

## Случай врожденного гипотиреоза в сочетании с нейросенсорной тугоухостью (синдром Пендред), обусловленный дефектом гена *TPO*

© Н.А. Макрещкая\*, О.Б. Безлепкина, О.А. Чиклаева, Е.В. Васильев, В.М. Петров, И.И. Дедов, А.Н. Тюльпаков

ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия

Врожденный гипотиреоз — генетически гетерогенная группа заболеваний, в основе которой лежат два механизма развития: дисгенез железы и дисгормоногенез. В структуре заболевания выделяют ряд синдромальных форм, одной из которых является сочетание врожденного гипотиреоза и нейросенсорной тугоухости (синдром Пендред), первоначально ассоциированной с дефектами гена *SLC26A4*. В статье представлено описание пациента с клиническими проявлениями синдрома Пендред, у которого при проведении молекулярно-генетического исследования методом секвенирования следующего поколения (NGS) был выявлен дефект гена *TPO*. Таким образом, сочетание врожденного гипотиреоза и нейросенсорной тугоухости может иметь различную молекулярную основу. Полученные данные иллюстрируют ценность использования NGS для генетической верификации диагноза.

**Ключевые слова:** *TPO*, синдром Пендред, врожденный гипотиреоз, многоузловой зоб, нейросенсорная тугоухость.

### A case of congenital hypothyroidism combined with sensorineural hearing loss (Pendred syndrome) caused by a *TPO* gene defect

© Nina A. Makretskaya\*, Olga B. Bezlepkina, Olga A. Chikulaeva, Evgeny V. Vasiliev, Vasily M. Petrov, Ivan I. Dedov, Anatoly N. Tiulpakov

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

Congenital hypothyroidism is a genetically heterogeneous group of diseases caused by two mechanisms: gland dysgenesis and dyshormonogenesis. The disease pattern includes a number of syndromic forms, one of which is a combination of congenital hypothyroidism and sensorineural hearing loss (Pendred syndrome) initially associated with *SLC26A4* gene defects. The article describes a patient with clinical manifestations of Pendred syndrome who was diagnosed with a *TPO* gene defect during a molecular genetic analysis using next generation sequencing (NGS). Therefore, a combination of congenital hypothyroidism and sensorineural hearing loss can have a different molecular basis. Our findings illustrate the value of NGS for genetic verification of the diagnosis.

**Keywords:** *TPO*, Pendred syndrome, congenital hypothyroidism, multinodular goiter, sensorineural hearing loss.

Врожденный гипотиреоз (ВГ) является одним из наиболее распространенных заболеваний эндокринной системы с частотой встречаемости 1 на 3000—4000 новорожденных [1]. В структуре ВГ, представляющего собой гетерогенную группу заболеваний, выделяют как изолированные поражения щитовидной железы (ЩЖ), так и синдромальные формы, характеризующиеся сочетанием гипотиреоза с другой патологией. К числу последних относится синдром Пендред (СП), впервые описанный в 1896 г. [2] и проявляющийся гипотиреоидным зобом и нейросенсорной тугоухостью. Проведенные спустя столетие молекулярно-генетические исследования показали, что в основе СП лежат дефекты гена *SLC26A4*, белковый продукт которого был назван пендрином [3, 4]. Последующие работы, включая и эксперименты на мышиных моделях, продемонстрировали, что сочетание ВГ с нейросенсорной тугоухостью может наблюдаться и при других формах гипотиреоза, что связано с критическим значением уровня тиреоидных гормонов для формирования внутреннего уха в процессе эмбриогенеза [5—8].

Нами изучена молекулярная основа ВГ у пациента с клиническими проявлениями СП. Использо-

вание секвенирования следующего поколения (NGS), при котором осуществляется анализ последовательности сразу нескольких генов-кандидатов, позволило установить, что заболевание связано не с дефектом пендрина, а с дефицитом тиреопероксидазы (ТПО).

Нами проведена оценка анамнестических, клинико-лабораторных данных и результатов инструментальных исследований пациента. Молекулярно-генетическое исследование проведено методом секвенирования следующего поколения (NGS). Использовалась разработанная в отделении наследственных эндокринопатий ФГБУ ЭНЦ панель праймеров Ion Ampliseq Custom DNA Panel («Life technologies», США), охватывающая кодирующие области следующих генов: *TPO*, *PAX8*, *NKX2-5*, *IYD*, *SLC26A4*, *TG*, *GLIS3*, *FOXE1*, *NKX2-1*, *DUOX2*, *DUOX1*, *DOXA2*, *TSHR*, *SLC5A5*, *TSHB*, *THRB*, *THR*, *UBR1*, *THRA*, *SLC16A2*. Секвенирование осуществлялось на полупроводниковом секвенаторе PGM (Ion Torrent, «Life Technologies», США). Биоинформатическая обработка результатов секвенирования была проведена с помощью программного модуля Torrent Suite 4.2.1 (Ion Torrent, «Life Technolo-

gies», США) и пакета программы Annovar (версия 2014Nov12) (<http://www.openbioinformatics.org/annovar/>) [9]. Для подтверждения выявленных изменений в гене *TPO* проведено секвенирование соответствующих участков по Сенгеру с использованием специфических праймеров.

### Описание клинического случая

Пробанд от восьмой беременности (первая и вторая беременности — медицинский аборт, с третьей по седьмую беременности — самопроизвольные аборты), протекавшей на фоне токсикоза первой половины. При проведении планового ультразвукового исследования на сроке 30 нед у плода выявлено увеличение ЩЖ. На 31-й неделе гестации уровень ТТГ в пуповинной крови превышал 200 мЕд/л. Семейный анамнез по эндокринопатиям не отягощен.

На 40-й неделе гестации проведено родоразрешение путем кесарева сечения. При рождении масса тела 4100 г, длина 55 см, оценка по шкале Апгар 4/6 баллов. При рождении у ребенка отмечалась деформация шеи за счет увеличения объема щитовидной железы (гигантский зоб). Переведен в отделение реанимации (15 сут на ИВЛ) в связи с врожденной пневмонией, отеком синдромом, нарушением мозгового кровообращения, синдромом дыхательных расстройств.

В возрасте 4,5 года в связи с задержкой речевого развития, снижения слуха ребенок обследован у сурдолога, выявлена двусторонняя нейросенсорная тугоухость 2—3-й степени. Пациент имеет логопедические расстройства, сходящееся содружественное косоглазие; умственную отсталость легкой степени.

С первых месяцев жизни пациент наблюдался в ФГБУ ЭНЦ. Со второго дня жизни назначена заместительная терапия левотироксином, которую пациент в последующем получал в возрастающих дозах под контролем уровня ТТГ. Общий объем ЩЖ в 1-й месяц составлял 40 мл. На фоне проводимой терапии сначала отмечалось уменьшение размеров ЩЖ, однако с 8-летнего возраста объем ЩЖ начал прогрессивно нарастать, появились узловые образования в обеих долях.

При плановом обследовании в ФГБУ ЭНЦ в возрасте 16 лет: рост 196,2 см (SDS = +3,4), масса тела 71,5 кг (SDS ИМТ = -0,73). При осмотре отмечается деформация шеи за счет значительного увеличения ЩЖ. Пальпаторно: ЩЖ увеличена (2-я степень по ВОЗ), умеренной плотности, бугристая, безболезненна, в левой доле пальпируется узловое образование размером до 2,5 см.

Гормональный профиль (на фоне приема левотироксина 150,0 мкг/сут): ТТГ 1,3 мМЕ/л (референсные значения 0,43—4,2), св.Т4 12,75 пмоль/л; кальцитонин 1,0 пг/мл (референсные значения 0,4—18,9).

При ультразвуковом исследовании ЩЖ выявлены эхографические признаки двустороннего многоузлового зоба: общий объем 122 мл (объем правой доли 64,15 мл, левой доли 58,76 мл, толщина перешейка 1,75 см), экзогенность умеренно снижена; множественные образования округлой формы, пониженной и нормальной экзогенности, максимальным размером до 2,8×1,7×2,7 см (в нижней трети левой доли). При ЦДК васкуляризация не изменена. Региональные лимфатические узлы не изменены.

По результатам тонкоигольной аспирационной биопсии выявлены признаки коллоидного зоба с различной степенью пролиферации и регрессивными изменениями.

Пациенту проведена экстрафасциальная тиреоидэктомия. Послеоперационные осложнения отсутствуют. При гистологическом исследовании: картина доброкачественного образования ЩЖ. В препаратах из перешейка обнаружено два очага опухолевого роста солидно-альвеолярного и микрофолликулярного строения. Большая из опухолей окружена тонкой фиброзной капсулой без признаков инвазии. В меньшей опухоли собственная капсула отсутствует, и ее элементы располагаются среди гиперплазированной ткани ЩЖ. Отмечается высокая концентрация клеток опухолей, очаговое просветление ядерного хроматина и напластования ядер. Фигуры митоза, некроз опухолей не обнаружены.

При молекулярно-генетическом исследовании на панели генов «Гипотиреоз» выявлена составная гетерозиготная мутация в гене *TPO*: с.265С>Т р.889Х (замена цитозина на тимин в положении 265, приводящая к образованию стоп-кодона) и с.1181\_1184dupCGGC р.А397РfsХ76 (дупликация 4 пар оснований в экзоне 8 со сдвигом рамки считывания).

### Обсуждение

В 1896 г. английский врач Воген Пендред (Vaughan Pendred) описал семейный случай тугоухости в сочетании с увеличением ЩЖ, и в дальнейшем данный симптомокомплекс получил название синдрома Пендред (СП) [2]. Этиопатогенез СП был изучен в конце прошлого столетия, когда L. Everett и соавт. было доказано, что заболевание сцеплено с геном *SLC26A4* [3], и позднее, в 1999 г., был охарактеризован кодируемый данным геном белок пендрин [4].

Пендрин состоит из 780 аминокислот и относится к ионным транспортерам. Он экспрессируется преимущественно в тироцитах, в меньшей степени — в клетках внутреннего уха и в почках. В щитовидной железе пендрин необходим для регуляции транспорта йодида через апикальную мембрану в просвет

фолликула, во внутреннем ухе — для поддержания баланса ионов хлорида и бикарбоната [4].

К настоящему времени в гене *SLC26A4* описано более 160 мутаций [10]. Спектр фенотипических проявлений варьирует от наличия классического СП (врожденный гипотиреоз, зоб и нейросенсорная тугоухость) до несидромальной потери слуха [11].

Ген *TPO* (OMIM # 606765) был клонирован в 1987 г. [12]. Кодированный геном одноименный белок состоит из 933 аминокислот и представляет собой димер, мономеры которого соединены дисульфидными связями. Каждый мономер содержит гемсвязывающий домен, три внеклеточных домена, трансмембранную спираль и короткий цитоплазматический «хвост» [13]. ТПО катализирует перекисное окисление йодида, йодирование тирозина с последующим соединением остатков йодтирозина и образованием активных йодтиронинов (тироксина и трийодтиронина) [14].

Инактивирующие мутации в гене *TPO* приводят к развитию врожденного гипотиреоза в сочетании с увеличением размеров ЩЖ. Первое описание пациента с врожденным гипотиреозом, обусловленным мутацией гена *TPO*, было опубликовано в 1992 г. М. Abramowicz и соавт. [15]. На сегодняшний день описано более 60 мутаций в гене *TPO*, большинство из которых локализованы в экзонах 7, 8 и 9, кодирующих гемсвязывающий домен белка [16].

Клинический случай сочетания тяжелого врожденного гипотиреоза и снижения слуха у человека, обусловленный составной гетерозиготной мутацией Q235X/Y453D в гене *TPO*, был впервые описан в 2006 г. N. Pfaff и соавт. [17]. Следует отметить, что механизмы формирования нейросенсорной тугоухости при мутациях в генах *TPO* и *SLC26A4* различны. Инактивирующие мутации гена *SLC26A4* приводят к изменению баланса ионов во внутреннем ухе, повышению осмотического давления, вследствие чего развивается мальформация в виде недоразвития улитки и расширения вестибулярного акведука [4]. Развитие тугоухости при мутациях гена *TPO* связано с дефицитом тиреоидных гормонов в эмбриональном и неонатальном периодах, следствием чего является замедление формирования структур внутреннего уха [8].

В 2013 г. K. Johnson и соавт. оценили влияние мутаций в гене *TPO* на развитие внутреннего уха. Для исследования были выведены две линии мутантных мышей (*Tpo tee* и *Tpo tee-2J*). Применялся метод определения коротколлатентных слуховых вы-

званных потенциалов. Пороги слуха у гомозиготных мутантных мышей (*tee/tee* и *tee-2J/tee-2J*) были резко повышены (60—70 дБ). Гистологические исследования позволили установить, что нарушение слуха у мутантных мышей связано с изменением размеров и формы текториальной мембраны и отставанием в развитии архитектоники внутреннего уха [8].

У нашего пациента выявлена составная гетерозиготная мутация p.R89X/p.A397PfsX76 в гене *TPO*. Нонсенс-мутация с.265C>T, расположенная в экзоне 4, приводит к образованию стоп-кодона в положении 89 и выраженному укорочению белка ТПО с полной потерей гемсвязывающего домена. Вторая мутация с.1181\_1184dupCGGC расположена в экзоне 8. Результатом такой мутации также является образование преждевременного стоп-кодона с потерей части гемсвязывающего домена. Таким образом, можно предполагать, что сочетание данных мутаций у пробанда приводит к полной потере функциональной активности тиреопероксидазы, чем объясняется столь тяжелое течение заболевания.

## Заключение

Представленные результаты обследования ребенка с клиническими проявлениями синдрома Пендред свидетельствуют о генетической гетерогенности данного состояния и иллюстрируют возможности использования современных методов молекулярно-генетического анализа (NGS).

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Согласие пациента.** Пациент добровольно подписал информированное согласие на публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме.

**Источники финансирования.** Работа выполнена при содействии Фонда поддержки и развития филантропии «КАФ».

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

**Участие авторов:** Макрецькая Н.А. — концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, проведение молекулярно-генетического исследования, написание текста; Безлепкина О.Б. — сбор материала; Чикулаева О.А. — сбор материала; Васильев Е.В. — проведение молекулярно-генетического исследования; Петров В.М. — проведение молекулярно-генетического исследования; Дедов И.И. — концепция и дизайн исследования; Тюльпаков А.Н. — концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, проведение молекулярно-генетического исследования.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность Фонду поддержки и развития филантропии «КАФ» за помощь в проведении исследования.

## ЛИТЕРАТУРА | REFERENCES

1. Devos H, Rodd C, Gagne N, et al. A search for the possible molecular mechanisms of thyroid dysgenesis: sex ratios and associated malformations. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(7):2502-2506. doi: 10.1210/jcem.84.7.5831.
2. Pendred V. Deaf-Mutism and Goitre. *The Lancet.* 1896;148(3808):532. doi: 10.1016/s0140-6736(01)74403-0.

3. Everett LA, Glaser B, Beck JC, et al. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet.* 1997;17(4):411-422. doi: 10.1038/ng1297-411.
4. Everett LA. A family of mammalian anion transporters and their involvement in human genetic diseases. *Hum Mol Genet.* 1999;8(10):1883-1891. doi: 10.1093/hmg/8.10.1883.
5. Christ S, Biebel UW, Hoidis S, et al. Hearing loss in athyroid pax8 knockout mice and effects of thyroxine substitution. *Audiol Neurotol.* 2004;9(2):88-106. doi: 10.1159/000076000.
6. O'Malley BW, Jr., Li D, Turner DS. Hearing loss and cochlear abnormalities in the congenital hypothyroid (hyt/hyt) mouse. *Hear Res.* 1995;88(1-2):181-189.
7. Johnson KR, Marden CC, Ward-Bailey P, et al. Congenital hypothyroidism, dwarfism, and hearing impairment caused by a missense mutation in the mouse dual oxidase 2 gene, *Duox2*. *Mol Endocrinol.* 2007;21(7):1593-1602. doi: 10.1210/me.2007-0085.
8. Johnson KR, Gagnon LH, Longo-Guess CM, et al. Hearing impairment in hypothyroid dwarf mice caused by mutations of the thyroid peroxidase gene. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2014;15(1):45-55. doi: 10.1007/s10162-013-0427-7.
9. Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(16):e164. doi: 10.1093/nar/gkq603.
10. Pendred/BOR Homepage [Internet]. Available on URL: <http://www.healthcare.uiowa.edu/labs/pendredandbor/>
11. Tsukamoto K, Suzuki H, Harada D, et al. Distribution and frequencies of PDS (SLC26A4) mutations in Pendred syndrome and nonsyndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct: a unique spectrum of mutations in Japanese. *Eur J Hum Genet.* 2003;11(12):916-922. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201073.
12. Kimura S, Kotani T, McBride OW, et al. Human thyroid peroxidase: complete cDNA and protein sequence, chromosome mapping, and identification of two alternately spliced mRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84(16):5555-5559. PMC298901.
13. Banga JP, Mahadevan D, Barton GJ, et al. Prediction of domain organisation and secondary structure of thyroid peroxidase, a human autoantigen involved in destructive thyroiditis. *FEBS Lett.* 1990;266(1-2):133-141.
14. Cetani F, Costagliola S, Tonacchera M, et al. The thyroperoxidase doublet is not produced by alternative splicing. *Mol Cell Endocrinol.* 1995;115(2):125-132. doi: 10.1016/0303-7207(95)03680-6.
15. Abramowicz MJ, Targovnik HM, Varela V, et al. Identification of a mutation in the coding sequence of the human thyroid peroxidase gene causing congenital goiter. *J Clin Invest.* 1992;90(4):1200-1204. doi: 10.1172/JCI115981.
16. Ris-Stalpers C, Bikker H. Genetics and phenomics of hypothyroidism and goiter due to TPO mutations. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;322(1-2):38-43. doi: 10.1016/j.mce.2010.02.008.
17. Pfarr N, Borck G, Turk A, et al. Goitrous congenital hypothyroidism and hearing impairment associated with mutations in the TPO and SLC26A4/PDS genes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(7):2678-2681. doi: 10.1210/jc.2006-0142.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

\***Макрецкая Нина Алексеевна**, аспирант [Nina A. Makretskaya, MD]; eLibrary SPIN-код: 4467-7880; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0412-7140>; E-mail: makretskayan@gmail.com

**Безлепкина Ольга Борисовна**, д.м.н., профессор [Olga B. Bezlepkina, MD, PhD, Professor]; eLibrary SPIN-код: 3884-0945; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9621-5732>; E-mail: olgabezlepkina@mail.ru

**Чиклаева Ольга Александровна**, к.м.н. [Olga A. Chikulaeva, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4743-4661>; E-mail: chikulaeva.olga@gmail.com

**Васильев Евгений Витальевич**, к.б.н. [Evgeny V. Vasiliev, PhD]; eLibrary SPIN-код: 5767-1569; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1107-362X>; E-mail: vas-evg@yandex.ru

**Петров Василий Михайлович**, к.х.н. [Vasily M. Petrov, PhD]; eLibrary SPIN-код: 4358-2147; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0520-9132>; E-mail: petrov.vasily@gmail.com

**Дедов Иван Иванович** — д.м.н., академик РАН, профессор [Ivan I. Dedov, MD, PhD, Professor]; eLibrary SPIN-код: 5873-2280; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8175-7886>; E-mail: dedov@endocrincentr.ru

**Тюльпаков Анатолий Николаевич**, д.м.н. [Anatoly N. Tiulpakov, MD, PhD]; eLibrary SPIN-код: 8396-1798; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8500-4841>; E-mail: anatolytiulpakov@gmail.com

#### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

SDS — коэффициент стандартного отклонения

ЩЖ — щитовидная железа

ТТГ — тиреотропный гормон

ВГ — врожденный гипотиреоз

МИТ — моноидтирозин

ДИТ — дийодтирозин

ТПО — тиреопероксидаза

СП — синдром Пендред

NGS — next generation sequencing

#### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Макрецкая Н.А., Безлепкина О.Б., Чиклаева О.А., Васильев Е.В., Петров В.М., Дедов И.И., Тюльпаков А.Н. Случай врожденного гипотиреоза в сочетании с нейросенсорной тугоухостью (синдром Пендред), обусловленный дефектом гена *TPO*. // Проблемы эндокринологии. — 2017. — Т. 63. — №2. — С. 110—113. DOI: 10.14341/probl2017632110-113

Получена: 15.11.2016. Принята к публикации: 16.02.2017. Опубликовано: 25.04.2017.

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Makretskaya NA, Bezlepkina OB, Chikulaeva OA, Vasiliev EV, Petrov VM, Dedov II, Tiulpakov AN. A case of congenital hypothyroidism combined with sensorineural hearing loss (Pendred syndrome) caused by a *TPO* gene defect. *Problems of endocrinology.* 2017;63(2):110-113. DOI: 10.14341/probl2017632110-113

Received: 15.11.2016. Accepted: 16.02.2017. Published online: 25.04.2017.