

## Мутации в гене рецептора грелина *GHSR* при врожденном гипопитуитаризме

© Е.Б. Башнина<sup>1</sup>, О.С. Берсенева<sup>1\*</sup>, А.С. Глотов<sup>2</sup>, О.С. Глотов<sup>2</sup>, М.Е. Туркунова<sup>3</sup>, Е.А. Серебрякова<sup>2</sup>, В.С. Баранов<sup>2</sup>

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

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

<sup>3</sup>Детский эндокринологический центр, Санкт-Петербург, Россия

Результаты молекулярно-генетических исследований свидетельствуют о возможном участии грелина в патогенезе некоторых форм низкорослости. Однако при изолированной соматотропной недостаточности мутации в гене рецептора грелина являются редкой причиной данного заболевания. В статье описан случай обнаружения методом секвенирования нового поколения (NGS) с использованием технологии Амплисек функционально значимого маркера — замены с.837С>А в гене рецептора грелина — *GHSR* (ОМIM:615925) в гетерозиготном состоянии у двух сестер с изолированной недостаточностью гормона роста и клинической картиной синдрома нарушенного всасывания. Высказано предположение, что мутации в гене *GHSR* могут быть этиологическим фактором изолированной соматотропной недостаточности в сочетании с синдромом нарушенного всасывания и нарушения пищевого поведения. Наличие мутации в гене *GHSR* позволяет прогнозировать развитие развития соматотропной недостаточности без нарушения функции других гормонов аденогипофиза.

**Ключевые слова:** ген рецептора грелина, изолированная соматотропная недостаточность, врожденный гипопитуитаризм, мутация гена *GHSR*, низкорослость.

### Mutations in the ghrelin receptor gene *GHSR* in congenital hypopituitarism

© Elena B. Bashnina<sup>1</sup>, Olga S. Berseneva<sup>1\*</sup>, Andrey S. Glotov<sup>2</sup>, Oleg S. Glotov<sup>2</sup>, Mariia E. Turkunova<sup>3</sup>, Elena A. Serebryakova<sup>2</sup>, Vladislav S. Baranov<sup>2</sup>

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

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

<sup>3</sup>Children Endocrinology center, Saint Petersburg, Russia

The results of molecular genetic studies indicate the potential involvement of ghrelin in the pathogenesis of some dwarfism forms. However, in the case of isolated somatotropin insufficiency, mutations in the ghrelin receptor gene are a rare cause of the disease. The article describes a case of identification, based on new generation sequencing (NGS) using the AmpliSeq technology, of a functionally significant marker — the c.837C>A substitution in the ghrelin receptor gene *GHSR* (OMIM: 615925) in the heterozygous state in two sisters with isolated growth hormone deficiency and the clinical picture of malabsorption syndrome. We have supposed that mutations in the *GHSR* gene may be an etiological factor of isolated somatotropin insufficiency in a combination with malabsorption syndrome and eating disorders. Mutations in the *GHSR* gene enable predicting the development of somatotropin insufficiency not associated with abnormality of other pituitary hormones.

**Keywords:** ghrelin receptor gene, isolated somatotropin insufficiency, congenital hypopituitarism, *GHSR* gene mutation, dwarfism.

Эволюция знаний о строении, функционировании и взаимосвязях в системе гипоталамус-гипофиз-гормон роста (ГР) достигла выяснения роли ГР-релизинг гормона (ГР-РГ), соматостатина и ГР-релизинг-пептидов в качестве основных факторов регуляции секреции ГР соматотрофами аденогипофиза. Активно изучается значение одного из биологически активных соединений, относящихся к классу ГР-релизинг-пептидов — грелина [1].

В 70-е годы XX века были синтезированы пептиды, обладающие ГР-стимулирующей активностью. Несколько позже они были выделены как пентапептиды, обладающие опиоидными свойствами, из мозга свиньи. Гипотеза о существовании нативных ГР-релизинг-пептидов и их рецепторов была высказана в 1980 г. [1]. За 3 года до идентификации грелина Kojima и соавт. выделили рецепторы

грелина — GHS-R1a и GHS-R1b [1]. В последующем эти рецепторы были обнаружены в гипоталамусе, гипофизе, эндотелии сосудов гладкой мускулатуры, в пищевом, поджелудочной железе, желудке, кишечнике, почках, костной ткани, плаценте, яйцках в жировой ткани [2].

В 2002 г. в островках Лангерганса поджелудочной железы человека были обнаружены клетки, секретирующие грелин. Они получили название ε-клетки. В дальнейшем было показано, что грелин может секретироваться эндокринными клетками желудка, тонкого кишечника, желчного пузыря, в гипоталамусе, гипофизе, надпочечниках, почках, яйцках [3].

Основная часть прогормона грелина выделяется P/D1-клетками слизистой оболочки фундального отдела желудка. Выделены гормонально неактивная

(в виде чистого пептида) и активной формы. На аппетит и объем съеданной пищи могут влиять обе формы грелина [4].

Активация рецепторов грелина в различных тканях приводит к реализации разнообразных сигнальных механизмов с последующей физиологической реакцией. Физиологические функции рецепторов грелина включают стимуляцию секреции ряда гормонов (ГР, АКТГ, кортизола, пролактина), модуляцию приема пищи, влияние на метаболизм глюкозы и жиров, регуляцию моторики и секреции желудочно-кишечного тракта, регуляцию клеточного апоптоза и пролиферации, противовоспалительное действие [5].

Регуляция энергетического баланса с помощью грелина происходит при участии нейропептида Y и эндоканнабиоидной системы. Эта орексигенная система регулирует прием пищи. Ее рецепторы располагаются в гипоталамусе. Повышение тонуса эндоканнабиоидной системы при голоде ассоциируется с увеличением концентрации грелина в крови. Сосудорасширяющие эффекты грелина обеспечивают нормальный плацентарный кровоток, способствуя нормальному газообмену и трофике плода. Грелин может подавлять сократительную активность матки и таким путем влиять на физиологическое течение беременности [6].

Грелин повышает способность к обучению, улучшает память и когнитивные функции, защищает от тревоги и депрессии. Все эти свойства грелина связаны с повышением дофамин- и холинергической активности головного мозга [3]. Повышая биодоступность азота и поддерживая баланс между эндотелином-1 и оксидом азота в сосудистой стенке, грелин увеличивает сердечный выброс, снижает артериальное давление и системное сосудистое сопротивление [7].

Предполагают, что грелин играет ключевую роль в управлении механизмами старения, так как его рецепторы представлены в разных органах и тканях, и грелин влияет на взаимоотношения ГР и ИФР-1, а также на другие нейроэндокринные и метаболические процессы. Недавние исследования показали, что существуют дополнительные подтипы GHSR и эндогенные агонисты грелина [8]. Благодаря свойству грелина способствовать увеличению массы тела и ожирению, модуляция эндогенной системы грелина считается перспективной для лечения людей с патологически низкой массой тела (нервной анорексией или кахексией) [9].

Роль грелина в регуляции секреции ГР окончательно не определена. В ряде исследований не выявлено связи между уровнем грелина и секрецией ГР. Однако в этих исследованиях измеряли преимущественно ацилированную форму грелина, а не более чувствительную — деацилированную [10]. Отмечено изменение уровня грелина при стимуляцион-

ных диагностических тестах (с глюкагоном и клонидином): одновременно с увеличением уровня ГР наблюдается увеличение уровня грелина у детей с врожденной соматотропной недостаточностью [11].

Взаимодействуя со своими рецепторами в гипоталамусе и на соматотрофах гипофиза, грелин стимулирует высвобождение рилизинггормона, гормона роста и самого ГР [12]. В 2009 г. J. Pantel и соавт. описали случай изолированной соматотропной недостаточности при мутации в гене рецептора грелина. У пациента с задержкой роста имелись рецидивирующие боли в животе, немотивированные приступы тошноты и рвоты. По результатам двух стимулирующих секрецию ГР проб был диагностирован гипопитуитаризм. Соматотропную недостаточность авторы связали с обнаруженными гетерозиготными мутациями в гене *GHSR* [13].

#### Описание клинического случая

Два ребенка (сестры) находятся под наблюдением эндокринолога в детском эндокринологическом центре Санкт-Петербурга; двойня 2001 года рождения. Впервые родители обратились с жалобами на задержку роста девочек в возрасте двух лет. При этом у обеих пациенток отмечались диспепсические расстройства (периодически возникающие тошнота, беспричинные рвоты, нерегулярный стул). Дефицит роста составлял для каждой из пациенток —2 SDS. На основании результатов обследования (проведено HLA-типирование DQ2, обнаружено повышение титра антиглиадиновых антител в крови) нарушения роста расценили как симптом целиакии. Однако синдром нарушенного всасывания (целиакия) не был подтвержден морфологически.

Несмотря на строгое соблюдение безглютеновой диеты, у обеих сестер сохранялись низкие ростовые прибавки. В возрасте 10 лет обеим пациенткам проведено исследование функционального состояния гипоталамо-гипофизарной системы. При проведении стимуляционных диагностических тестов (с клонидином и инсулином) была диагностирована изолированная соматотропная недостаточность. Максимальные пиковые значения концентрации ГР при проведении проб — 6,94 нг/мл у первой сестры и 6,84 нг/мл у второй. У обеих пациенток при МРТ патологических изменений в гипоталамо-гипофизарной области выявлено не было. На момент постановки диагноза дефицит роста составлял —2,4 SDS и —2,6 SDS. В период наблюдения уровни ТТГ, АКТГ, кортизола, пролактина и гонадотропинов оставались в пределах референсных значений.

Начиная с 10 лет, обе сестры получали ГР в дозе 0,033 мг/кг/сут. Выраженный ростовой эффект наблюдался у обеих больных. Общая прибавка в росте у каждой из сестер — 30 см за 4 года. С началом лечения ГР отмечалась положительная динамика изменений SDS роста. При соблюдении только безглю-

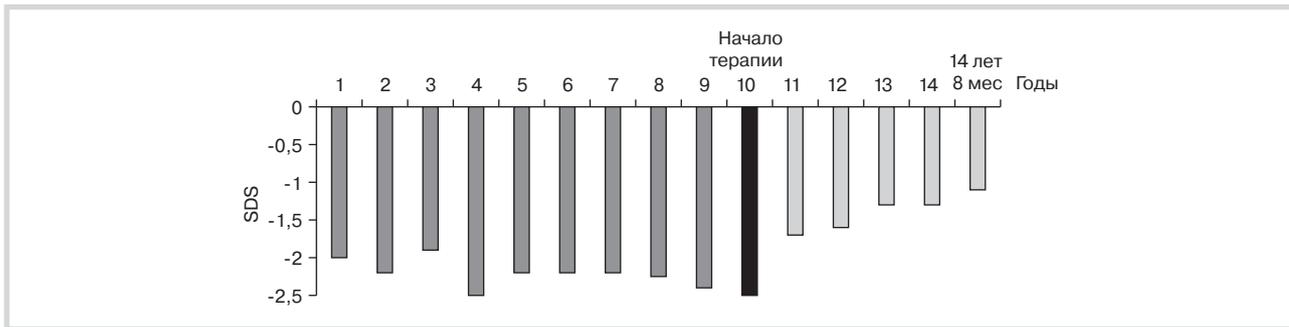


Рис. 1. Значение SDS роста в зависимости от возраста, пациентка А.

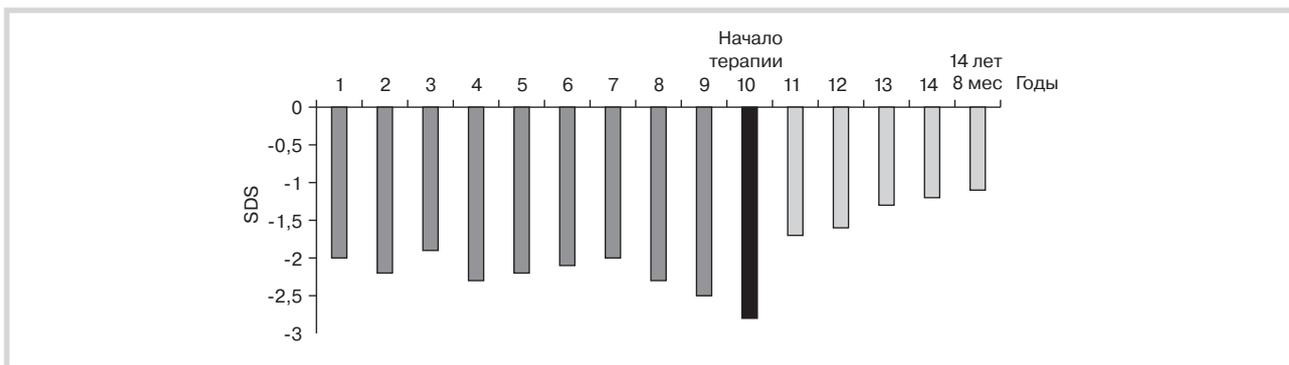


Рис. 2. Значение SDS роста в зависимости от возраста, пациентка И.

тенной диеты изменение показателей SDS отсутствовало (рис. 1, 2).

В процессе динамического наблюдения отмечались симптомы, связанные с возможным развитием анорексии: низкий аппетит, избирательное пищевое поведение. В связи с достижением социально приемлемого роста (155 см) и костного возраста 14 лет (определен по атласу Грейлиха) в настоящее время обе сестры получают метаболическую дозу ГР.

Методом секвенирования нового поколения (NGS) с помощью технологии Амплисек на аппарате IonTorrent («Life technologies», США) проведено исследование кодирующих регионов генов *GH1*, *GHRH*, *GHRHR*, *BTK*, *GHSR*, *PROPI*, *POU1F1*, *HESX1*, *LHX3*, *LHX4*, *SOX3*, *SOX2*, *OTX2*, *GLI2*, *ARNT2*, *ARPC5L*, *DLK1*, *DRD2*, *PAX6*, *RNPC3*, *SHH*, *SPCS2*, *SPCS3*, ассоциированных с гипопитуитаризмом.

Биоинформационный фильтеринг результатов секвенирования проводился с помощью программ: GeneTalk (<https://www.gene-talk.de/>), UGENE (<http://ugene.unipro.ru/>), Ion Reporter (<https://ionreporter.lifetechnologies.com/ir/>), SIFT (<http://sift.jcvi.org/>), PolyPhen2 ([genetics.bwh.harvard.edu/pph2/](http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/)), PAPI (<http://papi.unipv.it/>). Верификацию полученных данных проводили методом прямого секвенирования на приборе Genetic Analyzer 3130 («Applied Biosystems», США) по алгоритму, описанному нами ранее [14].

У двух пациентов в гене рецептора грелина *GHSR* в гетерозиготном состоянии выявлена функционально значимая замена с.837С>А, ассоциированная с изолированной недостаточностью гормона роста (OMIM:615925). Исследование родственников не проводилось.

Мы предположили, что мутации в гене *GHSR* могут быть причиной изолированной соматотропной недостаточности в сочетании с синдромом нарушенного всасывания и нарушением пищевого поведения у этих пациенток. В базе данных OMIM (<http://www.omim.org>) указано 2 типа наследования данного заболевания: аутосомно-доминантный и аутосомно-рецессивный. Также есть данные о том, что изолированная недостаточность гормона роста возникает у носителей гетерозигот, компаундов гетерозигот или гомозигот по мутации в гене рецептора секреции ГР (*GHSR*; 601898) на хромосоме 3q26. Вариант: 172163215С>А (GRCh37), с.837С>А (NM\_198407.2), р.Phe279Leu (NP\_940799.1), rs201286192. Данный вариант в гетерозиготном состоянии описан в литературе у пациента с идиопатическим низким ростом [15–17].

### Заключение

Частота выявленного варианта нуклеотидной последовательности в контрольной выборке ExAC низкая (<0,01), что является показанием для даль-

нейшего анализа. Программы предсказания патогенности расценивают данный вариант неоднозначно [«SIFT» (<http://sift.jcvi.org/>), «PolyPhen2» (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), «PAPi» (<http://papi.unipv.it/>), «PROVEAN» (<http://provean.jcvi.org/index.php>)]. Информация, которую выдают программы: PROVEAN — Deleterious, PAPi — Damaging, PolyPhen2 — Probably damaging, SIFT — Tolerated.

Данная замена ведет к консервативной замене аминокислоты в 6-м трансмембранном домене GHSR. Phe279 является одним из основных аминокислотных остатков в GHSR с высокой консервативностью среди людей, свиней и крыс. Этот вариант был изучен с помощью сайт-направленного мутагенеза. Вариант 279Leu уменьшает специфические связывающие свойства агониста GHSR по сравнению с диким типом. Исходя из этого, выявленный вариант следует расценивать, как вероятно патогенный, который может иметь отношение к фенотипу пациента при наличии дополнительных подтверждающих данных. В описанном случае таковыми являются задержка роста, результаты стимуляцион-

ных тестов и положительные ростовые эффекты при лечении ГР.

Молекулярно-генетические исследования расширяют возможности этиологической диагностики заболеваний, сопровождающихся задержкой роста в детском возрасте.

Выявление мутации в гене рецептора грелина GHSR у пациентов позволяет прогнозировать развитие соматотропной недостаточности без дефицита других гормонов аденогипофиза.

#### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Финансирование работы.** Работа выполнена при поддержке фонда поддержки и развития филантропии «КАФ» в рамках программы «Альфа-эндо».

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Согласие пациентов:** пациенты добровольно подписали информированное согласие на публикацию своих медицинских данных в рамках настоящей статьи.

**Участие авторов:** сбор и обработка материала — Е.Б. Башнина, О.С. Берсенева, М.Е. Туркунова, Е.А. Серебрякова; написание текста — Е.Б. Башнина, О.С. Берсенева, О.С. Глотов, М.Е. Туркунова; редактирование — Е.Б. Башнина, А.С. Глотов, О.С. Глотов, В.С. Баранов.

## ЛИТЕРАТУРА | REFERENCES

- Murray PG, Higham CE, Clayton PE. 60 years of neuroendocrinology: The hypothalamo-GH axis: the past 60 years. *J Endocrinol.* 2015;226(2):T123-140. doi: 10.1530/JOE-15-0120.
- Papotti M, Ghe C, Cassoni P et al. Growth hormone secretagogue binding sites in peripheral human tissues. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(10):3803-3807. doi: 10.1210/jcem.85.10.6846.
- Волков В.П. Новые панкреатические гормоны: грелин (обзор литературы). // *Universum: Медицина и фармакология.* — 2014. — №12. [Volkov VP. New pancreatic hormones: ghrelin (review of literature). *Universum: Meditsina i farmakologiya.* 2014;(12). (In Russ.)] Доступно по: <http://7universum.com/en/med/archive/item/1797>. Ссылка активна на 20.03.2016.
- Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin and desacyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;279(3):909-913. doi: 10.1006/bbrc.2000.4039.
- Yin Y, Li Y, Zhang W. The growth hormone secretagogue receptor: its intracellular signaling and regulation. *Int J Mol Sci.* 2014;15(3):4837-4855. doi: 10.3390/ijms15034837.
- Никонова Л.В., Давыдчик Э.В. Грелин: физиологические аспекты действия. // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета.* — 2013. — №3. — С. 23—25. [Nikonova LV, Davydchik EV. Ghrelin: physiological aspects of action. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta.* 2013;(3):23-25. (In Russ.)]
- Кириенкова Е.В., Литвинова Л.С., Селедцов В.И. и др. Метаболические и сердечно-сосудистые эффекты грелина. // *Ожирение и метаболизм.* — 2012. — Т. 9. — №1. — С. 3—8. [Kirienkova EV, Litvinova LS, Seledtsov VI, et al. Metabolic and cardiovascular effects of ghrelin. *Obesity and Metabolism.* 2012;9(1):3-8. (In Russ.)] doi: 10.14341/2071-8713-5048
- Cruz CR, Smith RG. The growth hormone secretagogue receptor. *Vitam Horm.* 2008;77:47-88. doi: 10.1016/S0083-6729(06)77004-2.
- Muller TD, Tschop MH. Ghrelin — a key pleiotropic hormone-regulating systemic energy metabolism. *Endocr Dev.* 2013;25:91-100. doi: 10.1159/000346590.
- Nass R. Growth hormone axis and aging. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2013;42(2):187-199. doi: 10.1016/j.ecl.2013.02.001.
- Stylianou C, Galli-Tsinopoulou A, Grammatikopoulou MG et al. Ghrelin and growth hormone serum levels during the clonidine test in children with short stature and variable growth hormone status. *Hormones (Athens).* 2011;10(1):39-45. doi:10.14310/horm.2002.1291
- Davenport AP, Holst B et al. Ghrelin receptor, introduction. [Internet]. Guide to pharmacology [updated 2015 August 10; cited 2016 March 15]. Available from: <http://www.guidetopharmacology.org/GRAC/FamilyIntroductionForward?familyId=28>.
- Pantel J, Legendre M, Nivot S et al. Recessive isolated growth hormone deficiency and mutations in the ghrelin receptor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(11):4334-4341. doi: 10.1210/jc.2009-1327.
- Glotov AS, Kazakov SV, Zhukova EA et al. Targeted next-generation sequencing (NGS) of nine candidate genes with custom AmpliSeq in patients and a cardiomyopathy risk group. *Clin Chim Acta.* 2015;446:132-140. doi: 10.1016/j.cca.2015.04.014.
- Wang HJ, Geller F, Dempfle A et al. Ghrelin receptor gene: identification of several sequence variants in extremely obese children and adolescents, healthy normal-weight and underweight students, and children with short normal stature. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(1):157-162. doi: 10.1210/jc.2003-031395.
- Pugliese-Pires PN, Fortin JP, Zhu Y et al. Novel Mutations in the Growth Hormone Secretagogue Receptor Gene (GHSR) Associated with Constitutional Delay in Growth and Puberty (CDGP). Oral Sessions II [Internet]. The Endocrine Society. 2010:OR35-3—OR35-3. doi: 10.1210/endo-meetings.2010.part3.or2.or35-3
- Feighner SD, Howard AD, Prendergast K et al. Structural Requirements for the Activation of the Human Growth Hormone Secretagogue Receptor by Peptide and Nonpeptide Secretagogues. *Mol Endocrinol.* 1998;12(1):137-145. doi: 10.1210/mend.12.1.0051.

**ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ**

\**Берсенева Ольга Сергеевна* [Olga S. Berseneva]; адрес: Россия, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная д. 41 [address: 41 Kirochnaya street, 191015 Saint-Petersburg, Russia]; e-mail: o.berseneva@mail.ru; eLibrary SPIN-код: 6550-2139.

*Башнина Елена Борисовна*, д.м.н., профессор [Elena V. Bashnina, MD, PhD, Professor]; e-mail: bashnina@mail.ru; eLibrary SPIN-код: 5568-0690.

*Глотов Андрей Сергеевич*, к.б.н. [Andrey S. Glotov, PhD]; e-mail: elena\_zhukova89@mail.ru; eLibrary SPIN-код: 1406-0090.

*Глотов Олег Сергеевич*, к.б.н. [Oleg S. Glotov, PhD]; e-mail: elena\_zhukova89@mail.ru; eLibrary SPIN-код: 4531-3449.

*Туркунова Мария Евгеньевна* [Mariia E. Turkunova]; e-mail: kykzochka@mail.ru; eLibrary SPIN-код: 7320-1136.

*Серебрякова Елена Андреевна* [Elena A. Serebryakova]; e-mail: elena\_zhukova89@mail.ru; eLibrary SPIN-код: 9205-4597.

*Баранов Владислав Сергеевич*, д.м.н., профессор, член-корр. РАН, з.д.н. РФ [Vladislav S. Baranov, MD, PhD, Professor]; e-mail: elena\_zhukova89@mail.ru; eLibrary SPIN-код: 9196-7297.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ГР — гормон роста

ГР-РГ — рилизинг-гормон гормона роста

АКТГ — аденокортикотропный гормон

ТТГ — тиреотропный гормон

**ИНФОРМАЦИЯ**

Рукопись получена: 20.05.2016. Одобрена к публикации: 09.03.2017.

**КАК ЦИТИРОВАТЬ:**

Башнина Е.Б., Берсенева О.С., Глотов А.С., Глотов О.С., Туркунова М.Е., Серебрякова Е.А., Баранов В.С. Мутации в гене рецептора грелина GHSR при врожденном гипопитуитаризме. // Проблемы эндокринологии. — 2017. — Т. 63. — №2. — С. 98–102.

doi: 10.14341/probl201763298-102

**TO CITE THIS ARTICLE:**

Bashnina EB, Berseneva OS, Glotov AS, Glotov OS, Turkunova ME, Serebryakova EA, Baranov VS. Mutations in the ghrelin receptor GHSR gene in the patients with congenital hypopituitarism. *Problems of Endocrinology*. 2017;63(2):98-102. doi: 10.14341/probl201763298-102