костного созревания, отсутствие прогрессии в развитии органов малого таза и вторичных половых признаков. Учитывая избыточную массу тела, проводился систематический контроль метаболического профиля: показатели липидного и углеводного обмена сохранялись в пределах нормальных значений. При оценке антропометрических показателей у пациентки наблюдались удовлетвори-

тельные темпы роста (SDS скорости роста: 1,1), однако учитывая клинически значимое опережение костного созревания, прогностический конечный рост определялся ниже целевого на 8,5- 13,5 см и соответствовал 154-159 см. Принимая во внимание клинические наблюдения зарубежных авторов о целесообразности назначения препаратов соматотропина лишь в допубертатным возрастном периоде, до манифестации преждевременного полового созревания при выраженной прогрессии костного созревания у пациентки, терапия препаратами рекомбинантного гормона роста не проводилась.

Клинический случай №2.

Пациентка №2 наблюдается в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России с возраста 10 месяцев. Поводом для первичного обращения были жалобы на низкие темпы роста с рождения. Из анамнеза известно, что ребенок от 1-й беременности, родов путем кесарева сечения на 36 неделе гестации. При рождении отмечался малый вес к сроку гестации (масса тела 1800 г (SDS: -3.7), длина тела 50 см (SDS: 1.1)). В период новорожденности отмечалась мышечная гипотония и снижение сосательного рефлекса. На 1 году жизни наблюдалась задержка физического развития (голову удерживает с 3-х мес., самостоятельная ходьба с 1,8 лет), а также сниженные темпы роста.

При первичном обследовании в связи с выраженной задержкой роста (SDS роста: -4.1) и костного возраста (КВ соответствовал 3 месяцам), низкого уровня инсулиноподобного фактора роста (ИФР-1) <25 нг/мл был заподозрен дефицит соматотропного гормона (СТГ-дефицит). Данных за дефицита других тропных гормонов гипофиза не получено. Кариотип – 46, XX. Рекомендована пробная терапия рекомбинантным гормоном роста (рГР), на фоне которой за 2 года динамического наблюдения прибавка в росте составила 28 см.

В возрасте 4 лет 9 месяцев при плановой госпитализации в «НМИЦ эндокринологии» была проведена СТГ-стимуляционная проба с клонидином, по

результатам которой был подтвержден СТГ-дефицит (максимальный выброс СТГ на пробе составил 3,2 нг/мл). При осмотре обращали внимание стигмы дисэмбриогенеза – акромикрия, микрогнатия, миндалевидный разрез глаз, выступающие лобные бугры, низкопосаженные ушные раковины. По результатам молекулярно-генетического анализа данных за аномалии 7 и 15 хромосомы не получено, что позволило исключить синдромы Сильвера-Рассела и Прадера-Вилли. Учитывая отсутствие органической патологии по данным МРТ головного мозга и удовлетворительный ответ на ростостимулирующую терапию в анамнезе, было рекомендовано продолжить терапию рГР.

В возрасте 6 лет и 7 месяцев появились жалобы на увеличение грудных желез, появление лобкового оволосения и неприятного запаха пота. По этому поводу впервые обследована в возрасте 7 лет 1 месяца: при объективном осмотре рост 117,6 см (SDS роста: 0,06), вес 20 кг (SDS ИМТ: 0,65), скорость роста 9 см/год (SDS скорости роста: 2,2). По результатам проведенного обследования в гормональном профиле отмечались пубертатные базальные значения половых гормонов (ЛГ 19 Ед/л и ФСГ 4,2 Ед/л, эстрадиол 72 пмоль/л), увеличение размеров органов малого таза (эхографические размеры матки и яичников соответствовали 9-10 годам), а также выраженная прогрессия КВ (КВ соответствовал 10,2 годам по атласу TW20), что свидетельствовало в пользу гонадотропинзависимого ППП. С целью профилактики социальной дезадаптации и улучшения ростового прогноза пациентке была рекомендована терапия пролонгированным аналогом ГнРГ (Трипторелин) в дозе 3,75 мг каждые 28 дней.

На основании данных анамнеза о неонатальном и раннем возрасте, характерных фенотипических особенностей, а также гонадотропинзависимого ППП с выраженным ускорением КВ, при отрицательных результатах генетического тестирования на синдромы Сильвера-Рассела и Прадера-Вилли пациентке был заподозрен синдром Темпл, который был подтвержден

результатами хромосомного микроматричного анализа – детектирована делеция 14 хромосомы (14q32.2-q32.31).

Согласно данным биоинформатических алгоритмов предсказания патогенности (*in silico* анализ) патогенные и вероятно-патогенные однонуклеотидные вариантные замены, ассоциированные с нейроонтогенезом и регуляцией работы ГТГО, были выявлены у 21 из 26 пациенток (80,8%, 95%ДИ [61,7; 91,9]), у 3 пациенток идентифицированные варианты имели нейтральный характер (11,5%, 95%ДИ [3,2; 29,8]). Тем не менее, нельзя исключить, что данные варианты способны влиять на эффективность и скорость трансляции, что в свою очередь, может нарушать функцию белка, не позволяя тем самым отклонить их взаимосвязь с патогенезом заболевания. Патогенными также считались вариации числа копий, а именно делеции длинного плеча 14 хромосомы, которые были обнаружены у 2 пациенток с фенотипом синдрома Темпл (7,7%, 95% ДИ [1,02; 25,3]). В общей сложности, патогенные и вероятно-патогенные изменения, идентифицированные у 23 из 26 пациенток, составили 88,5% случаев (95% ДИ [70,2; 96,8]).

Таким образом, среди всей исследуемой группы девочек (n=95) по результатам молекулярно-генетического исследования и данных биоинформатических алгоритмов предсказания патогенности у 23 пациенток выявлены патогенные и вероятно-патогенные варианты (24,2%, 95%ДИ [16,7; 33,8]), у 3 пациенток – нейтральные варианты (3,2%, 95%ДИ [0,7; 9,2]), у 69 пациенток какие-либо вариантные замены не обнаружены (72,6%, 95%ДИ [62,9; 80,6]).

3.2.2 Моногенные формы ППР, обусловленные вариантными заменами в гене *MKRN3*

Частота дефектов гена *MKRN3* в исследуемой нами выборке пациентов с гонадотропинзависимым ППР (n=102) составила 13,7% (95%ДИ [8,2; 21,9]), которые были детектированы у 14 девочек из 10 семей. У 10 из 14 пациенток заболевание имело семейный характер (71,4%, 95%ДИ [44,9; 88,7]), у 4 пациенток (4/14) – спорадический (28,6%, 95%ДИ [11,3; 55,0]). Анализ наследственного анамнеза позволил установить, что в подавляющем большинстве (9/14) носительство вариантных замен выявлено у пациенток с отягощенным анамнезом по отцовской линии – 64,3% (95%ДИ [38,6; 83,2]), у 1 пациентки (7,1%, 95%ДИ [0,0; 33,5]) дефект в *MKRN3* выявлен в связи с преждевременным менархе у родной сестры при отсутствии данных о патологии полового созревания по линии отца (от обследования члены семьи отказались), у 4 из 14 пациенток семейный анамнез не был отягощен по патологии полового созревания, что расценено как спорадическая форма заболевания (28,6%, 95%ДИ [11,3; 55,0]).

Среди идентифицированных вариантных замен в 2 из 14 случаев идентифицированы фреймшифт мутации, приводящие к сдвигу рамки считывания (14,3%, 95%ДИ [2,8; 41,2]), в 5 случаях (5/14) – нонсенс мутации, приводящие к формированию стоп-кодона и преждевременной терминации синтеза белка (35,7%, 95%ДИ [16,2; 61,4]), в 7 случаях (7/14) – миссенс мутации, приводящие к замене одной аминокислоты на другую (50,0%, 95%ДИ [26,8; 73,2]), рис.11. По совокупности имеющихся данных, в том числе по данным биоинформатических алгоритмов предсказания патогенности, в 8 из 14 случаев выявлены вероятно патогенные варианты (57,4%, 95%ДИ [32,6; 78,7]), в 6 случаях (6/14) – варианты неопределенной клинической значимости (42,6%, 95%ДИ [1,3; 6,5]).

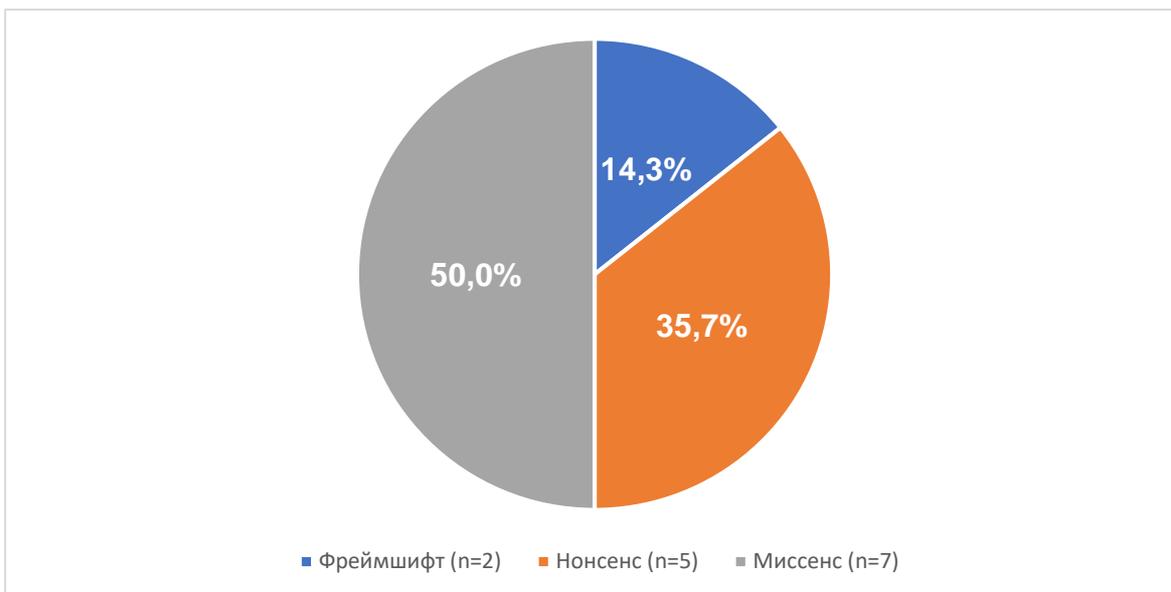


Рисунок 11. Процентное распределение дефектов в гене *MKRN3* по типу вариантной замены среди девочек (n, %)

В общей сложности, среди 14 девочек было идентифицировано 9 различных вариантных замен, среди которых 7 (7/9) не были описаны ранее (77,8%, 95%ДИ [44,3; 94,7]), однако миссенс мутация с.1091G>C (p.Cys364Ser) была выявлена у трех девочек из двух неродственных семей. У 2 пациенток (2/9) выявленные дефекты (p.Arg328Cys и p. Ala162GlyFsTer15) не однократно описаны по данным литературы (22,2%, 95%ДИ [5,3; 55,7]).

На рисунке 12 представлено графическое изображение всех выявленных вариантов (выделены красным). Как видно, идентифицированные нами ранее не описанные варианты находятся в непосредственной близости с критическими регуляторными областями гена (СЗН1 и СЗНС4), а также с известными мутациями, описанными по данным крупного объединенного исследования Valadares и соавторов.

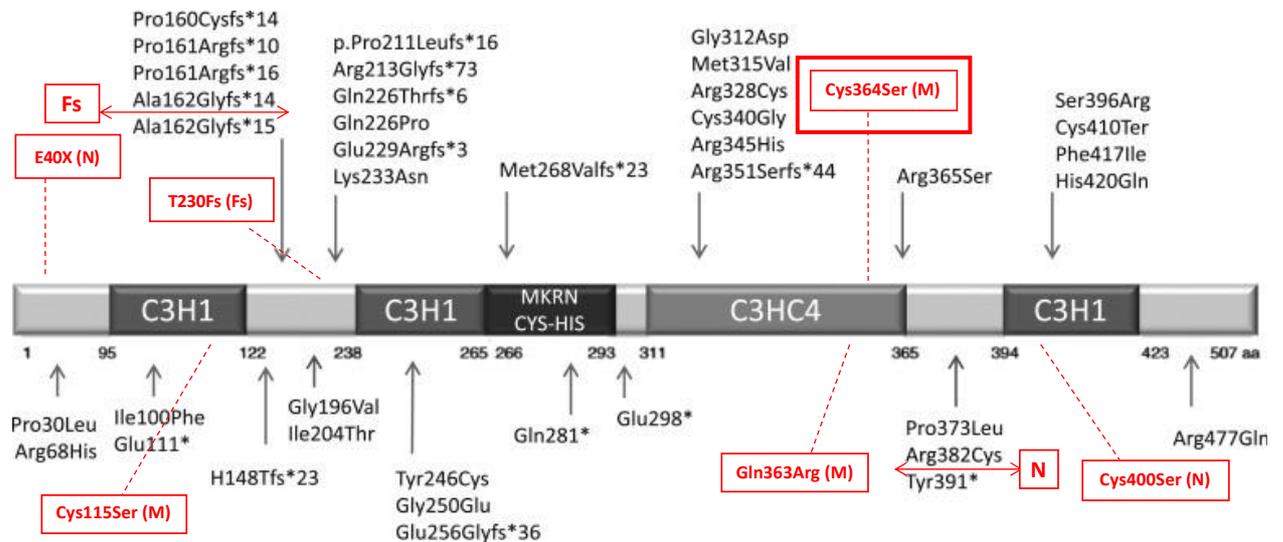


Рисунок 12. Мутации в гене *MKRN3*, идентифицированные у девочек с ППР (Valadares L. и соавт.[94])

Таким образом, среди исследуемой группы девочек у 14 из 95 пациенток была диагностирована моногенная форма ППР вследствие гетерозиготных мутаций в гене *MKRN3*, у 69 пациенток (69/95) отмечалась идиопатическая (генетически недетерминированная) форма ППР. При проведении сравнительного анализа были выявлены различия на уровне статистических тенденций: у пациенток с моногенной формой ППР (n=14) отмечалась более выраженная прогрессия полового развития по шкале Таннер (p=0,025) и более выраженное ускорение роста (SDS роста, p=0,0055) на момент первичного обследования (рис. 13 и 14). Остальные параметры, включая возраст манифестации и возраст постановки диагноза, так же как и лабораторно-инструментальные характеристики в изучаемых группах не отличались (табл. 8).

Таблица 8. Клинические и лабораторно-инструментальные характеристики девочек с моногенной и идиопатической формой ППР

Показатель	Девочки с моногенной формой ППР (n=14)	Девочки с идиопатическим ППР (n=69)	P
Возраст дебюта заболевания, лет	6,0 [5,0; 6,5]	6,0 [5,3; 6,7]	0,990
Возраст постановки диагноза, лет	7,0 [6,9; 8,0]	7,0 [6,2; 7,6]	0,164
Продолжительность от дебюта до диагностики ППР, лет	1,3 [0,9; 1,8]	0,7 [0,3; 1,1]	0,040
Половое развитие по Таннер, стадия	3,0 [2,0; 4,0]	2,0 [2,0; 3,0]	0,0025
SDS роста, SD	2,6 [2,0; 2,9]	1,9 [1,0; 2,5]	0,0055
Скорость роста, см	8,4 [8,0; 11,0] n=7	8,6 [7,7; 10,0] n=53	0,817
SDS скорости роста, SD	3,3 [2,9; 5,1] n=7	3,1 [1,8; 4,7] n=53	0,381
Костный возраст, лет	11,0 [9,5; 12,0]	9,5 [8,0; 10,4]	0,072
Опережение костного возраста, лет	3,4 [3,0; 4,0]	2,5 [1,9; 3,3]	0,020
Базальный уровень ЛГ, Ед/л	4,0 [1,5; 5,2]	1,4 [0,5; 3,5]	0,037
Базальный уровень ФСГ, Ед/л	5,9 [4,8; 7,0]	4,0 [2,9; 6,0]	0,040
Эстрадиол, пмоль/л	110,0 [89,0; 204,0]	95,0 [75,6; 129,0]	0,226
Мах ЛГ на пробе с аналогом ГнРГ, Ед/л	44,2 [30,6; 53,3] n=8	20,3 [11,0; 41,0] n=55	0,034
Мах ФСГ на пробе с аналогом ГнРГ, Ед/л	31,2 [23,9; 33,8] n=8	23,5 [14,0; 29,8] n=55	0,084
Эхографические размеры матки и яичников			
Длина матки, см	3,4 (2,2; 4,9)	3,3 (1,0; 4,8)	0,908
Ширина матки, см	2,4 (1,5; 3,3)	2,0 (0,5; 3,9)	0,034
Толщина матки, см	1,8 (1,0; 2,8)	1,5 (0,5; 2,7)	0,042
Толщина м-эхо, мм	3,9 (0; 9,0)	1,9 (0; 9,0)	0,010
Правый яичник, см ³	3,2 (1,8; 6,0)	2,9 (0,9; 9,2)	0,145
Левый яичник, см ³	3,4 (1,0; 6,2)	2,7 (0,6; 7,2)	0,107
<p>Примечание: количественные данные представлены в виде Me [Q1; Q3] для всех параметров, кроме эхографических размеров матки и яичников, которые представлены в виде среднего (мин; макс) значений</p> <p>Для сравнения двух независимых групп использован критерий Манна-Уитни.</p> <p>Пороговый p после применения поправки Бонферрони 0,0025</p>			

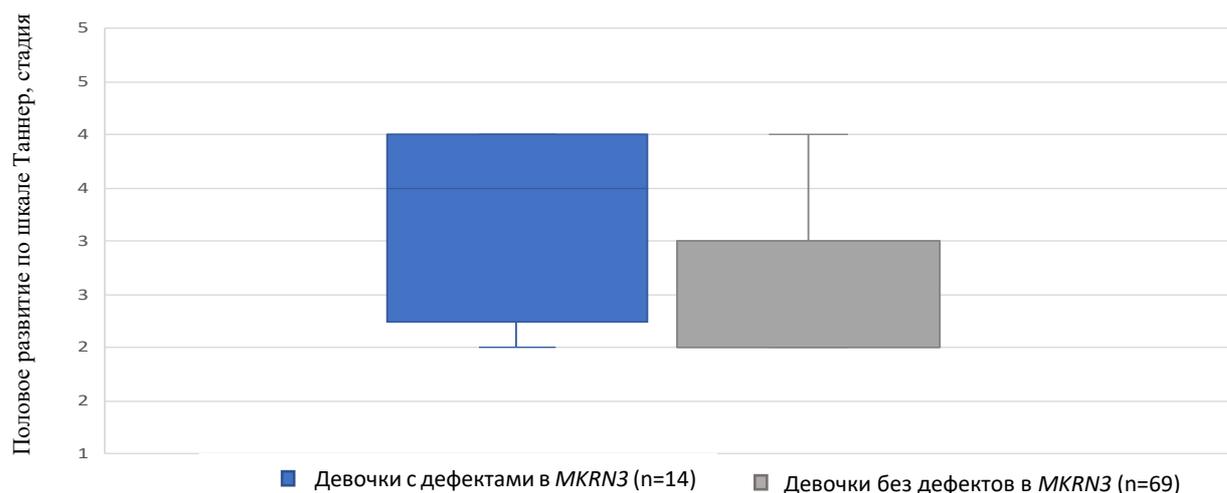


Рисунок 13. Стадия полового развития по шкале Таннер у девочек с дефектами в гене *MKRN3* и без дефектов при первичном обследовании, Me [Q1; Q3]

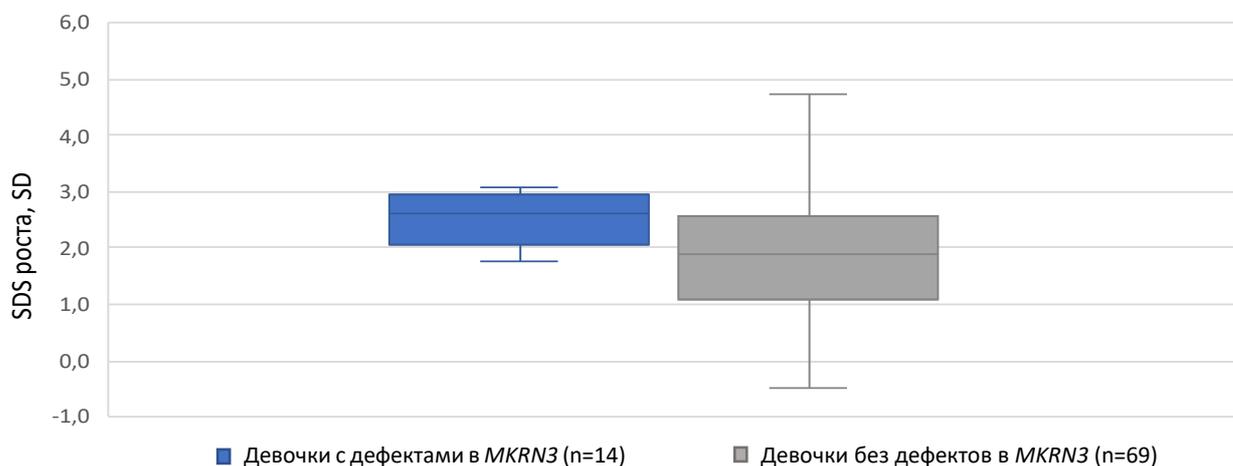


Рисунок 14. SDS роста у девочек с дефектами в гене *MKRN3* и без дефектов при первичном обследовании, Me [Q1; Q3]

Таким образом, по результатам проведенного анализа пациентки с моногенной формой ППР не имеют существенных отличительных особенностей в течении и клинических характеристиках заболевания в сравнении с группой генетически недетерминированного ППР. Ограничением данного анализа и полученных результатов является малый размер и численная несопоставимость изучаемых групп.

Как было сказано ранее, в нашей группе пациенток с мутациями в *MKRN3* были идентифицированы две фреймшифт мутации (2/14 случаев), приводящие к сдвигу рамки считывания, три нонсенс мутации (5/14 случаев),

приводящие к формированию стоп-кодона и преждевременной терминации синтеза белка и три миссенс-мутации (7/14 случаев), приводящие к замене одной аминокислоты на другую. По характеру эффекта мутаций на белок и имеющих данных литературы варианты замены можно условно разделить на две группы – «тяжелые» (фреймшифт и нонсенс-варианты) и «легкие» (миссенс-варианты) [96]. В таблице 9 представлены основные клинико-лабораторные характеристики пациенток с «тяжелыми» и «легкими» вариантами заменами в гене *MKRN3*. Статистически значимых различий в клинических и лабораторных параметрах между группами не получено, однако малый размер исследуемой выборки может быть ограничением проведенного анализа.

Таблица 9. Клинические и лабораторные характеристики пациенток с дефектами в *MKRN3*

Показатель	Девочки с «тяжелыми» вариантами заменами (n=7)	Девочки с «легкими» вариантами заменами (n=7)	P
Возраст дебюта заболевания, лет	5,0 [4,8; 6,5]	6,1 [5,8; 7,7]	0,157
Половое развитие по Таннер, стадия	4,0 [3,0; 4,0]	2,0 [2,0; 4,0]	0,051
SDS роста, SD	2,9 [2,6; 3,0]	2,3 [1,9; 2,6]	0,096
SDS скорости роста, SD	3,3 [2,9; 6,3] n=5	3,6 [2,5; 4,6] n=5	0,381
Опережение КВ, лет	4,0 [3,9; 5,2]	3,1 [2,3; 3,2]	0,039
Базальный уровень ЛГ, Ед/л	4,2 [1,5; 9,0]	2,0 [1,1; 4,0]	0,201
Базальный уровень ФСГ, Ед/л	6,2 [3,2; 7,6]	5,1 [4,8; 7,0]	0,481
Эстрадиол, пмоль/л	105,0 [66,0; 246,0]	116,0 [98,0; 204,0]	1,000
Мах уровень ЛГ на пробе с аналогом ГнРГ, Ед/л	49,7 [19,9; 105,0] n=5	42,3 [56,1; 46,0] n=5	0,765
Мах уровень ФСГ на пробе с аналогом ГнРГ, Ед/л	35,5 [16,7; 43,7] n=5	30,3 [28,0; 32,1] n=5	0,548

Примечание: КВ – костный возраст.

Количественные данные представлены в виде Me [Q1; Q3]. Для сравнения двух независимых групп использован критерий Манна-Уитни, пороговый P после применения поправки Бонферрони 0,005.

В большинстве случаев среди пациенток с семейной формой ППР при мутациях в гене *MKRN3* прослеживался аутосомно-доминантный характер наследования с неполной пенетрантностью, зависящей от пола. Серия клинических случаев представлена на рисунке 15. Анализ семейного анамнеза позволил проследить наличие феномена импринтинга, характерного для дефектов в *MKRN3* (заболевание развивается в тех случаях, когда дефект унаследован по отцовской линии, поскольку материнская аллель не экспрессируется в норме, семьи 1-5). У пациентки №15 (семья 6) достоверно отследить характер наследования не представилось возможным, поскольку члены семьи от генетического обследования отказались.

У всех пациенток диагноз установлена на основании классической клинической картины – появление вторичных половых признаков до 8 лет, ускорение темпов костного созревания, увеличение размеров органов малого таза и пубертатных базальных и/или стимулированных значений гонадотропных гормонов. Образцы крови для молекулярно-генетического анализа членов семьи были доступны лишь в семьях 3 и 4, где варианты замены в гене *MKRN3* были обнаружены у клинически здоровых отцов пациенток. В остальных случаях идентифицированные варианты были расценены как патогенные (семьи 1, 2, 5) или вероятно-патогенные (семья 6) по данным биоинформатических алгоритмов предсказания патогенности.

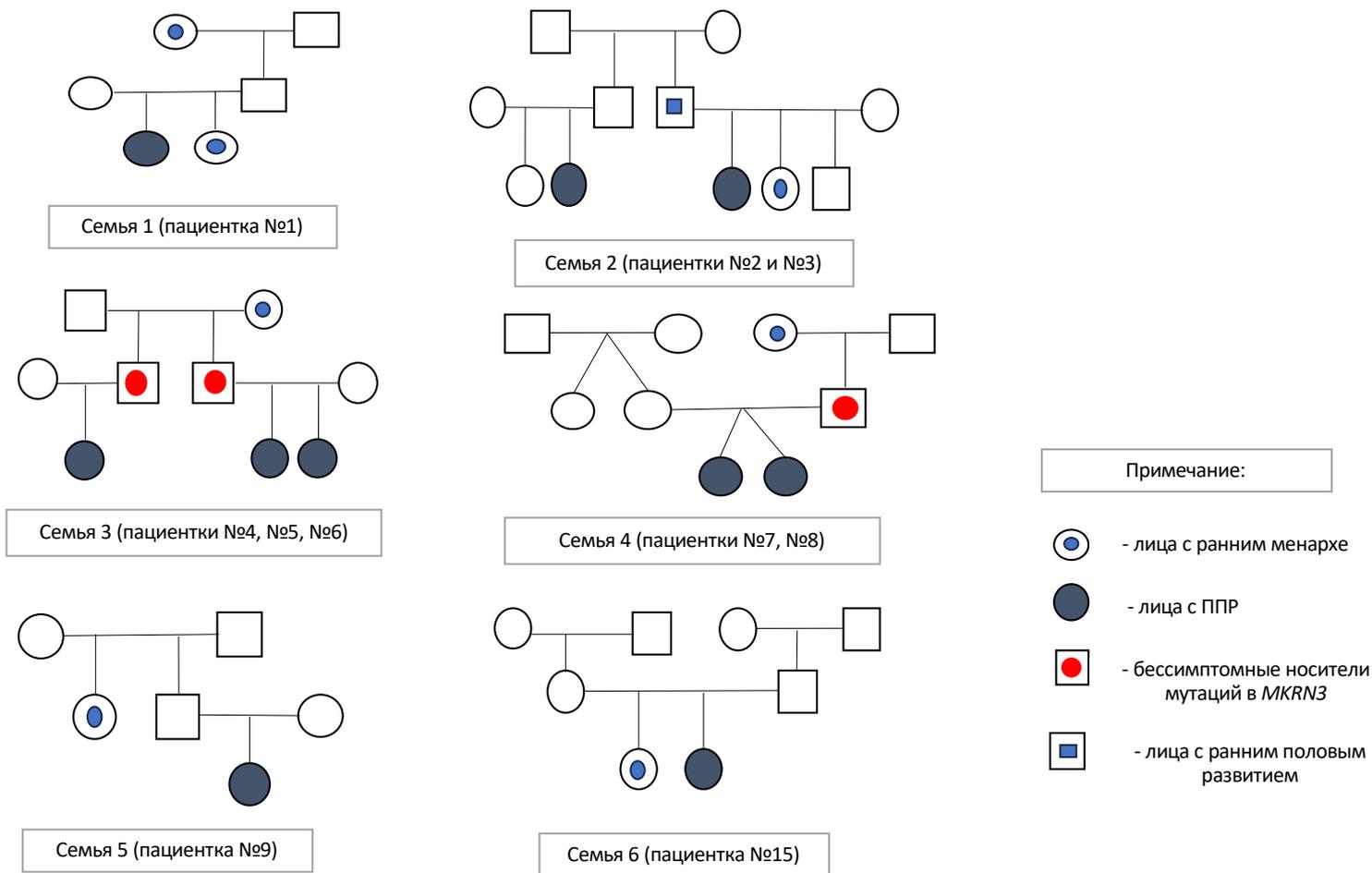


Рисунок 15. Особенности наследования мутаций в гене *MKRN3* при семейных вариантах ППР

3.3 Медикаментозная терапия ППР пролонгированными аналогами ГнРГ (Трипторелин)

В настоящее время для лечения гонадотропинзависимого ППР возможно использование двух режимов терапии: инъекции трипторелина с кратностью 1 раз в 28 дней (3,75 мг) или 1 раз в 90 дней (11,25 мг) [113,114]. Один из фрагментов исследования заключался в сравнении эффективности режимов терапии гонадотропинзависимого ППР в течение 1 года непрерывной терапии. Среди пациенток, получавших медикаментозную терапию, небольшой группе девочек (n=11) проводилось лечение трипторелином в дозе 11,25 мг с кратностью инъекций 1/90 дней (основная группа). В контрольную группу путем подбора пар включены 11 девочек, получавших трипторелин в дозе 3,75 мг с кратностью инъекций 1/28 дней.

Эффективность терапии оценивалась по основным параметрам компенсации ППР, принятых в отечественных клинических рекомендациях [113]. За год терапии у всех пациенток удалось достичь компенсации основного заболевания в виде отсутствия прогрессии вторичных половых признаков, снижения скорости роста и отсутствия прогрессии костного возраста (КВ). Тем не менее, в основной группе в сравнении с группой контроля на уровне статистической тенденции отмечалось более выраженное замедление темпов роста (5,0 [4,5; 6,0] см/год против 3,0 [1,5; 4,0] см/год, $p=0,008$) и SDS скорости роста (5,1 [3,9; 6,2] SD/год против 1,8 [0,9; 3,6] SD/год, $p=0,003$) на фоне стагнации костного возраста при обследовании через 1 год от начала терапии (табл.10, рис. 16 и 17). За 12 месяцев наблюдения нежелательные реакции не были зафиксированы ни в одной из групп.

Таблица 10. Сравнение эффективности медикаментозной терапии у пациенток с ППР по параметрам клинической компенсации

Параметры	Основная группа (n=11)	Контрольная группа (n=11)	p
Обследование до начала терапии			
Возраст, годы	7,2 [6,9; 7,8]	7,6 [7,1; 7,7]	0,662 ¹
Костный возраст, годы	8,9 [8,4; 11,3]	11,0 [9,0; 11,0]	0,325 ¹
SDS роста, SD	1,4 [0,95; 2,08]	2,2 [1,3; 2,7]	0,100 ¹
Скорость роста, см	9,0 [8,1; 11,4]	8,6 [8,0; 11,6]	0,921 ¹
SDS скорости роста, SD	5,3 [2,7; 6,0]	4,9 [2,5; 5,7]	0,449 ¹
Обследование через год от начала терапии			
Изменение костного возраста, годы	1,1 [0,2; 1,8]	1,0 [0,5; 1,3]	0,862 ¹
Снижение SDS роста, SD	0,4 [0,1; 0,65]	0,4 [0,1; 0,7]	0,693 ¹
Скорость роста, см	5,0 [3,1; 6,5]	7,0 [4,7; 8,8]	0,019 ¹
SDS скорости роста, SD	0,8 [-0,2; 1,9]	1,9 [0,9; 2,0]	0,045 ¹
Снижение скорости роста, см/год	5,0 [4,5; 6,0]	3,0 [1,5; 4,0]	0,008¹
Снижение SDS скорости роста, SD/год	5,1 [3,9; 6,2]	1,8 [0,9; 3,6]	0,003¹
Уменьшение трех размеров матки	7 (63,6%)	5 (45,5%)	0,661 ²
<p><i>Описательная статистика количественных данных представлена медианами и интерквартильными интервалами Me [Q₁; Q₃], качественных в виде абсолютных и относительных частот (n (%)).</i></p> <p><i>Для сравнения количественных данных использован критерий Манна-Уитни (p¹), для частот категориальных признаков – двусторонний точный критерий Фишера (p²). Пороговый P=0,005 (после применения поправки Бонферрони)</i></p>			

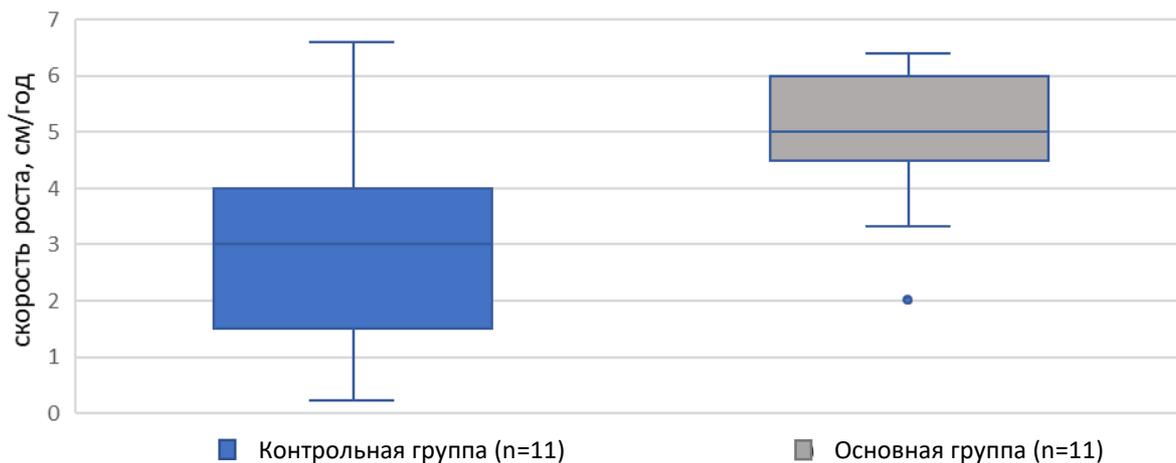


Рисунок 16. Динамика снижения скорости роста (см/год) за год терапии, Ме [Q1; Q3])

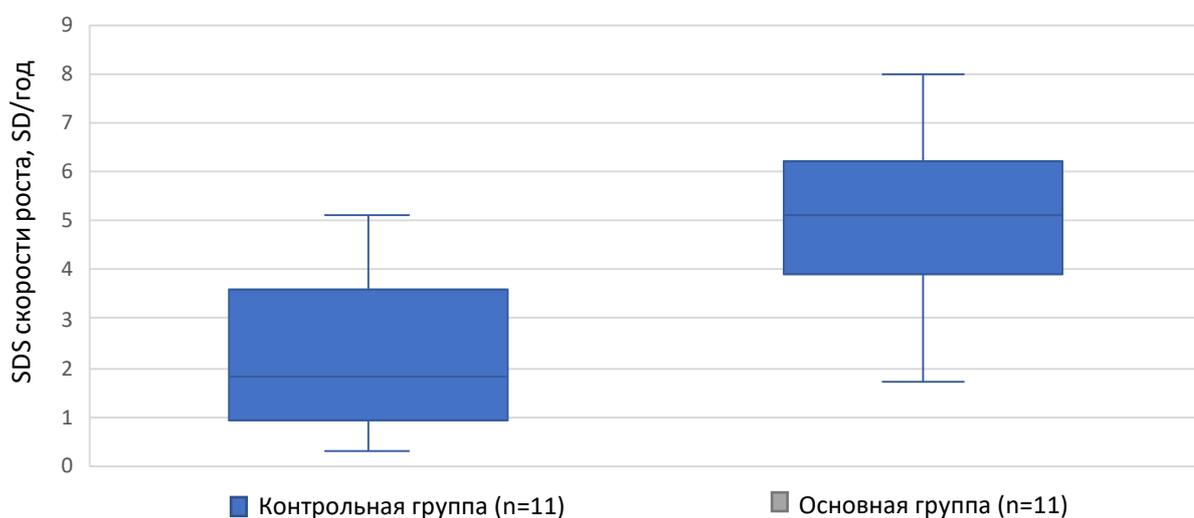


Рисунок 17. Динамика снижения SDS скорости роста (SD/год) за год терапии (Ме [Q1; Q3])

При оценке параметров лабораторной компенсации (снижение уровня эстрадиола ниже 70 пмоль/л и ЛГ менее 0,5 Ед/л) через 6 месяцев от начала лечения не все пациентки соответствовали критериям полной биохимической компенсации, как в основной, так и в контрольной группах. Так, снижение уровня ЛГ в основной группе было достигнуто у 7 из 11 пациенток (63,6%), в контрольной – у 10 из 11 (90,9%), $p=0,747$; снижение уровня эстрадиола в основной группе отмечалось у 10 из 11 пациенток (90,9%), в контрольной группе – у 8 из 11 пациенток (72,7%), $p=0,760$. Через 12 месяцев от начала лечения в

группе, получавших 3,75 мг трипторелина, большее количество девочек соответствовали критериям биохимической компенсации (снижение ЛГ ниже 0,5 Ед/л у 100% пациенток, снижение эстрадиола у 90,9% (10 из 11 пациенток), тогда как в группе пациенток, получавших 11,25 мг трипторелина, снижение ЛГ и эстрадиола отмечалось у 90,9% (10 из 11 пациенток) и 81,8% (9 из 11 пациенток) пациенток соответственно. Однако статистической разницы при анализе данных параметров между группами не было ($p=1,000$), табл. 11.

Таблица 11. Сравнение эффективности медикаментозной терапии у пациенток с ППР по параметрам лабораторной компенсации

Параметры	Основная группа (n=11)	Контрольная группа (n=11)	p
Гормональный профиль через 6 месяцев терапии			
Снижение эстрадиола ниже 70 пмоль/л	10 (90,9%)	8 (72,7%)	0,760 ²
Снижение ЛГ ниже 0,5 Ед/л	7 (63,6%)	10 (90,9%)	0,747 ²
Гормональный профиль через 1 год терапии			
Снижение эстрадиола ниже 70 пмоль/л	9 (81,8%)	10 (90,9%)	1,000 ²
Снижение ЛГ ниже 0,5 Ед/л	10 (90,9%)	11 (100,0%)	1,000 ²
<i>Описательная статистика качественных в виде абсолютных и относительных частот (n, %). Частоты категориальных признаков сравнивались с помощью двустороннего точного критерия Фишера (p^2). Пороговый $P=0,0125$ (после применения поправки Бонферрони)</i>			

Учитывая полный клинический ответ (отсутствие прогрессии вторичных половых признаков, снижение скорости роста и отсутствие прогрессии костного созревания) на проводимое лечение у всех пациенток, оба режима терапии были признаны эффективными.

Таким образом, терапия пролонгированными аналогами ГнРГ в дозе 11,25 мг ежеквартально обладает сопоставимой эффективностью и безопасностью в сравнении со стандартным введением 3,75 мг ежемесячно. Ограничением данного вывода является небольшой объем исследуемой выборки

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В исследуемой группе детей с идиопатическим гонадотропинзависимым статистически чаще преобладали девочки: 93,1%, 95%ДИ [86,3; 96,9] против 6,9%, 95%ДИ [3,1; 13,7]. Соотношение мальчиков и девочек с идиопатическим ППР в нашей работе составило 13,5:1, что согласуется с результатами международных данных о большей частоте встречаемости идиопатических форм ППР среди девочек (10-25:1) [18,19,129,130].

Результаты нашего исследования позволили продемонстрировать высокую частоту семейных форм ППР в российской популяции – 49,0% случаев (n=50, 95%ДИ [39,5; 58,6]), что частично превосходит зарубежные данные. По данным нескольких исследований распространенность семейных форм ППР составляет от 22% до 27,5% [9–11]. Тем не менее, в крупном итальянском исследовании Giabiconi и соавторов, среди 493 девочек с ППР в 47,2% случаев заболевание имело семейный характер [128], что согласуется с полученными нами данными.

Анализ наследственного анамнеза в нашей группе пациентов с семейной формой ППР (50 из 102 случаев, 49,0%) продемонстрировал, что наследование заболевания встречается довольно часто как по отцовской, так и по материнской линии – 23,5% случаев (n=24, 95%ДИ [16,3; 32,7]) и 15,7% случаев (n=16, 95%ДИ [9,8; 24,0]) соответственно. В 9,8% случаев (n=10, 95% ДИ [5,2; 17,3]) ППР также имело семейную форму, будучи диагностированным у сибсов пациентов, однако родители и другие члены семьи имели декретированные сроки полового развития. Однако наше исследование, где у пациентов с семейным ППР не удалось отследить характер наследования, не единственное. Аналогичные данные были получены в исследовании F.R. Tinano, где среди 276 пациентов с семейным ППР в 19% случаев характер наследования был не определен, тогда как наследование по материнской или отцовской линиям было установлено в 39% и 49% случаев, соответственно [10]. В работе A. Du-

grand, включившей 154 пациента с семейной формой ППР, авторы продемонстрировали значимое преобладание наследования заболевания по материнской линии (66,9% против 12,1% по отцовской линии). По совокупности имеющихся данных предполагается, что для семейных форм патологии характерен аутосомно-доминантный характер наследования с неполной пенетрантностью фенотипа, однако авторы высказали предположение, что наличие ППР у sibсов при клинически здоровых родителях (19,4% случаев) не позволяет исключить аутосомно-рецессивное наследование заболевания [131].

В настоящее время все больше внимания уделяется изучению семейных вариантов ППР, унаследованных по материнской линии. Интересно, что среди семейных вариантов ППР, унаследованных по линии отца, генетическая этиология бывает установлена вплоть до 70% случаев, в то время как случаи ППР, унаследованные по линии матери, составляют менее 5% в структуре генетически детерминированных [19]. Данные варианты являются редкими в структуре моногенных, что гипотетически может быть объяснено «неменделевскими механизмами» наследования: изодисомии, нарушения эпигенетических модификаций или иметь олиго- или полигенную природу [10]. В нашем исследовании, молекулярно-генетические дефекты у пациентов с анамнезом, отягощенным по линии матери, выявлены в 2,5 раза реже, в сравнении с таковым по отцовской линии, что согласуется с исследованием 2023 года F.R. Tinano [10].

При проведении сравнительного анализа клинических и лабораторно-инструментальных характеристик в подгруппах пациенток с семейной и спорадической формами ППР было установлено, что при спорадической форме ППР диагноз был установлен раньше в сравнении с семейной формой заболевания ($p=0,0002$). Это может быть обусловлено большей настороженностью родителей при появлении вторичных половых признаков у детей, в семьях которых половое развитие начиналось в декретированные сроки. Остальные параметры, такие как возраст дебюта и диагностики заболевания, так же как и лабораторно-инструментальные характеристики на момент первичного обследова-

дования статистически не отличались. Результаты, полученные в нашей работе, отчасти согласуются с результатами международных исследований. Во французском исследовании С. Harbulot и соавторов, включившем 319 девочек с гонадотропинзависимым ППР, возраст дебюта и основные клинико-лабораторные характеристики заболевания не отличались между группами, однако пациентки с семейной формой заболевания на момент диагностики заболевания были младше, чем девочки со спорадической формой (8,1 [7,5; 8,8] лет против 8,3 [7,7; 8,8] лет, соответственно, $p < 0,02$) [11]. Схожие результаты получены в работе Tinano и соавторов, где среди 154 девочек с семейным ППР, клинические и лабораторные характеристики, так же как возраст постановки диагноза не отличались между группами, при этом наименьший возраст телярхе был среди пациенток, унаследовавших заболевание по отцовской линии, когда в группах с материнским и неустановленным характером наследования отмечалась более поздняя манифестация (6,2 [5,6; 7,0] лет против 6,5 [6,0; 7,1] лет и 7,1 [6,1; 7,4] лет, $p = 0,029$) [10]. В исследовании Durand и соавторов, среди 119 девочек с семейной формой ППР, клинические проявления заболевания, включая возраст манифестации и постановки диагноза, были сопоставимы с таковыми при спорадической форме ППР, однако авторы сообщают о более высоких значениях стимулированных ЛГ и ФСГ у пациенток с наследственным генезом заболевания [131]. Таким образом, по совокупности имеющихся данных, пациенты с семейным характером ППР не имеют специфичных отличительных особенностей в сравнении с пациентами со спорадическими вариантами заболевания.

В нашей работе молекулярно-генетические дефекты были идентифицированы в четверти случаев (25,5%, 95%ДИ [18,0; 34,8]) и выявлены только у девочек, среди которых в подавляющем большинстве заболевание имело семейный характер (57,7%, 95%ДИ [38,9; 74,5]), реже – спорадический (42,3%, 95%ДИ [25,5; 61,1]).

Благодаря методу NGS в 25,3% случаев (у 24 из 95 девочек) обнаружены однонуклеотидные варианты в генах-кандидатах, регулирующих деятельность ГГГО и в ряде случаев взаимосвязанных с фенотипом ППР. Однако данный метод имеет ряд ограничений, одним из которых является отсутствие возможности достоверной диагностики крупных хромосомных перестроек, в частности, делеций. Так, диагностика дефекта 14 хромосомы у 2 пациенток нашей работы была проведена с помощью ХМА. Проведение полноэкзомного секвенирования в этих случаях, не позволило бы достоверно диагностировать протяженную делецию или выявить наличие однородительской дисомии. Однако применение в практике методов, позволяющих выявлять хромосомные аномалии и эпигенетические нарушения (ХМА, MLPA), наряду с методом NGS, позволило бы устанавливать причину заболевания в большем проценте случаев [84,85].

Среди идентифицированных однонуклеотидных вариантов, дефекты гена *MKRN3* составили почти половину случаев (53,8%, 95%ДИ [35,4; 71,2]), что соответствует данным литературы о высокой распространенности дефектов в данном гене у пациентов с центральным ППР [94,105]. Тем не менее, различные варианты в гене были идентифицированы лишь среди девочек, что отличается от последних зарубежных данных, свидетельствующих о преобладании мутаций *MKRN3* среди мальчиков [94,102], однако, учитывая ограниченное количество мальчиков в нашем исследовании, а также отсутствие идентифицированных вариантных замен в данной группе, достоверно проанализировать данный показатель не представилось возможным.

В общей сложности, по результатам нашего исследования, распространенность моногенных вариантов ППР вследствие мутаций в гене *MKRN3* в структуре идиопатического гонадотропинзависимого ППР среди всех детей составила 13,7% (95%ДИ [8,2; 21,9]), что несколько превосходит данные наиболее крупного объединенного исследования Valadares и соавторов, где данный показатель составил 9% [94]. Как и в большинстве популяционных ис-

следований, у наших пациенток носительство вариантных замен в *MKRN3* отмечалось преимущественно при семейных формах заболевания – 71,4%, значительно реже при спорадических – 28,6%, что подтверждает данные о высокой частоте дефектов в данном гене при наследственном характере ППР [66,89,91,92].

На сегодняшний день продемонстрировано, что основные клинико-лабораторные характеристики моногенных форм ППР не отличимы от таковых при генетически недетерминированных (идиопатических) формах заболевания, что отмечено и в нашей работе. Однако в нашей когорте, на момент первичного обследования девочки с моногенным характером ППР на уровне статистической тенденции имели большую прогрессию вторичных половых признаков и SDS роста ($p=0,0025$ и $p=0,0055$) в сравнении с группой контроля (генетически недетерминированные случаи ППР), что отличается от крупного мультиэтнического исследования Seraphim и соавторов 2021 года, где среди 71 пациента с дефектами в *MKRN3* у девочек с мутациями с отмечалась менее выраженная прогрессия полового развития на момент первичного обследования [96]. Поскольку в подавляющем большинстве наши пациентки имели семейный характер заболевания, становится актуальным повышать осведомленность членов семей о необходимости своевременного обследования. Кроме того, в работе Seraphim и соавторов, как и в нашем исследовании, проводился сравнительный анализ клинических характеристик в зависимости от типа идентифицированной вариантной замены: пациенты с «тяжелыми» мутациями имели большую прогрессию КВ и более высокие уровни ЛГ в сравнении с пациентами с «легкими» вариантными заменами, что отличается от полученных нами результатов. В российской когорте детей с ППР подобной взаимосвязи не обнаружено, статистически значимых различий между группами не выявлено.

Несмотря на то, что функциональные исследования в нашей работе не проводились, ранее не описанные идентифицированные варианты локализованы в СЗН и СЗНС4 областях маркорина (*MKRN3*), которые обладают РНК

связывающей и убиквитинлигазной активностью соответственно, определяя тем самым функциональную активность белка. Локализация дефектов в данных критических регуляторных областях позволяет предположить их непосредственную роль в нарушении функциональной активности белка и развитии фенотипа заболевания у наших пациенток, о чем частично свидетельствуют биоинформатические алгоритмы предсказания патогенности.

В настоящее время в связи с расширением возможностей молекулярной генетики в зарубежной литературе все чаще появляются работы о генах-кандидатах, ассоциированных с преждевременной активацией ГГГО в периоде детства, дефекты в которых способны приводить к нарушению формирования белка и описаны в ассоциации с ППР. В значительно меньшем количестве (38,5% случаев, 95%ДИ [22,4; 57,5]) в нашем исследовании удалось идентифицировать ранее не описанные варианты нуклеотидных последовательностей в других генах, ассоциированных с нейроонтогенезом и с нейроэндокринными механизмами регуляции ГГО.

Ген *MAP1B* (ген белка 1В ассоциированного с микротрубочками, NM_005909.5) картирован на длинном плече 15 хромосомы (5q13.2), характеризуется аутосомно-доминантным (АД) типом наследования. Ген относится к так называемым нейрон-специфичным энхансерам, которые имеют роль регуляторов в экспрессии различных генов, помимо этого *MAP1B* имеет значение для созревания синапсов, развитие дендритных шипов и аксонов, участвуя тем самым в онтогенезе гипоталамо-гипофизарной оси. Изменения эпигенетических модификаций, а также нарушения нуклеотидных последовательностей генов-энхансеров способны усиливать экспрессию генов дугообразного ядра гипоталамуса, где сосредоточено наибольшее количество ГнРГ-секретирующих нейронов, что опосредует их роль в генезе преждевременной активации ГГГО. Нонсенс вариант с.1456С>Т (р.Arg486Ter), приводящий к формированию стоп-кодона, идентифицирован у пациентки №10 с классическим симптомокомплексом ППР [132].

Ген *MAPK8IP3* (ген митоген-активированной протеинкиназы-8, NM_001318852.2) локализован на коротком плече 16 хромосомы (16p13), характеризуется АД типом наследования. Продуктом экспрессии гена является белок ЛРЗ, который участвует в эмбриогенезе таламуса и гиппокампа, участвует в аксональном транспорте. Гетерозиготные мутации в *MAPK8IP3* ассоциированы с нарушениями развития нервной системы. В 2019 году Iwasava с соавторами опубликовали серию клинических наблюдений, где среди 5 пациентов с гетерозиготными вариантами в *MAPK8IP3* у двоих диагностировано идиопатическое ППР. Помимо этого, в рамках фенотипа, ассоциированного с гетерозиготными вариантами в *MAPK8IP3*, описаны низкорослость и ожирение [133]. Миссенс вариант с.3830G>T (p.Gly1277Val) идентифицирован у одной из наших пациенток (№14), не имеющую патологии ЦНС. По совокупности данных, находка расценена как вариант неясной клинической значимости, однако учитывая влияние гена на процессы пренатальной дифференцировки ряда структур головного мозга, а также на биологические процессы в нервных клетках нельзя исключить его влияние и взаимодействие с нейропептидами, опосредующими деятельность ГнРГ — регулятора.

Ген *POU1F1* (гипофизарный специфический фактор транскрипции-1, NM_000306.4) локализован на коротком плече 3 хромосомы (3p11.2), характеризуясь как аутосомно-доминантным, так и аутосомно-рецессивном типом наследования. При АД типе наследования характерны доминантно-негативные мутации, которые изменяют свойства белков таким образом, что они оказывают повреждающее действие на жизнеспособность и функционирование экспрессирующих клеток. *POU1F1* – фактор транскрипции, необходимый для развития и гормональной экспрессии гипофиза (GH, TSH и PRL), тем не менее в исследованиях *in vivo* продемонстрировано, что *POU1F1*, взаимодействуя с другими транскрипционными факторами, оказывает влияние на регуляцию функции рецептора ГнРГ и контролирует селективную дифференцировку гонадотрофов, предотвращая избыточные уровни гонадотропинов [134,135]. В

2018 г. Firdevs Bas и соавт. опубликовали результаты собственных наблюдений за пациентами с комбинированным дефицитом тропных гормонов в сочетании с гонадотропинзависимым преждевременным половым созреванием [134]. Гетерозиготный миссенс вариант с.370A>G (p.Met124Val) идентифицирован у пациентки №11 с фенотипом ППП при отсутствии дефицита тропных гормонов. По совокупности данных, дефект гена расценен как вариант неопределенной клинической значимости.

Ген *GPR12* (G-белок ассоциированный рецептор-12, NM_005288.4) картирован на длинном плече 13 хромосомы (13q12.13), имеет АД тип наследования. Относится к семейству G-белок связанных рецепторов, которые регулируют внутриклеточную передачу сигнала. В *in vivo* исследованиях было показано, что *GPR12* экспрессируется в гипофизе, ядрах гипоталамуса, коре головного мозга, а также в гонадах и поджелудочной железе. Экспрессируясь в ядрах гипоталамуса *GPR12* регулирует секрецию нейропептидов (глутамат, ацетилхолин, вещество P), участвуя тем самым в деятельности ГнРГ- «генератора». Гетерозиготные варианты описаны у пациентов с ожирением и дислипидемией [136]. Тем не менее, роль данного гена в функционировании ГнРГ-секретирующих клеток, не позволяет исключить его роль в патогенезе преждевременной активации ГГГО. Миссенс замена с.166A>G (p.Thr56Ala) неопределенной клинической значимости идентифицирована у пациентки №16 с ППП, избыточной массой тела и дислипидемией.

Ген *NR3C1* (ген глюкокортикоидной резистентности, NM_001018077.1) локализован на длинном плече 5 хромосомы (5q31.3), характеризуется АД типом наследования. Для гена глюкокортикоидной резистентности характерна чрезвычайная вариабельность клинических проявлений в зависимости от степени чувствительности тканей, тем не менее у детей описано изосексуальное ППП [137]. Миссенс вариант неопределенной клинической значимости с.862A>T (p.Thr288Ser) обнаружен у пациентки №17 с ППП без сочетанных клинических проявлений в процессе динамического наблюдения.

Ген *NPFF1R* (ген рецептора нейропептида FF-1, NM_022146.5) локализован на длинном плече 10 хромосомы (10q22.1) и относится к группе G-белок, связанных рецепторов. Продуктом экспрессии гена является нейропептидный рецептор FF – рецептор ГнРГ-секретирующих нейронов. Является звеном гипоталамо-гипофизарной регуляции полового созревания путем взаимодействия с гипоталамическими нейропептидами RFPF (RFPF/ NPFF1R сигнальный путь). В исследованиях *in vivo* продемонстрировано, что RFPF нейропептиды взаимодействуя со своими рецепторами NPFF1R ингибируют активность ГнРГ-секретирующих нейронов, а абerrации в гене *NPFF1R* ассоциированы с гонадотропинзависимым ППР [138,139]. Вероятно-патогенный миссенс вариант с.452A>T (p.Gly151Val) обнаружен у пациентки №12. Аналогичная мутация была идентифицирована у матери пациентки, половое развитие которой наступило в декретированные сроки. Тем не менее, у двоюродной тети по линии матери было диагностировано ППР с манифестацией менархе в возрасте 8 лет (образцы крови были недоступны для проведения генетического анализа), что может говорить о неполной пенетрантности гена *NPFF1R*.

Ген *HERC2* (HECT и RCC-1 подобный домен, NM_004667.6) картирован на длинном плече 15 хромосомы (15q13.1). Обладает функцией убиквитинлигазы, вызывая деградацию белков-мишеней. Помимо этого, является звеном Notch-сигнального пути, где имеет роль отрицательного регулятора за счет дис-ингибирования компонентов. На сегодняшний день известно, что NOTCH-сигнальный путь препятствует дифференцировке нейронов гипоталамуса и гонадотрофов гипофиза, а потеря его ингибирующей роли способствует преждевременной активации последних и развитию фенотипа ППР [140]. Фреймшифт вариант неопределенной клинической значимости с.2797_2798del (p.Leu939SerFsTer8) идентифицирован у пациентки №18.

Ген *MYT1L* (миелиновый фактор транскрипции, NM_001303052.2) локализован на коротком плече 2 хромосомы (2p25.3), в процессе эмбрионального развития максимально экспрессируется в дифференцирующихся нейронах ЦНС. В исследованиях на животных моделях было обнаружено, что

MYT1L способствует нейрональной дифференцировке клеток-предшественников путем ингибирования NOTCH-пути и способствует развитию и функциональной активности нейроэндокринной преоптической области (функциональный эквивалент паравентрикулярного ядра у человека, где сосредоточено наибольшее количество ГнРГ-секретирующих нейронов). Аберрации в гене *MYT1L* могут способствовать преждевременной активации ГнРГ-секретирующих нейронов [141]. Миссент вариант неопределенной клинической значимости с.2311G>C (p.Gly771Arg) идентифицирован у пациентки №13.

Ген *TSC2* (ген субъединицы 2 комплекса туберозного склероза, NM_000548.5) локализован на коротком плече 16 хромосомы (16p13). Продукт экспрессии гена – белок туберин, является супрессором метастазирования и регулятором клеточной пролиферации. Мутации в гене *TSC2* описаны при туберозном склерозе – мультисистемное заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, характеризующееся ростом множественных доброкачественных образований и в ряде случаев развитием эндокринных нарушений (новообразования в эндокринных органах, дисфункция гипоталамуса, пролиферация гормонпродуцирующих клеток). ППП может быть сопутствующим компонентом синдрома, в том числе при гипоталамической дисфункции [3,142–144]. Миссенс вариант неопределенной клинической значимости с.2932C>T (p.Arg978Cys) идентифицирован у пациентки №20 со спорадической формой идиопатического ППП. При обследовании родителей идентичный вариант обнаружен у клинически здоровой матери пациентки, что исключает данную находку как причину заболевания. Тем не менее, нельзя исключить вклад гена в регуляцию работы ГГГО, полученные данные представляют интерес для изучения патогенетических особенностей заболевания и требуют дальнейшего изучения.

Ген *KISS1R* (ген рецептора кисспептина, NM_032551.5) имеет АД характер наследования и является редкой моногенной причиной гонадотропинзависимого ППП. В нашей работе миссенс вариант неопределенной клинической

значимости с.220C>G (p.Arg74Gly) идентифицирован у пациентки №19, с ранним возрастом манифестации и быстро прогрессирующим характером заболевания. Аберрации в *KISS1R* являются крайне редкими среди пациентов с ППР, и на сегодняшний день частота встречаемости данных вариантных замен не определена. Тем не менее, нельзя исключить, что идентифицированный нами вариант способен влиять на эффективность и скорость трансляции, изменяя функцию белка и снижая тем самым степень десенсibilизации дефектного рецептора после связывания со своим лигандом – кистепептином, что в свою очередь может усиливать эффект кистепептина на секрецию ГнРГ.

Идентифицированные в нашей работе замены не описаны ранее, однако согласно биоинформатическим алгоритмам предсказания патогенности в 22,2% случаев варианты имеют патогенный характер, в 33,3% – вероятно-патогенный, в 44,4% – нейтральный. По совокупности полученных данных все варианты расценены как варианты с неопределенной клинической значимостью. Тем не менее, данные находки ассоциированы с нейроэндокринными механизмами деятельности ГГГО, что гипотетически может объяснить их роль в развитии фенотипа заболевания и определяет актуальность дальнейших исследований *in vivo* и *in vitro* для определения их роли в молекулярных механизмах развития ППР. На текущее время отсутствие функциональных исследований в нашей работе не позволяет окончательно расценивать данные изменения в качестве причин заболевания, даже в случаях соответствия фенотипической картины генотипу.

На последнем этапе нашей работы небольшой когорте девочек с ППР проводилась терапия препаратами Трипторелина в дозе 11,25 мг с кратностью инъекций 1 раз в 90 дней вместо наиболее широко применяемой терапии 3,75 мг трипторелина в виде ежемесячных инъекций. В настоящий момент с целью лечения центрального ППР возможно применение обоих режимов терапии, однако, учитывая ограниченное количество исследований по сравнительному анализу их эффективности в российской когорте детей, преимущества выбора того или иного режима введения препарата остаются дискуссионными. В

наиболее крупном сравнительном исследовании Chung L.Y. и соавторов, за 12-месячный период динамического наблюдения, в группах пациенток, получавших 11,25 мг трипторелина (n=50), клинические и лабораторные параметры компенсации были сопоставимы с группой пациенток, получавших 3,75 мг трипторелина (n=56). В нашем исследовании на уровне статистической тенденции в группе девочек, получавших ежеквартальные инъекции, отмечалось более выраженное снижение скорости роста (5,0 [4,5; 6,0] см/год против 3,0 [1,5; 4,0] см/год, $p=0,008$) и SDS скорости роста (5,1 [3,9; 6,2] SD/год против 1,8 [0,9; 3,6] SD/год, $p=0,003$) в сравнении с девочками, получавших стандартные ежемесячные инъекции. На фоне стагнации костного созревания замедление темпов роста может ухудшить достижение конечного прогнозируемого роста. Однако долгосрочная оценка эффективности лечения нами не проводилась, а скорость роста через 12 месяцев лечения в обеих группах была в пределах средних по возрасту (5,0 [3,1; 6,5] см/год против 7,0 [4,7; 8,8] см/год, $p=0,019$ при пороговом p -value после применения поправки Бонферрони 0,005), без выраженного замедления на фоне терапии. Тем не менее, во избежание клинически значимого замедления темпов роста на фоне стагнации костного созревания, пациентам, получающим терапию 11,25 мг трипторелина 1/90 дней, следует рассмотреть более частый мониторинг (не реже 1 раза в 3 месяца) антропометрических параметров.

Так же, как и в исследованиях Chung L.Y. и соавт. и Лагно О.В. и соавт., при оценке лабораторной эффективности лечения, достичь полной биохимической компенсации удалось не всем пациенткам. Тем не менее, у всех детей отмечался удовлетворительный клинический ответ (отсутствие прогрессии вторичных половых признаков, снижение скорости роста и отсутствие прогрессии костного созревания), что позволяет признать оба режима терапии эффективными. Поскольку инъекции 11,25 мг трипторелина проводятся реже, данный режим терапии может способствовать улучшению приверженности к терапии и тем самым добиться лучших терапевтических результатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам анализа данных 102 детей с идиопатическим гонадотропинзависимым ППР установлено, что в российской когорте детей семейные формы заболевания встречаются почти в половине случаев. Анализ семейных вариантов ППР продемонстрировал, что наследование заболевания по материнской линии встречается так же часто, как и при отцовской. Было установлено, что пациентки с спорадической формой ППР на момент диагностики заболевания были младше, чем пациентки с семейной формой, что вероятнее обусловлено большей настороженностью родителей, половое развитие которых наступало в декретированные сроки.

Несмотря на то, что для семейных форм заболевания предполагается аутомно-доминантный характер наследования, установить молекулярно-генетическую основу заболевания и подтвердить моногенный характер наследования удается не всегда. Так в исследуемой нами выборке, методом массового параллельного секвенирования NGS, различные молекулярно-генетические дефекты, ассоциированные с нейроонтогенезом и с нейроэндокринными механизмами регуляции работы ГГГО, были идентифицированы только среди девочек. При этом среди выявленных вариантных замен в 53,8% случаев (95%ДИ [35,4; 71,2]) идентифицированы гетерозиготные варианты в гене *MKRN3*. Идентификация ранее не описанных вариантов неопределенной клинической значимости определяет актуальность дальнейших исследований для определения их роли в патогенезе преждевременной активации ГГГО.

У двух пациенток благодаря применению ХМА удалось диагностировать синдром Темпл, частота встречаемости которого на сегодняшний день не установлена. Выбор данного метода исследования был сделан на основании сочетания гонадотропинзависимого ППР, избыточной массы тела, наличия специфических фенотипических особенностей и данных анамнеза, что позволило предположить о наличии у пациенток нарушения механизма геномного импринтинга.

Вне зависимости от генетической этиологии клиническая картина ППР характеризуется этапным развитием вторичных половых признаков с ускорением темпов роста и костного созревания. В нашей выборке пациенток с мутациями в гене *MKRN3* выявлена тенденция к большей прогрессии полового развития по шкале Таннер и большее ускорение роста на момент первичного обследования в сравнении с пациентками с отрицательным результатом генетического анализа. Тем не менее, статистически значимых различий в фенотипе заболевания среди детей с генетически детерминированными формами ППР не выявлено.

Детальный сбор семейного анамнеза с определением характера наследования заболевания, так же как анализ фенотипических особенностей позволят улучшить эффективность молекулярно-генетического анализа и упростить диагностику наследственных форм заболевания. Знание генетической этиологии гонадотропинзависимого ППР вносит не только научный вклад в понимание фундаментальных патогенетических механизмов заболевания, но и является неотъемлемой частью медико-генетического консультирования семей, необходимого для персонализированного плана наблюдения и своевременного назначения терапии.

Своевременное медикаментозное лечение ППР необходимо для избежания психосоциальной дезадаптации и улучшения конечного роста детей. «Золотым стандартом» терапии является назначения пролонгированных аналогов ГнРГ в виде ежемесячных (3,75 мг) или ежеквартальных (11,25 мг) инъекций. Нами была обнаружена тенденция к более выраженному снижению скорости роста и SDS скорости роста при терапии ежеквартальными инъекциями на фоне стагнации КВ, что определяет необходимость дальнейших долгосрочных исследований на большей выборке детей для определения влияния терапии на конечный ростовой прогноз. Тем не менее, оба режима терапии продемонстрировали свою эффективность и безопасность в достижении цели лечения, поэтому выбор ежеквартальных инъекций может повысить приверженность к лечению и добиться лучших терапевтических результатов.

Ограничения исследования

Исследование имеет несколько ограничений. Отсутствие функциональных исследований, а также анализа наследования варианта для установления его косегрегации с болезнью для вариантов с неизвестной клинической значимостью как в ассоциированных, так и в не ассоциированных с гонадотропин-зависимым ППР генах, на текущий момент не позволяет окончательно расценивать данные изменения в качестве молекулярно-генетических причин заболевания, даже в случаях соответствия фенотипической картины генотипу.

Ограничениями фрагмента исследования, посвященного анализу фенотипической и генотипической ассоциации среди моногенных вариантов ППР вследствие мутаций в гене *MKRN3*, является небольшой объем изучаемой группы. Малый объем группы мальчиков, включенных в исследование, также ограничивает анализ молекулярно-генетических и клинических характеристик в данной группе.

Второй этап исследования, посвященный сравнительной эффективности разных режимов терапии препаратами трипторелина, также имеет ограничения, связанные с небольшим объемом группы девочек, получавших ежеквартальные инъекции. Долгосрочная оценка эффективности терапии 11,25 мг трипторелина не проводилась.

Таким образом, актуально проведение дальнейших исследований, посвященных анализу молекулярно-генетических и клинических характеристик гонадотропинзависимого ППР с участием большего количества пациентов, а также сравнение эффективности и отдаленных результатов различных режимов терапии ППР на большей выборке детей.

ВЫВОДЫ

1. Семейные варианты гонадотропинзависимого ППР встречаются в 49,0% случаев (95%ДИ [39,5; 58,6]), среди которых в 30% случаев (95%ДИ [19,0; 42,8]) обнаружены вариантные замены в генах, ассоциированных с регуляцией работы гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси и фенотипом ППР. При спорадических вариантах ППР генетические дефекты выявлены в 21,1% случаев (95%ДИ [12,0; 34,2]).

2. Среди идентифицированных дефектов в генах-кандидатах преобладали варианты в гене *MKRN3* – 53,8% случаев (95%ДИ [35,4; 71,2]), редкие однонуклеотидные варианты в генах-кандидатах, ассоциированных с нейроонтогенезом (*MAP1B*, *POU1F1*, *NPFFR1*, *KISS1R*, *MYT1L*, *MAPK8IP3*, *GPR12*, *NR3C1*, *HERC2*, *TSC2*) составили 38,5% случаев (95%ДИ [22,4; 57,5]), в 7,7% случаев (95%ДИ [1,02; 25,1]) выявлены делеции участка 14 хромосомы (синдром Темпл).

3. Различий в фенотипах у детей с моногенной и генетически недетерминированной формой ППР не выявлено. При спорадической форме ППР отмечается более ранняя диагностика заболевания в сравнении с семейной формой (6,7 [6,0; 7,1] лет против 7,4 [6,9; 7,8] лет).

4. Терапия пролонгированными аналогами ГнРГ в дозе 11,25 мг ежеквартально обладает сопоставимой клинической эффективностью и безопасностью в сравнении со стандартным введением 3,75 мг ежемесячно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с семейной формой преждевременного полового развития целесообразно проведение молекулярно-генетического исследования. Идентификация генетической основы позволит осуществлять медико-генетическое консультирование семей, выделять группы риска по развитию ППР, персонафицировать план наблюдения и своевременно инициировать патогенетическую терапию.

2. У детей с гонадотропинзависимым преждевременным половым развитием, маловесностью к сроку гестации и мышечной гипотонией на первом году жизни в сочетании с прадероподобными фенотипическими особенностями (избыточная масса тела и/или ожирение, акромикрия, микрогнатия, клинодактилия) целесообразно исключить аномалии 14 хромосомы методами ХМА или МЛРА.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД – аутосомно-доминантный

АР – аутосомно-рецессивный

ГнРГ – гонадотропин-рилизинг гормон

ГГГО – гипоталамо-гипофизарно-гонадная ось

ДИ – доверительный интервал

КВ – костный возраст

ЛГ – лютеинизирующий гормон

ППР – преждевременное половое развитие

рГР – рекомбинантный гормон роста

СПВ – синдром Прадера-Вилли

СТ – синдром Темпл

СТГ – соматотропный гормон

ССР – синдром Сильвера-Рассела

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ХМА – хромосомный микроматричный анализ

ЦНС – центральная нервная система

GWAS – genome-wide association studies, исследования полногеномных ассоциаций

MLPA – multiplex ligation-dependent probe amplification, метилирование-специфичная мультиплексная лигазозависимая амплификация

SDS – число стандартных отклонений от среднего

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Partsch CJ, Sippell WG. Pathogenesis and epidemiology of precocious puberty. Effects of exogenous oestrogens. *Hum Reprod Update* 2001;7:292–302. <https://doi.org/10.1093/humupd/7.3.292>.
- [2] Cheuiche AV, da Silveira LG, de Paula LCP, Lucena IRS, Silveiro SP. Diagnosis and management of precocious sexual maturation: an updated review. *Eur J Pediatr* 2021;180:3073–87. <https://doi.org/10.1007/s00431-021-04022-1>.
- [3] Maione L, Bouvattier C, Kaiser UB. Central precocious puberty: Recent advances in understanding the aetiology and in the clinical approach. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2021;95:542–55. <https://doi.org/10.1111/cen.14475>.
- [4] Дедов, И.И., Петеркова ВА. Руководство по детской эндокринологии. России: Универсум Паблишинг; 2006.
- [5] Болмасова АВ, Карева МА. Современные методы диагностики и лечения гонадотропинзависимых форм преждевременного полового развития. *Репродуктивное Здоровье Детей И Подростков* 2011;1:74–81.
- [6] Palmert MR, Boepple PA. Variation in the timing of puberty: clinical spectrum and genetic investigation. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:2364–8. <https://doi.org/10.1210/jcem.86.6.7603>.
- [7] Palmert MR, Hirschhorn JN. Genetic approaches to stature, pubertal timing, and other complex traits. *Mol Genet Metab* 2003;80:1–10. [https://doi.org/10.1016/s1096-7192\(03\)00107-0](https://doi.org/10.1016/s1096-7192(03)00107-0).
- [8] Roberts SA, Kaiser UB. GENETICS IN ENDOCRINOLOGY: Genetic etiologies of central precocious puberty and the role of imprinted genes. *Eur J Endocrinol* 2020;183:R107–17. <https://doi.org/10.1530/EJE-20-0103>.
- [9] de Vries L, Kauschansky A, Shohat M, Phillip M. Familial central precocious puberty suggests autosomal dominant inheritance. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:1794–800. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030361>.
- [10] Tinano FR, Canton APM, Montenegro LR, de Castro Leal A, Faria AG, Seraphim CE, et al. Clinical and genetic characterization of familial central precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2023;dgac763. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgac763>.
- [11] Harbulot C, Lessim S, Simon D, Martinerie L, Storey C, Ecosse E, et al. Prevalence and clinical characteristics of isolated forms of central precocious puberty: a cohort study at a single academic center. *Eur J Endocrinol* 2021;184:243–51. <https://doi.org/10.1530/EJE-20-0862>.
- [12] Shim YS, Lee HS, Hwang JS. Genetic factors in precocious puberty. *Clin Exp Pediatr* 2022;65:172–81. <https://doi.org/10.3345/cep.2021.00521>.

- [13] Tajima T. Genetic causes of central precocious puberty. *Clin Pediatr Endocrinol Case Rep Clin Investig Off J Jpn Soc Pediatr Endocrinol* 2022;31:101–9. <https://doi.org/10.1297/cpe.2022-0021>.
- [14] Зубкова НА, Колодкина АА, Макрецкая НА, Огороков ПЛ, Погода ТВ, Васильев ЕВ, et al. Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика 3 семейных случаев гонадотропинзависимого преждевременного полового развития, обусловленного мутациями в гене MKRN3. *Проблемы Эндокринологии* 2021;67:55–61. <https://doi.org/10.14341/probl12745-9945>.
- [15] Partsch C-J, Heger S, Sippell WG. Management and outcome of central precocious puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002;56:129–48. <https://doi.org/10.1046/j.0300-0664.2001.01490.x>.
- [16] Brito VN, Latronico AC, Arnhold IJP, Mendonça BB. Update on the etiology, diagnosis and therapeutic management of sexual precocity. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2008;52:18–31. <https://doi.org/10.1590/s0004-27302008000100005>.
- [17] Kakarla N, Bradshaw KD. Disorders of pubertal development: precocious puberty. *Semin Reprod Med* 2003;21:339–51. <https://doi.org/10.1055/s-2004-815590>.
- [18] Kim YJ, Kwon A, Jung MK, Kim KE, Suh J, Chae HW, et al. Incidence and Prevalence of Central Precocious Puberty in Korea: An Epidemiologic Study Based on a National Database. *J Pediatr* 2019;208:221–8. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2018.12.022>.
- [19] Brito LC, Rey RA. Taming idiopathic central precocious puberty: high frequency of imprinting disorders in familial forms. *J Clin Endocrinol Metab* 2023:dgad091. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgad091>.
- [20] Лозовая ЮВ. Соматотропная функция гипофиза у детей с различными формами преждевременного полового развития. Российская академия медицинских наук Эндокринологический научный центр, 1997.
- [21] Spaziani M, Tarantino C, Tahani N, Gianfrilli D, Sbardella E, Lenzi A, et al. Hypothalamo-Pituitary axis and puberty. *Mol Cell Endocrinol* 2021;520:111094. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.111094>.
- [22] Parent A-S, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J, Bourguignon J-P. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocr Rev* 2003;24:668–93. <https://doi.org/10.1210/er.2002-0019>.
- [23] Parent A-S, Rasier G, Gerard A, Heger S, Roth C, Mastronardi C, et al. Early onset of puberty: tracking genetic and environmental factors. *Horm Res* 2005;64 Suppl 2:41–7. <https://doi.org/10.1159/000087753>.

- [24] Abreu AP, Kaiser UB. Pubertal development and regulation. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2016;4:254–64. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(15\)00418-0](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(15)00418-0).
- [25] Macedo DB, Silveira LFG, Bessa DS, Brito VN, Latronico AC. Sexual Precocity--Genetic Bases of Central Precocious Puberty and Autonomous Gonadal Activation. *Endocr Dev* 2016;29:50–71. <https://doi.org/10.1159/000438874>.
- [26] Zevin EL, Eugster EA. Central precocious puberty: a review of diagnosis, treatment, and outcomes. *Lancet Child Adolesc Health* 2023;7:886–96. [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(23\)00237-7](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(23)00237-7).
- [27] Hopwood NJ, Kelch RP, Helder LJ. Familial precocious puberty in a brother and sister. *Am J Dis Child* 1960 1981;135:78–9. <https://doi.org/10.1001/archpedi.1981.02130250064020>.
- [28] Aguirre RS, Eugster EA. Central precocious puberty: From genetics to treatment. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2018;32:343–54. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2018.05.008>.
- [29] Moise-Silverman J, Silverman LA. A review of the genetics and epigenetics of central precocious puberty. *Front Endocrinol* 2022;13:1029137. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1029137>.
- [30] Goodman RL, Lehman MN, Smith JT, Coolen LM, de Oliveira CVR, Jafarzadehshirazi MR, et al. Kisspeptin neurons in the arcuate nucleus of the ewe express both dynorphin A and neurokinin B. *Endocrinology* 2007;148:5752–60. <https://doi.org/10.1210/en.2007-0961>.
- [31] Skorupskaite K, George JT, Anderson RA. The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. *Hum Reprod Update* 2014;20:485–500. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmu009>.
- [32] Gottsch ML, Cunningham MJ, Smith JT, Popa SM, Acohido BV, Crowley WF, et al. A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology* 2004;145:4073–7. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0431>.
- [33] Shahab M, Mastronardi C, Seminara SB, Crowley WF, Ojeda SR, Plant TM. Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:2129–34. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409822102>.
- [34] Hrabovszky E, Ciofi P, Vida B, Horvath MC, Keller E, Caraty A, et al. The kisspeptin system of the human hypothalamus: sexual dimorphism and relationship with gonadotropin-releasing hormone and neurokinin B neurons. *Eur J Neurosci* 2010;31:1984–98. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07239.x>.
- [35] Xie Q, Kang Y, Zhang C, Xie Y, Wang C, Liu J, et al. The Role of Kisspeptin in the Control of the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis and Reproduction. *Front Endocrinol*

2022;13:925206. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.925206>.

[36] Smith JT, Dungan HM, Stoll EA, Gottsch ML, Braun RE, Eacker SM, et al. Differential regulation of KiSS-1 mRNA expression by sex steroids in the brain of the male mouse. *Endocrinology* 2005;146:2976–84. <https://doi.org/10.1210/en.2005-0323>.

[37] Pielecka-Fortuna J, Chu Z, Moenter SM. Kisspeptin acts directly and indirectly to increase gonadotropin-releasing hormone neuron activity and its effects are modulated by estradiol. *Endocrinology* 2008;149:1979–86. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1365>.

[38] Sivalingam M, Parhar IS. Hypothalamic kisspeptin and kisspeptin receptors: Species variation in reproduction and reproductive behaviours. *Front Neuroendocrinol* 2022;64:100951. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2021.100951>.

[39] Han S-K, Gottsch ML, Lee KJ, Popa SM, Smith JT, Jakawich SK, et al. Activation of gonadotropin-releasing hormone neurons by kisspeptin as a neuroendocrine switch for the onset of puberty. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 2005;25:11349–56. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3328-05.2005>.

[40] Plant TM, Ramaswamy S, Dipietro MJ. Repetitive activation of hypothalamic G protein-coupled receptor 54 with intravenous pulses of kisspeptin in the juvenile monkey (*Macaca mulatta*) elicits a sustained train of gonadotropin-releasing hormone discharges. *Endocrinology* 2006;147:1007–13. <https://doi.org/10.1210/en.2005-1261>.

[41] Navarro VM, Castellano JM, García-Galiano D, Tena-Sempere M. Neuroendocrine factors in the initiation of puberty: the emergent role of kisspeptin. *Rev Endocr Metab Disord* 2007;8:11–20. <https://doi.org/10.1007/s11154-007-9028-2>.

[42] Smith JT, Dungan HM, Stoll EA, Gottsch ML, Braun RE, Eacker SM, et al. Differential regulation of KiSS-1 mRNA expression by sex steroids in the brain of the male mouse. *Endocrinology* 2005;146:2976–84. <https://doi.org/10.1210/en.2005-0323>.

[43] Cottrell EC, Campbell RE, Han S-K, Herbison AE. Postnatal remodeling of dendritic structure and spine density in gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology* 2006;147:3652–61. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0296>.

[44] Tobet SA, Bless EP, Schwarting GA. Developmental aspect of the gonadotropin-releasing hormone system. *Mol Cell Endocrinol* 2001;185:173–84. [https://doi.org/10.1016/s0303-7207\(01\)00616-5](https://doi.org/10.1016/s0303-7207(01)00616-5).

[45] Clarkson J, Boon WC, Simpson ER, Herbison AE. Postnatal development of an estradiol-kisspeptin positive feedback mechanism implicated in puberty onset. *Endocrinology* 2009;150:3214–20. <https://doi.org/10.1210/en.2008-1733>.

[46] Clarkson J. Effects of estradiol on kisspeptin neurons during puberty. *Front Neuroendocrinol* 2013;34:120–31. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2013.02.002>.

- [47] Панков, Ю. А. Кисспептин и лептин в регуляции фертильности. Молекулярная Биология 2015;49:707. <https://doi.org/10.7868/S0026898415050134>.
- [48] Ярмолинская, М.И., Ганбарли, Н.Ф., Айламазян, Э.К. Значение кисспептина в регуляции функции репродуктивной системы. Журнал Акушерства И Женских Болезней 2016;6:4–18. <https://doi.org/10.17816/JOWD6564-18>.
- [49] Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1731–7. <https://doi.org/10.1093/jnci/88.23.1731>.
- [50] Kinoshita M, Tsukamura H, Adachi S, Matsui H, Uenoyama Y, Iwata K, et al. Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory luteinizing hormone surge and estrous cyclicity in female rats. *Endocrinology* 2005;146:4431–6. <https://doi.org/10.1210/en.2005-0195>.
- [51] AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1 - PubMed n.d. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11387329/> (accessed December 29, 2023).
- [52] Liu X, Lee K, Herbison AE. Kisspeptin excites gonadotropin-releasing hormone neurons through a phospholipase C/calcium-dependent pathway regulating multiple ion channels. *Endocrinology* 2008;149:4605–14. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0321>.
- [53] Kisspeptin-10 facilitates a plasma membrane-driven calcium oscillator in gonadotropin-releasing hormone-1 neurons - PubMed n.d. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18948403/> (accessed December 29, 2023).
- [54] Teles MG, Bianco SDC, Brito VN, Trarbach EB, Kuohung W, Xu S, et al. A GPR54-activating mutation in a patient with central precocious puberty. *N Engl J Med* 2008;358:709–15. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa073443>.
- [55] Bianco SDC, Vandepas L, Correa-Medina M, Gereben B, Mukherjee A, Kuohung W, et al. KISS1R intracellular trafficking and degradation: effect of the Arg386Pro disease-associated mutation. *Endocrinology* 2011;152:1616–26. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0903>.
- [56] Luan X, Zhou Y, Wang W, Yu H, Li P, Gan X, et al. Association study of the polymorphisms in the KISS1 gene with central precocious puberty in Chinese girls. *Eur J Endocrinol* 2007;157:113–8. <https://doi.org/10.1530/EJE-07-0061>.
- [57] Oh YJ, Rhie YJ, Nam HK, Kim HR, Lee KH. Genetic Variations of the KISS1R Gene in Korean Girls with Central Precocious Puberty. *J Korean Med Sci* 2017;32:108–14. <https://doi.org/10.3346/jkms.2017.32.1.108>.
- [58] Ghaemi N, Ghahraman M, Noroozi Asl S, Vakili R, Fardi Golyan F, Moghbeli M, et al. Novel DNA variation of GPR54 gene in familial central precocious puberty. *Ital J Pediatr*

2019;45:10. <https://doi.org/10.1186/s13052-019-0601-6>.

[59] Mazaheri A, Hashemipour M, Salehi M, Behnam M, Hovsepian S, Hassanzadeh A. Mutation of kisspeptin 1 gene in children with precocious puberty in isfahan city. *Int J Prev Med* 2015;6:41. <https://doi.org/10.4103/2008-7802.156839>.

[60] Pagani S, Calcaterra V, Acquafredda G, Montalbano C, Bozzola E, Ferrara P, et al. MKRN3 and KISS1R mutations in precocious and early puberty. *Ital J Pediatr* 2020;46:39. <https://doi.org/10.1186/s13052-020-0808-6>.

[61] Clarkson J, Herbison AE. Postnatal development of kisspeptin neurons in mouse hypothalamus; sexual dimorphism and projections to gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology* 2006;147:5817–25. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0787>.

[62] Silveira LG, Noel SD, Silveira-Neto AP, Abreu AP, Brito VN, Santos MG, et al. Mutations of the KISS1 gene in disorders of puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:2276–80. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-2421>.

[63] Dauber A, Cunha-Silva M, Macedo DB, Brito VN, Abreu AP, Roberts SA, et al. Paternally Inherited DLK1 Deletion Associated With Familial Central Precocious Puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2017;102:1557–67. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-3677>.

[64] Gomes LG, Cunha-Silva M, Crespo RP, Ramos CO, Montenegro LR, Canton A, et al. DLK1 Is a Novel Link Between Reproduction and Metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2019;104:2112–20. <https://doi.org/10.1210/jc.2018-02010>.

[65] Lee HS, Kim KH, Hwang JS. Association study of DLK1 in girls with idiopathic central precocious puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM* 2020:/j/jpem.ahead-of-print/jpem-2020-0014/jpem-2020-0014.xml. <https://doi.org/10.1515/jpem-2020-0014>.

[66] Grandone A, Capristo C, Cirillo G, Sasso M, Umamo GR, Mariani M, et al. Molecular Screening of MKRN3, DLK1, and KCNK9 Genes in Girls with Idiopathic Central Precocious Puberty. *Horm Res Paediatr* 2017;88:194–200. <https://doi.org/10.1159/000477441>.

[67] Chen T, Chen L, Wu H, Xie R, Wang F, Chen X, et al. Low Frequency of MKRN3 and DLK1 Variants in Chinese Children with Central Precocious Puberty. *Int J Endocrinol* 2019;2019:9879367. <https://doi.org/10.1155/2019/9879367>.

[68] Montenegro L, Labarta JJ, Piovesan M, Canton APM, Corripio R, Soriano-Guillén L, et al. Novel Genetic and Biochemical Findings of DLK1 in Children with Central Precocious Puberty: A Brazilian-Spanish Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2020;105:dga461. <https://doi.org/10.1210/clinem/dga461>.

[69] Sauna ZE, Kimchi-Sarfaty C. Understanding the contribution of synonymous mutations to human disease. *Nat Rev Genet* 2011;12:683–91. <https://doi.org/10.1038/nrg3051>.

- [70] Elhamamsy AR. Role of DNA methylation in imprinting disorders: an updated review. *J Assist Reprod Genet* 2017;34:549–62. <https://doi.org/10.1007/s10815-017-0895-5>.
- [71] Arruga F, Vaisitti T, Deaglio S. The NOTCH Pathway and Its Mutations in Mature B Cell Malignancies. *Front Oncol* 2018;8:550. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00550>.
- [72] Falix FA, Aronson DC, Lamers WH, Gaemers IC. Possible roles of DLK1 in the Notch pathway during development and disease. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis* 2012;1822:988–95. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.02.003>.
- [73] Macedo DB, Kaiser UB. DLK1, Notch Signaling and the Timing of Puberty. *Semin Reprod Med* 2019;37:174–81. <https://doi.org/10.1055/s-0039-3400963>.
- [74] Villanueva C, Jacquier S, de Roux N. DLK1 is a somato-dendritic protein expressed in hypothalamic arginine-vasopressin and oxytocin neurons. *PloS One* 2012;7:e36134. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036134>.
- [75] Biehl MJ, Raetzman LT. Rbpj- κ mediated Notch signaling plays a critical role in development of hypothalamic Kisspeptin neurons. *Dev Biol* 2015;406:235–46. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2015.08.016>.
- [76] Sánchez-Solana B, Nueda ML, Ruvira MD, Ruiz-Hidalgo MJ, Monsalve EM, Rivero S, et al. The EGF-like proteins DLK1 and DLK2 function as inhibitory non-canonical ligands of NOTCH1 receptor that modulate each other's activities. *Biochim Biophys Acta* 2011;1813:1153–64. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.03.004>.
- [77] Lin Y, He Y, Sun W, Wang Y, Yu J. Recent advances on the relationship between the delta-like noncanonical Notch ligand 1 system and central precocious puberty†. *Biol Reprod* 2022;107:679–83. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioac106>.
- [78] Ioannides Y, Lokulo-Sodipe K, Mackay DJG, Davies JH, Temple IK. Temple syndrome: improving the recognition of an underdiagnosed chromosome 14 imprinting disorder: an analysis of 51 published cases. *J Med Genet* 2014;51:495–501. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2014-102396>.
- [79] Brightman DS, Lokulo-Sodipe O, Searle BA, Mackay DJG, Davies JH, Temple IK, et al. Growth Hormone Improves Short-Term Growth in Patients with Temple Syndrome. *Horm Res Paediatr* 2018;90:407–13. <https://doi.org/10.1159/000496700>.
- [80] Temple IK, Cockwell A, Hassold T, Pettay D, Jacobs P. Maternal uniparental disomy for chromosome 14. *J Med Genet* 1991;28:511–4. <https://doi.org/10.1136/jmg.28.8.511>.
- [81] Buiting K, Kanber D, Martín-Subero JI, Lieb W, Terhal P, Albrecht B, et al. Clinical features of maternal uniparental disomy 14 in patients with an epimutation and a deletion of the imprinted DLK1/GTL2 gene cluster. *Hum Mutat* 2008;29:1141–6. <https://doi.org/10.1002/humu.20771>.

- [82] Stalman SE, Kamp GA, Hendriks YMC, Hennekam RCM, Rotteveel J. Positive effect of growth hormone treatment in maternal uniparental disomy chromosome 14. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2015;83:671–6. <https://doi.org/10.1111/cen.12841>.
- [83] Kagami M, Nagasaki K, Kosaki R, Horikawa R, Naiki Y, Saitoh S, et al. Temple syndrome: comprehensive molecular and clinical findings in 32 Japanese patients. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet* 2017;19:1356–66. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.53>.
- [84] Lande A, Kroken M, Rabben K, Retterstøl L. Temple syndrome as a differential diagnosis to Prader-Willi syndrome: Identifying three new patients. *Am J Med Genet A* 2018;176:175–80. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38533>.
- [85] Juriaans AF, Kerkhof GF, Hokken-Koelega ACS. The Spectrum of the Prader-Willi-like Pheno- and Genotype: A Review of the Literature. *Endocr Rev* 2022;43:1–18. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnab026>.
- [86] Prasasya R, Grotheer KV, Siracusa LD, Bartolomei MS. Temple syndrome and Kagami-Ogata syndrome: clinical presentations, genotypes, models and mechanisms. *Hum Mol Genet* 2020;29:R107–16. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddaa133>.
- [87] Juriaans AF, Kerkhof GF, Mahabier EF, Sas TCJ, Zwaveling-Soonawala N, Touwslager RNH, et al. Temple Syndrome: Clinical Findings, Body Composition and Cognition in 15 Patients. *J Clin Med* 2022;11:6289. <https://doi.org/10.3390/jcm11216289>.
- [88] Canton APM, Krepischi ACV, Montenegro LR, Costa S, Rosenberg C, Steunou V, et al. Insights from the genetic characterization of central precocious puberty associated with multiple anomalies. *Hum Reprod Oxf Engl* 2021;36:506–18. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa306>.
- [89] Abreu AP, Dauber A, Macedo DB, Noel SD, Brito VN, Gill JC, et al. Central precocious puberty caused by mutations in the imprinted gene MKRN3. *N Engl J Med* 2013;368:2467–75. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1302160>.
- [90] Grandone A, Cirillo G, Sasso M, Capristo C, Tornese G, Marzuillo P, et al. MKRN3 levels in girls with central precocious puberty and correlation with sexual hormone levels: a pilot study. *Endocrine* 2018;59:203–8. <https://doi.org/10.1007/s12020-017-1281-x>.
- [91] Simon D, Ba I, Mekhail N, Ecosse E, Paulsen A, Zenaty D, et al. Mutations in the maternally imprinted gene MKRN3 are common in familial central precocious puberty. *Eur J Endocrinol* 2016;174:1–8. <https://doi.org/10.1530/EJE-15-0488>.
- [92] Macedo DB, Abreu AP, Reis ACS, Montenegro LR, Dauber A, Beneduzzi D, et al. Central precocious puberty that appears to be sporadic caused by paternally inherited mutations in the imprinted gene makorin ring finger 3. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:E1097-1103. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-3126>.
- [93] Palumbo S, Cirillo G, Aiello F, Papparella A, Miraglia del Giudice E, Grandone A.

MKRN3 role in regulating pubertal onset: the state of art of functional studies. *Front Endocrinol* 2022;13:991322. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.991322>.

[94] Valadares LP, Meireles CG, De Toledo IP, Santarem de Oliveira R, Gonçalves de Castro LC, Abreu AP, et al. MKRN3 Mutations in Central Precocious Puberty: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Endocr Soc* 2019;3:979–95. <https://doi.org/10.1210/js.2019-00041>.

[95] Mancini A, Magnotto JC, Abreu AP. Genetics of pubertal timing. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2022;36:101618. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2022.101618>.

[96] Seraphim CE, Canton APM, Montenegro L, Piovesan MR, Macedo DB, Cunha M, et al. Genotype-Phenotype Correlations in Central Precocious Puberty Caused by MKRN3 Mutations. *J Clin Endocrinol Metab* 2021;106:1041–50. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa955>.

[97] Ramos C de O, Macedo DB, Canton APM, Cunha-Silva M, Antonini SRR, Stecchini MF, et al. Outcomes of Patients with Central Precocious Puberty Due to Loss-of-Function Mutations in the MKRN3 Gene after Treatment with Gonadotropin-Releasing Hormone Analog. *Neuroendocrinology* 2020;110:705–13. <https://doi.org/10.1159/000504446>.

[98] Schreiner F, Gohlke B, Hamm M, Korsch E, Woelfle J. MKRN3 mutations in familial central precocious puberty. *Horm Res Paediatr* 2014;82:122–6. <https://doi.org/10.1159/000362815>.

[99] de Vries L, Gat-Yablonski G, Dror N, Singer A, Phillip M. A novel MKRN3 missense mutation causing familial precocious puberty. *Hum Reprod Oxf Engl* 2014;29:2838–43. <https://doi.org/10.1093/humrep/deu256>.

[100] Settas N, Dacou-Voutetakis C, Karantza M, Kanaka-Gantenbein C, Chrousos GP, Voutetakis A. Central precocious puberty in a girl and early puberty in her brother caused by a novel mutation in the MKRN3 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:E647–651. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-4084>.

[101] Dimitrova-Mladenova MS, Stefanova EM, Glushkova M, Todorova AP, Todorov T, Konstantinova MM, et al. Males with Paternally Inherited MKRN3 Mutations May Be Asymptomatic. *J Pediatr* 2016;179:263–5. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.08.065>.

[102] Bessa DS, Macedo DB, Brito VN, França MM, Montenegro LR, Cunha-Silva M, et al. High Frequency of MKRN3 Mutations in Male Central Precocious Puberty Previously Classified as Idiopathic. *Neuroendocrinology* 2016;105:17–25. <https://doi.org/10.1159/000446963>.

[103] Busch AS, Hagen CP, Almstrup K, Juul A. Circulating MKRN3 Levels Decline During Puberty in Healthy Boys. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101:2588–93. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-1488>.

[104] Jong MT, Gray TA, Ji Y, Glenn CC, Saitoh S, Driscoll DJ, et al. A novel imprinted gene, encoding a RING zinc-finger protein, and overlapping antisense transcript in the Prader-

Willi syndrome critical region. *Hum Mol Genet* 1999;8:783–93. <https://doi.org/10.1093/hmg/8.5.783>.

[105] Abreu AP, Macedo DB, Brito VN, Kaiser UB, Latronico AC. A new pathway in the control of the initiation of puberty: the MKRN3 gene. *J Mol Endocrinol* 2015;54:R131–9. <https://doi.org/10.1530/JME-14-0315>.

[106] Grandone A, Cirillo G, Sasso M, Capristo C, Tornese G, Marzuillo P, et al. MKRN3 levels in girls with central precocious puberty and correlation with sexual hormone levels: a pilot study. *Endocrine* 2018;59:203–8. <https://doi.org/10.1007/s12020-017-1281-x>.

[107] Hagen CP, Sørensen K, Mieritz MG, Johannsen TH, Almstrup K, Juul A. Circulating MKRN3 levels decline prior to pubertal onset and through puberty: a longitudinal study of healthy girls. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100:1920–6. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-4462>.

[108] Varimo T, Dunkel L, Vaaralahti K, Miettinen PJ, Hero M, Raivio T. Circulating makorin ring finger protein 3 levels decline in boys before the clinical onset of puberty. *Eur J Endocrinol* 2016;174:785–90. <https://doi.org/10.1530/EJE-15-1193>.

[109] Manotas MC, González DM, Céspedes C, Forero C, Rojas Moreno AP. Genetic and Epigenetic Control of Puberty. *Sex Dev* 2022;16:1–10. <https://doi.org/10.1159/000519039>.

[110] Neocleous V, Fanis P, Toumba M, Gorka B, Kousiappa I, Tanteles GA, et al. Pathogenic and Low-Frequency Variants in Children With Central Precocious Puberty. *Front Endocrinol* 2021;12:745048. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.745048>.

[111] Perry JR, Day F, Elks CE, Sulem P, Thompson DJ, Ferreira T, et al. Parent-of-origin specific allelic associations among 106 genomic loci for age at menarche. *Nature* 2014;514:92–7. <https://doi.org/10.1038/nature13545>.

[112] Zhu J, Kusa TO, Chan Y-M. Genetics of pubertal timing. *Curr Opin Pediatr* 2018;30:532–40. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000642>.

[113] Петеркова ВА, Алимова ИЛ, Башнина ЕБ, Безлепкина ОБ, Болотова НВ, Зубкова НА, et al. Клинические рекомендации «Преждевременное половое развитие». *Проблемы Эндокринологии* 2021;67:84–103. <https://doi.org/10.14341/probl12821-9983>.

[114] Преждевременное половое развитие: Клинические рекомендации/ В. А. Петеркова, О. Б. Безлепкина, М. А. Карева [и др.]; Российская ассоциация эндокринологов. – Москва: Российская ассоциация эндокринологов, Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2021. – 71 с. n.d.

[115] Болмасова АВ, Орлова ЕМ. Гонадотропинзависимое преждевременное половое развитие: диагностика и лечение. *ДокторПу* 2009;50:43–5.

[116] Bertelloni S, Mucaria C, Baroncelli GI, Peroni D. Triptorelin depot for the treatment of children 2 years and older with central precocious puberty. *Expert Rev Clin Pharmacol*

2018;11:659–67. <https://doi.org/10.1080/17512433.2018.1494569>.

[117] Болмасова АВ. Оптимизация ростового прогноза у детей с гонадотропинзависимыми формами преждевременного полового развития опухолевого и неопухолевого генеза. 2012.

[118] Canton APM, Seraphim CE, Brito VN, Latronico AC. Pioneering studies on monogenic central precocious puberty. *Arch Endocrinol Metab* 2019;63:438–44. <https://doi.org/10.20945/2359-3997000000164>.

[119] Grandone A, Cirillo G, Sasso M, Tornese G, Luongo C, Festa A, et al. MKRN3 Levels in Girls with Central Precocious Puberty during GnRHa Treatment: A Longitudinal Study. *Horm Res Paediatr* 2018;90:190–5. <https://doi.org/10.1159/000493134>.

[120] Bertelloni, S., Cassio, A., Arrigo, T., Wasniewska, M. Central precocious puberty: Short-term comparative data of treatment with monthly or long-acting three months depot triptorelin. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM* 2007:297–305.

[121] Bertelloni S, Massart F, Einaudi S, Wasniewska M, Miccoli M, Baroncelli GI. Central Precocious Puberty: Adult Height in Girls Treated with Quarterly or Monthly Gonadotropin-Releasing Hormone Analog Triptorelin. *Horm Res Paediatr* 2015;84:396–400. <https://doi.org/10.1159/000441497>.

[122] Chung LY, Kang E, Nam H-K, Rhie Y-J, Lee K-H. Efficacy of Triptorelin 3-Month Depot Compared to 1-Month Depot for the Treatment of Korean Girls with Central Precocious Puberty in Single Tertiary Center. *J Korean Med Sci* 2021;36:e219. <https://doi.org/10.3346/jkms.2021.36.e219>.

[123] Zenaty D, Blumberg J, Liyanage N, Jacqz-Aigrain E, Lahlou N, Carel J-C, et al. A 6-Month Trial of the Efficacy and Safety of Triptorelin Pamoate (11.25 mg) Every 3 Months in Children with Precocious Puberty: A Retrospective Comparison with Triptorelin Acetate. *Horm Res Paediatr* 2016;86:188–95. <https://doi.org/10.1159/000448840>.

[124] Fuld K, Chi C, Neely EK. A randomized trial of 1- and 3-month depot leuprolide doses in the treatment of central precocious puberty. *J Pediatr* 2011;159:982-987.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2011.05.036>.

[125] Durand A, Tauber M, Patel B, Dutailly P. Meta-Analysis of Paediatric Patients with Central Precocious Puberty Treated with Intramuscular Triptorelin 11.25 mg 3-Month Prolonged-Release Formulation. *Horm Res Paediatr* 2017;87:224–32. <https://doi.org/10.1159/000456545>.

[126] Лагно ОВ, Туркунова МЕ, Башнина ЕБ. Опыт лечения преждевременного полового созревания агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона длительного действия. *Педиатр* 2019;10:45–50.

[127] Дедов ИИ, Семичева ТВ, Петеркова ВА. Половое развитие детей: норма и патология. М: Колор Ит Студио; 2002.

[128] Giabicani E, Allali S, Durand A, Sommet J, Couto-Silva A-C, Brauner R. Presentation of 493 consecutive girls with idiopathic central precocious puberty: a single-center study. *PloS One* 2013;8:e70931. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070931>.

[129] Болмасова АВ, Карева МА, Орлова ЕМ. Особенности течения, диагностики и терапии детей с преждевременным половым развитием при гипоталамической гамартоме и идиопатической форме. *Проблемы Эндокринологии* 2012;58:17–22.

[130] Семичева ТВ. Преждевременное половое развитие (клинические, гормональные, молекулярно-генетические аспекты). Российская академия медицинских наук Эндокринологический научный центр, 1998.

[131] Durand A, Bashamboo A, McElreavey K, Brauner R. Familial early puberty: presentation and inheritance pattern in 139 families. *BMC Endocr Disord* 2016;16:50. <https://doi.org/10.1186/s12902-016-0130-x>.

[132] Integrative proteomic and phosphoproteomic analysis in the female goat hypothalamus to study the onset of puberty | *BMC Genomics* | Full Text n.d. <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-023-09705-7> (accessed January 18, 2024).

[133] Iwasawa S, Yanagi K, Kikuchi A, Kobayashi Y, Haginoya K, Matsumoto H, et al. Recurrent de novo MAPK8IP3 variants cause neurological phenotypes. *Ann Neurol* 2019;85:927–33. <https://doi.org/10.1002/ana.25481>.

[134] Baş F, Abalı ZY, Toksoy G, Poyrazoğlu Ş, Bundak R, Güleç Ç, et al. Precocious or early puberty in patients with combined pituitary hormone deficiency due to POU1F1 gene mutation: case report and review of possible mechanisms. *Horm Athens Greece* 2018;17:581–8. <https://doi.org/10.1007/s42000-018-0079-4>.

[135] Dasen JS, O’Connell SM, Flynn SE, Treier M, Gleiberman AS, Szeto DP, et al. Reciprocal interactions of Pit1 and GATA2 mediate signaling gradient-induced determination of pituitary cell types. *Cell* 1999;97:587–98. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80770-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80770-9).

[136] Atanes P, Ashik T, Persaud SJ. Obesity-induced changes in human islet G protein-coupled receptor expression: Implications for metabolic regulation. *Pharmacol Ther* 2021;228:107928. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107928>.

[137] Chrousos GP, Detera-Wadleigh SD, Karl M. Syndromes of glucocorticoid resistance. *Ann Intern Med* 1993;119:1113–24. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-119-11-199312010-00009>.

[138] He Y, Sun W, Yu J. Is precocious puberty linked to hypothalamic expression of arginine-phenylalanine-amide-related peptide? *Iran J Basic Med Sci* 2017;20:1074–8.

<https://doi.org/10.22038/IJBMS.2017.9397>.

[139] Sun W, Li S, Tian Z, Shi Y, Yu J, Sun Y, et al. Dynamic Changes of RFRP3/GPR147 in the Precocious Puberty Model Female Rats. *Curr Mol Med* 2019;19:766–75. <https://doi.org/10.2174/1566524019666190906142445>.

[140] Gui Z, Lv M, Han M, Li S, Mo Z. Effect of CPP-related genes on GnRH secretion and Notch signaling pathway during puberty. *Biomed J* 2023;46:100575. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2022.12.003>.

[141] Blanchet P, Bebin M, Bruet S, Cooper GM, Thompson ML, Duban-Bedu B, et al. MYT1L mutations cause intellectual disability and variable obesity by dysregulating gene expression and development of the neuroendocrine hypothalamus. *PLoS Genet* 2017;13:e1006957. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006957>.

[142] Alghamdi A. Precocious Puberty: Types, Pathogenesis and Updated Management. *Cureus* n.d.;15:e47485. <https://doi.org/10.7759/cureus.47485>.

[143] Семичева ТВ. Состояние гипоталамо-гипофизарной системы у детей с истинным преждевременным половым развитием. Эндокринологический научный центр, 1983.

[144] Zimmerman D. The Endocrine System in Tuberous Sclerosis Complex. In: Gómez MR, Sampson JR, Whittemore VH, editors. *Tuberous Scler. Complex*, Oxford University Press; 1999, p. 0. <https://doi.org/10.1093/oso/9780195122107.003.0015>.

