

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

На правах рукописи

КОКОРЕВА КРИСТИНА ДМИТРИЕВНА

**ВРОЖДЕННЫЙ ИЗОЛИРОВАННЫЙ ГИПОГОНАДОТРОПНЫЙ
ГИПОГОНАДИЗМ: КЛИНИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ И
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ**

3.1.19 - ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
д.м.н. Безлепкина О. Б.

Москва 2023

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ДАННЫХ ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1 Онтогенез, миграция ГнРГ-секретирующих нейронов и организация работы гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси	12
1.1.1 Гены, регулирующие работу гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси	16
1.2 Врожденный изолированный гипогонадотропный гипогонадизм ..	17
1.2.1 Распространённость ВИГГ и типы наследования	18
1.2.2 Молекулярно-генетическая основа заболевания	20
1.2.3 Олигогенное и дигенное наследование	23
1.2.4 Вариабельность фенотипа.....	23
1.2.5 Обонятельная функция и размеры обонятельных луковиц у пациентов с врожденным гипогонадотропным гипогонадизмом	31
1.2.6 Индукция пубертата при врожденном изолированном гипогонадотропном гипогонадизме	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	38
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	45
3.1 Клиническая характеристика пациентов.....	45
3.2 Клинический полиморфизм ВИГГ у детей	48
3.2.1. Клинический полиморфизм формы ВИГГ.....	48
3.2.2 Клинический полиморфизм репродуктивного фенотипа	52
3.2.3 Клинический полиморфизм нерепродуктивного фенотипа.....	55
3.3 Молекулярно-генетический полиморфизм ВИГГ у детей	62
3.4 Ассоциация генотип – фенотип	64
3.4.1 Патогенные и вероятно патогенные замены. Молекулярно- генетический и клинический полиморфизм	64
3.4.2 Вариантные замены неизвестной клинической значимости. Молекулярно-генетический и клинический полиморфизм	69
3.4.3 Носительство гетерозиготных вариантов в генах рецессивных заболеваний. Молекулярно-генетический и клинический полиморфизм	70
3.5 Обонятельная функция и размеры обонятельных луковиц пациентов с ВИГГ	79
3.6 Инициация пубертата препаратами гонадотропинов у мальчиков с ВИГГ	86

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	91
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	105
ВЫВОДЫ	108
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	111
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	110
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	112

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Гипогонадотропный гипогонадизм – группа заболеваний, обусловленных нарушением продукции гонадотропинов и проявляющихся дефицитом половых гормонов при неповережденных гонадах, что в период пубертата проявляется задержкой полового развития. Различают врожденные и приобретённые формы данного заболевания. Врожденные формы гипогонадотропного гипогонадизма обусловлены нарушением закладки, созревания и миграции нейронов, секретирующих ГнРГ, импульсной секреции ГнРГ, взаимодействия с его рецептором или продукции гонадотропинов. Врожденный изолированный гипогонадотропный гипогонадизм (ВИГГ) включает в себя синдром Кальмана (сопровождается гипосмией или аносмией – 40-50% случаев) и нормосмический изолированный гипогонадотропный гипогонадизм (НВИГГ, 50-60%).

Гипогонадизм у пациентов с синдромом Кальмана и при его нормосмическом варианте является самостоятельным «основным» заболеванием, которому сопутствуют нарушения со стороны репродуктивных органов – крипторхизм, гипоспадия, микропенис – так называемый репродуктивный фенотип гипогонадизма. Гипогонадизм также может сопровождаться патологией нерепродуктивных органов – нерепродуктивным фенотипом. Так, у некоторых пациентов с ВИГГ наблюдается тугоухость, слепота, расщелина губы и неба, почек и т.д.[1]. У части детей с ВИГГ нарушения со стороны нерепродуктивных органов настолько выражены, что жалобы на нарушения зрения, слуха и др. являются ведущими и в некоторых случаях позволяют заподозрить заболевание еще до подросткового возраста[2]. Так, сочетание множественных пороков развития нерепродуктивных органов, то есть широкий спектр проявлений нерепродуктивного фенотипа гипогонадизма, наблюдается у детей, например, с CHARGE-синдромом, синдромом Ваарденбурга или 4Г - синдромом [3], [4].

На настоящий момент с развитием ВИГГ ассоциированы вариантные замены в более 60 генах. По зарубежным данным у лиц мужского пола с ВИГГ наиболее часто диагностируются изменения в генах *GNRHR*, *KAL1* (он же *ANOS1*) и *FGFR1*, у женского – *FGFR1*, *GNRHR* и *PROKR2*. Подобных исследований с участием российских детей с ВИГГ не проводилось. В последние годы появились данные о значимом вкладе олигогенного наследования в развитие ВИГГ, при котором изменения наблюдаются в двух и более генах одновременно, однако информации о встречаемости олигогенизма у российских пациентов с ВИГГ практически нет. Недостаточно изучены и гендерные особенности данного заболевания. Гетерогенность клинической картины ВИГГ проявляется разнообразием форм (полная, неполная, реверсивная), сочетанием ВИГГ с фенотипическими особенностями (нарушениями слуха, зрения, пороками развития конечностей, сердечно-сосудистой системы, ихтиоз и др.) и синдромами (CHARGE-синдром, синдром Ваарденбурга и др.). В части случаев гетерогенность клинической картины объясняется определенными молекулярно- или цитогенетическими изменениями: так, известно, что патогенные вариантные замены в гене *FGFR1* часто выявляются при сочетании ВИГГ с пороками развития конечностей, а CHARGE-синдром ассоциирован с вариантными заменами в гене *CHD7*. Однако выделить ген-кандидат для приоритетного исследования сложно, так как различная клиническая картина может наблюдаться даже у sibсов с одной и той же вариантной заменой, и наоборот.

У пациентов с синдромом Кальмана часто по данным МРТ отмечается отсутствие обонятельных луковиц (аплазия) или уменьшение их размеров (гипоплазия). По результатам последних исследований уменьшение размеров луковиц вплоть до их отсутствия может наблюдаться не только у пациентов с синдромом Кальмана, но и у пациентов с ВИГГ без нарушения обоняния. Ни у взрослых пациентов, ни у детей с синдромом Кальмана и НВИГГ не проводилось отечественных исследований по оценке размеров обонятельных

луковиц.

В рутинной практике в России обонятельную функцию у пациентов с ВИГГ оценивают, ориентируясь на наличие жалоб на нарушения обоняния или их отсутствие. В ряде зарубежных работ было доказано, что субъективная оценка обоняния часто не совпадает с результатами ольфактометрических психофизических исследований. Данных об оценке обонятельной функции с помощью ольфактометрических тестов у данной когорты пациентов и корреляции между результатами ольфактометрии и размерами обонятельных луковиц в отечественной литературе не представлено.

В настоящее время инициация пубертата у мальчиков с НВИГГ, как правило, проводится с помощью препаратов тестостерона. Данная терапия позволяет добиться необходимой андрогенизации пациентов, но объем гонад остается допубертатным. Созревание сперматогенного эпителия в таких условиях невозможно. Использование препаратов гонадотропинов у взрослых пациентов с гипогонадотропным гипогонадизмом позволяет не только увеличить объем гонад, но и у части пациентов индуцировать сперматогенез. Ряд зарубежных авторов считает, что применение гонадотропинов на этапе индукции пубертата у подростков с ВИГГ является желательным и приоритетным, так как способствует созреванию клеток Сертоли. В отечественной литературе работы по исследованию эффективности препаратов ХГЧ и рекомбинантного ФСГ с целью инициации пубертата у подростков с ВИГГ представлены единичными клиническими случаями. Более масштабных исследований, позволяющих оценить эффективность данной терапии у подростков с ВИГГ, в России не проводилось.

Цель научного исследования:

Изучить клинические особенности и молекулярно-генетическую основу врожденного изолированного гипогонадотропного гипогонадизма.

Задачи научного исследования:

1. Установить частоту полной, неполной и реверсивной форм заболевания. Определить встречаемость компонентов репродуктивного и нерепродуктивного фенотипа у пациентов с ВВИГ
2. Оценить частоту вариантных замен в генах, ассоциированных с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом.
3. Изучить ассоциацию генотип-фенотип у детей с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом.
4. Изучить обонятельную функцию и оценить размеры обонятельных луковиц у детей с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом.
5. Оценить объем яичек и динамику уровней тестостерона, АМГ, ингибина В на фоне андроген-стимулирующей терапии гонадотропинами у мальчиков с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом.

Научная новизна

Впервые определены наиболее распространенные в российской популяции гены, вариантные замены в которых обуславливают развитие врожденного изолированного гипогонадотропного гипогонадизма.

Установлена частота полной, неполной и реверсивной форм заболевания и сопутствующих особенностей фенотипа при врожденном изолированном гипогонадотропном гипогонадизме.

Предложен приоритетный способ молекулярно-генетической диагностики микроделеционного синдрома у пациентов с ВИГГ и ихтиозом.

Впервые в России у подростков с ВИГГ оценена обонятельная функция

психофизическим методом с применением наборов пахучих веществ Sniffin' Sticks Test.

Впервые проведена оценка динамики объема яичек и уровней тестостерона, АМГ, ингибина на фоне инициации пубертата препаратами гонадотропинов у мальчиков с полными формами врожденного изолированного гипогонадотропного гипогонадизма

Теоретическая и практическая значимость

Исследована молекулярно-генетическая структура врожденных форм гипогонадотропного гипогонадизма и выявлены наиболее часто встречающихся в российской когорте пациентов с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом гены, приводящие к развитию заболевания.

Оценка ассоциации фенотип-генотип позволила рекомендовать приоритетный метод диагностики у пациентов с ВИГГ и ихтиозом.

Проведение ольфактометрического исследования методом Sniffin' Sticks Test и выявление ано- и гипосмий у пациентов, не предъявлявших ранее жалоб на нарушение обоняния, позволили рекомендовать данный метод для исследования обонятельной функции у всех детей с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом.

Прогрессия полового развития у 66,6% мальчиков с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом (95% ДИ [38,3; 88,2%]) и достоверное повышение уровня тестостерона на фоне терапии гонадотропинами позволили рекомендовать данный метод инициации пубертата для внедрения в рутинную практику.

Личное участие автора в получении научных результатов

Автор данной диссертационной работы самостоятельно оценил состояние научной проблемы в мире на основании опубликованных данных,

сформулировал цель, задачи и дизайн всех этапов диссертационной работы. Принимал непосредственное участие в клинической работе с пациентами, в организации проведения лабораторных и инструментальных исследований. Автор сформировал базу с данными пациентов, систематизировал их, провел статистический анализ. Результаты полученных автором данных легли в основу подготовленных им публикаций по теме диссертации.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Установить молекулярно-генетическую причину удастся у 57% детей с ВИГГ. Наиболее часто вариантные замены диагностируются в генах *GNRHR* (26,3%, 95% ДИ [9,2; 51,2]), *ANOS1* (21,0%, 95% ДИ [6,1; 45,6]) и *FGFR1* (15,8%, 95% ДИ [3,3; 39,6]). Сочетанные изменения в двух и более генах одновременно отмечались у 7,8% (95% ДИ [2,9; 16,1%]) детей.
2. Более чем к трети пациентов с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом (38,9%, 95% ДИ [28,0; 57,7]) отмечаются сопутствующие нарушения со стороны репродуктивных органов, чаще всего нарушения слуха, патология сердечно-сосудистой системы и дефекты средней линии (расщелина губы и/или неба).
3. При сочетании врожденного изолированного гипогонадотропного гипогонадизма и ихтиоза рекомендовано проведение хромосомного микроматричного анализа для выявления протяженных делеций X-хромосомы.
4. Ольфактометрическое исследование методом Sniffin' Sticks Test позволяет выявить гипо- и аносмию у пациентов, не предъявляющих жалоб на нарушение обоняния. Отсутствие нарушений обоняния у пациентов с ВИГГ может сопровождаться гипо- или аплазией обонятельных луковиц по данным МРТ.
5. Комбинированная андроген-стимулирующая терапия гонадотропинами у мальчиков с полной формой ВИГГ с целью инициации пубертата

приводит к прогрессии полового развития (у 66,6% мальчиков, 95% ДИ [38,3; 88,2%]) и достаточной андрогенизации.

Степень достоверности

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

Апробация работы

Апробация диссертационной работы состоялась 20 июня 2023 года на межкафедральном заседании сотрудников кафедр эндокринологии, диабетологии и диетологии, детской эндокринологии Института высшего и дополнительного профессионального образования, научных сотрудников клинических и лабораторных подразделений ГНЦ РФ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России.

Результаты работы были частично представлены в виде устных и/или постерных докладов на ежегодных съездах Европейского общества детских эндокринологов ESPE 2021 (online, 22-26 сентября 2021) и ESPE 2023 (the Hague, Netherlands, 21-23 сентября 2023); XI Конференции молодых ученых РМАНПО с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное» (online 3 апреля 2020); XVII Российской научно-практической конференции детских эндокринологов «Достижения науки в практику детского эндокринолога» (г. Санкт-Петербург, 13 июня 2021г.); Московской секции детских эндокринологов (г. Москва, 9 июня 2021); XX городской научно-практической конференции «Эндокринные аспекты в педиатрии» (г. Москва, 18 ноября 2021г.); II Конференции по орфанным

заболеваниям и детским эндокринным заболеваниям: «Персонализированный подход в детской эндокринологии» (г. Москва, 30 марта 2022г.); III Конференции по орфанным и детским эндокринным заболеваниям «Молекулярно-генетические исследования в практике детского эндокринолога» (г. Москва, 29 марта 2023 г.).

По теме диссертационной работы опубликовано 15 публикаций, из них в иностранных журналах – 4; в отечественных – 11. В 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, опубликовано 6 работ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 126 страницах печатного текста, состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений. Библиография представлена 16 отечественными и 145 зарубежными источниками. Работа содержит 30 рисунков и 21 таблицу.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ДАННЫХ ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Онтогенез, миграция ГнРГ-секретирующих нейронов и организация работы гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси

Репродуктивная функция человека находится под контролем гипоталамуса и зависит от работы гонадотропин-рилизинг-гормон-секретирующих нейронов (ГнРГ-нейронов). Местонахождение этих нейронов не ограничено аркуатными ядрами медиабазального гипоталамуса: они определяются в различных участках головного мозга от обонятельных луковиц до гипоталамуса[5] на всем пути миграции ГнРГ-секретирующих нейронов. Предшественники ГнРГ-секретирующих нейронов закладываются вне центральной нервной системы в обонятельной плакоде (пластине), которая является утолщением эктодермы и впоследствии формирует назальный эпителий. Аксоны обонятельных нервов через решетчатую пластинку «прорастают» в передний мозг. Вдоль части аксонов обонятельных нервов (*nervus terminalis*) движутся ГнРГ-секретирующие нейроны. Взаимодействие аксонов с нейроэпителием переднего мозга приводит к завершению клеточной пролиферации, превращению клеток в нейробласты и формированию первичных обонятельных луковиц (рис. 1). Аносмин и фактор роста фибробластов 1-го типа играют в этом процессе важную роль: они необходимы для направленного роста аксонов[6]. Нарушение миграции ГнРГ-нейронов вдоль аксонов обонятельных нервов приводит к развитию гипогонадизма с нарушением обоняния – синдрому Кальмана.

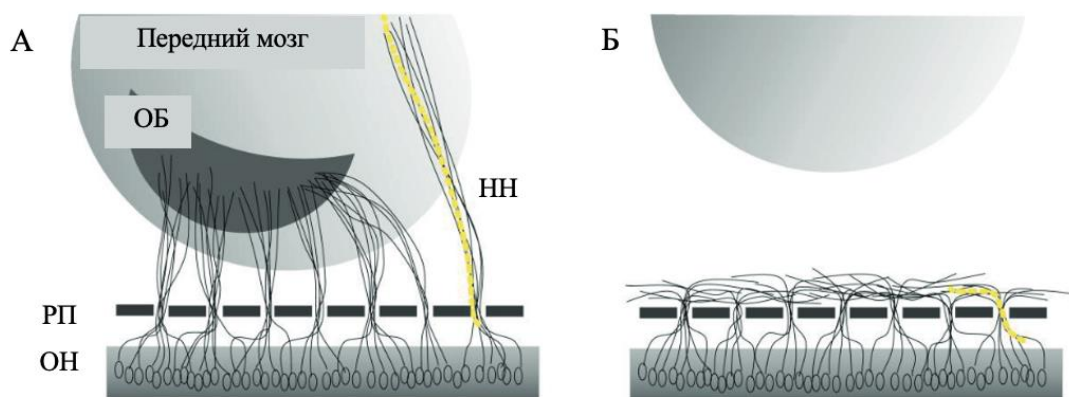


Рисунок 1. Миграция ГнРГ-нейронов из ольфакторной пластинки в гипоталамус.

А) Аксоны ольфакторных нейронов (ОН) «прорастают» через решетчатую пластинку (РП) к обонятельной луковице (ОБ). Часть аксонов (НН-«нулевой» нерв, *nervus terminalis*) достигает гипоталамуса, вдоль НН мигрируют ГнРГ-нейроны (желтые точки на рисунке). Б) 19-ти недельный плод с синдромом Кальмана. На основе[7]. Адаптировано.

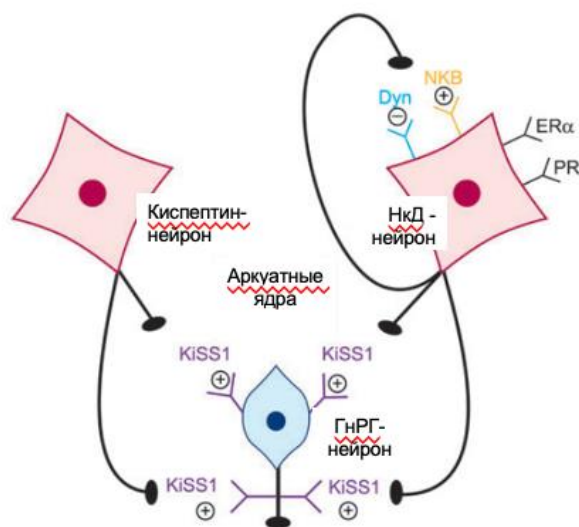


Рисунок 2. Регуляция работы ГнРГ-нейрона.

Секреция ГнРГ регулируется кисспептином, рецепторы к которому экспрессируются на поверхности ГнРГ-нейронов. В свою очередь кисспептин-секретирующие нейроны экспрессируют рецепторы к динарфину и нейрокинину В, поэтому их также называют KNDY-нейроны (кисспептин-нейрокинин В-динарфин-нейроны, НкД-нейроны). Нейрокинин В оказывает на секрецию кисспептина стимулирующее воздействие, а динарфин – ингибирующее[8], [9]. Также на поверхности KNDY-нейронов

экспрессируются рецепторы к прогестерону и альфа-рецепторы к эстрогенам (рис.2), которые по механизмам обратной связи регулируют выделение ксипептина. На секрецию данного белка оказывает действие и лептин, однако он воздействует на ксипептин-секретирующий нейрон опосредовано, по-видимому, через глутаматергические нейроны[10].

Пубертатный период характеризуется волнообразной импульсной секрецией ГнРГ. Ритм секреции у мужчин и женщин разнится: у мужчин ГнРГ вырабатывается 1 раз в 90-120 минут, [11], [12] ГнРГ выделяется в портальную систему передней доли гипофиза, связывается с рецепторами на гонадотрофах и вызывает импульсную секрецию лютеинизирующего гормона ЛГ и фолликулостимулирующего гормона ФСГ. ЛГ имеет более короткий период полужизни и быстрее инактивируется печенью в отличие от ФСГ[13].

В пубертатном возрасте первым признаком реактивации системы гипоталамус-гипофиз-гонады является усиление амплитуды и частоты секреции ЛГ в фазу «быстрого» сна. Затем наблюдается повышение амплитуды и частоты выделения лютеинизирующего гормона в дневной период, под влиянием которого у мужчин концентрация синтезируемого клетками Лейдига тестостерона внутри гонад значительно повышается и превышает концентрацию тестостерона в крови в 50-100 раз[14]. На клетки Сертоли воздействует не только внутритестикулярный тестостерон, но и ФСГ. В отсутствие стимуляции внутритестикулярным тестостероном и ФСГ сперматогенез может продолжаться только до профазы 1-лептотеновой стадии мейоза[15].

Клинически начало пубертата у мальчиков проявляется увеличением объема яичек: до 4 мл объем увеличивается в основном за счет пролиферации клеток Сертоли, в дальнейшем - за счет герминативных клеток (рис.3)[16]. Объем яичек менее 4 мл у мальчика в 14 лет является симптомом задержки полового развития. Среди всех случаев задержки полового развития на гипогонадотропный гипогонадизм приходится 10%[17]. Заподозрить

гипогонадизм в допубертатном возрасте возможен при наличии у пациента микропении, крипторхизма, аносмии, тугоухости, расщелины губы и неба, агенезии зубов, бимануальной синкинезии,отягощенного семейного анамнеза[1]. Гипоспадии при гипогонадотропном гипогонадизме, как правило, не отмечаются[1]. Еще одним признаком гипогонадотропного гипогонадизма у мальчика, позволяющим поставить диагноз до пубертата, является отсутствие повышения уровня тестостерона и гонадотропинов в период мини-пубертата (с 1 до 6 месяцев)[18].

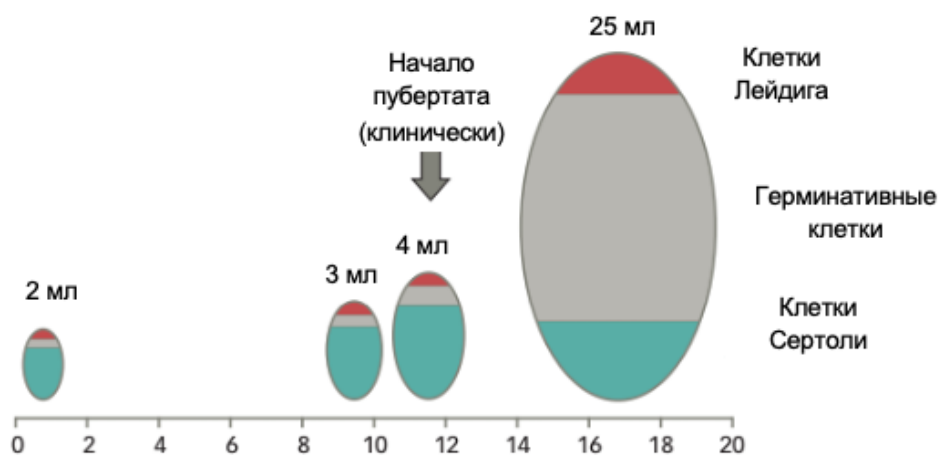


Рисунок 3. Структура и объем яичка от рождения и до пубертата. На основе [16].

Признаков, позволяющих заподозрить гипогонадотропный гипогонадизм у девочек в период новорожденности, нет. В отсутствии отягощенного семейного анамнеза поставить диагноз возможно только в период пубертата.

Первым признаком начала полового развития у девочек является увеличение грудных желез. Отсутствие увеличения грудных желез в 13 лет и/или менструаций в 15 лет является симптомом задержки полового развития.

У девочек ЛГ стимулирует синтез андрогенов в яичниках, а связывание ФСГ с рецептором на зернистых клетках обуславливает дальнейшее превращение андрогенов в эстрогены. По мере прогрессии полового развития, различный ритм секреции ГнРГ и ЛГ обуславливает смену фаз

менструального цикла. Так, наиболее высокая частота секреции ГнРГ (1 раз в 60 мин) и ЛГ наблюдается в позднюю фолликулярную фазу перед овуляцией[19]. Такая высокая концентрация ЛГ поддерживается в течение 3-х дней, затем постепенно снижается: в позднюю лютеиновую фазу ЛГ секретируется 1 раз в 4 – 8 часов, что обусловлено действием прогестерона, подавляющим секрецию ГнРГ[17].

1.1.1 Гены, регулирующие работу гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси

За правильную закладку ГнРГ – секретирующих нейронов вне головного мозга в ольфакторной плакоде, их внутриутробную миграцию вдоль аксонов обонятельных нервов в гипоталамус и созревание в процессе миграции отвечают продукты экспрессии различных генов, таких как *ANOS1*, *HS6ST1*, *PROK2/PROKR2*, *SEMA3A*, *SEMA7A*, *SEMA3E*, *PLXNA1*, *CCDC141*, *FEZF1*, *CC/NTN1*, *AMH/AMHR2*, *NDNF*, *SOX10*, *TUBB3*, *GLCE*, *FGFR1*, *FGF17*, *FGF8*, *IL17RD*, *DUSP6*, *FLRT3*, *SPRY4*, *KLB*, *WDR11*, *NR0B*, *CHD7*, *MKRN3*, *SOX2*[7],

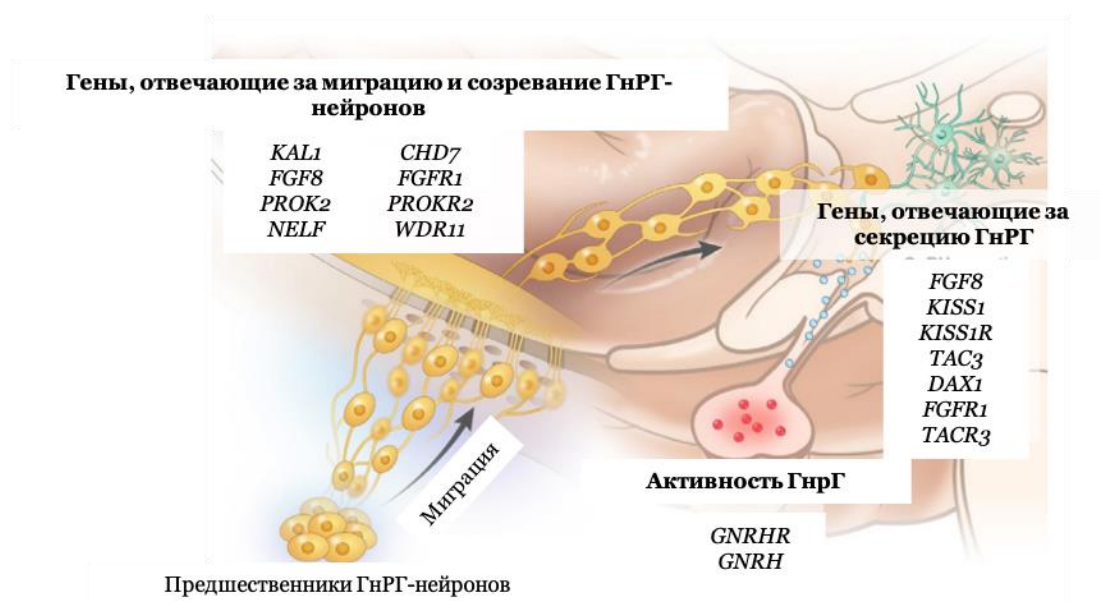


Рисунок 4. Гены, регулирующие работы гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси. Адаптировано из Lee и соавт. [161]

[20] (рис.4). По последним данным продукт экспрессии гена АМН, антимюллеров гормон, играет важную роль в миграции ГнРГ-нейронов[21], [22]. Также нарушение миграции может наблюдаться при вариантных заменах в гене рецептора АМГ *AMHR2*[21], [22].

Продукты экспрессии генов *GNRH*, *KISS1*, *GPR54*, *TAC3*, *TACR3*, *DAX1*, *LEP*, *LEPR* контролируют импульсную секрецию ГнРГ[7], [23], (рис.4). Продуктом экспрессии гена *KISS1* является упоминаемый выше кисспептин, а гена *GPR54* - его рецептор. Ген *TAC3* кодирует нейрокинин В, *TACR3* – рецептор к нейрокинину, ген *LEP*-лептин, а ген *LEPR* – его рецептор, соответственно.

С развитием ВИГГ ассоциированы вариантные замены в генах *GNRH1* и *GNRHR* (рис.4). Ген *GNRH1* кодирует гонадотропин-рилизинг-гормон, а ген *GNRHR* – его G-белок-связанный рецептор. Кроме изменений в данных генах, к развитию ВИГГ могут приводить дефекты генов, кодирующих бета-субъединицы гонадотропинов *FSHB*, *LHB* [20].

1.2 Врожденный изолированный гипогонадотропный гипогонадизм

Врожденный изолированный гипогонадотропный гипогонадизм (ВИГГ) – гетерогенное по своей структуре заболевание, обусловленное патологией секреции или нарушением действия гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) и гонадотропинов, что клинически проявляется гипогонадизмом.

Сочетание ВИГГ с нарушением обоняния (аносмией или гипосмией) называется синдромом Кальмана. Нарушения обоняния выявляются приблизительно у половины пациентов с гипогонадотропным гипогонадизмом[1], и чаще наблюдаются при вариантных заменах в генах, регулирующих закладку и процесс миграции ГнРГ – секретирующих нейронов. Синдром Кальмана может сопровождаться гипоплазией или

аплазией обонятельных луковиц по данным магнитно-резонансной томографии[24]. Впервые пациент с гипогонадизмом и нарушением обоняния был описан немецким психиатром Францем Йозефом Кальманом (Franz Josef Kallmann) в 1944 году в работе «Генетические аспекты первичного евнухоидизма». Областью научных интересов Франца Йозефа являлось изучение генетической основы заболеваний. В своей работе Франц Йозеф с соавторами описали три семьи, 12 членов из которой страдали гипогонадизмом, а 9 – аносмией. Так, немецкий психиатр доказал, что синдром Кальмана имеет генетическую природу. Однако и до Франца Йозефа врачи так или иначе сталкивались с данным заболеванием. Так, в 1856 году испанский гистолог и анатом Аурелио Маэстре де Сан Хуан (Aureliano Maestre de San Juan) проводил вскрытие мужчины с неразвитыми яичками и половым членом. При жизни мужчина страдал аносмией. Обонятельные луковицы у данного пациента по результатам аутопсии отсутствовали[25], [26]. В 1954 году де Морсье (De Morsier) описал 14 пациентов с гипогонадизмом и нарушением обоняния и ввел в литературу термин «ольфакто-генитальная дисплазия», который до сих пор используется в качестве синонимичного названия данного синдрома[25].

В случае развития гипогонадизма без нарушения обоняния имеет место нормосмический гипогонадотропный гипогонадизм, с развитием которого, как правило, ассоциированы вариантные замены в генах, ответственных за импульсную секрецию ГнРГ, или в гене рецептора ГнРГ. Степень нечувствительности рецептора различна, что в части случаев обуславливает клинический полиморфизм заболевания[27], [28].

1.2.1 Распространённость ВИГГ и типы наследования

Среди лиц мужского пола врожденный изолированный гипогонадотропный гипогонадизм с нарушением обоняния или без него встречается в 1 на 4000 – 10000 новорожденных[29], [30], что в 3-5 раз чаще,

чем среди женщин[1]. Сочетание гипогонадизма с гипо- или аносмией, т.е. синдром Кальмана, встречается с частотой 1 на 48000 новорожденных: 1 на 30000 среди мальчиков и 1 на 125000 среди девочек[7]. Более низкая встречаемость среди лиц женского пола ранее объяснялась X-сцепленным типом наследования заболевания. Впервые X-сцепленный тип наследования гипогонадизма и аносмии предположил Кальман в 1944 году. В последствии случаи X-сцепленного гипогонадизма неоднократно описывались в литературе[31]–[33]. В конце 60-ых - начале 70-ых появились первые статьи, описывающие семьи, в которых симптомы гипогонадизма отмечались у отца и у сына, то есть заболевание наследовалось по аутосомному типу[34], [35]. На настоящий момент известно, что X-сцепленно передается гипогонадизм, ассоциированный с вариантными заменами только в гене *KAL1*, что составляет до 12% случаев заболевания [36]–[38]. Соответственно, в большинстве случаев гипогонадотропный гипогонадизм наследуются аутосомно-доминантно и аутосомно-рецессивно[39], [40]. Такая кажущаяся более редкая встречаемость врожденного гипогонадотропного гипогонадизма среди женщин, возможно, обусловлена превалирующими среди них парциальными формами гипогонадизма и, соответственно, более легким течением заболевания[41], которое может проявляться наличием у пациентки телархе и нескольких эпизодов менструаций[42], что не позволяет своевременно установить диагноз.

Другой возможной причиной таких данных по гендерной распространенности заболевания является описанный для гена *KAL1* феномен «избегания» (Escape-phenomenon). В норме в каждой клетке женского организма одна из X-хромосом инактивируется и гены с нее не экспрессируются. Феномен инактивации также называют феноменом дозовой компенсации, целью которого является поддержание одинакового количества продуктов генов в мужских и женских клетках. Доказано, что ген *KAL1* избегает такой инактивации, и продукта гена, белка-аносмина, в клетке

женщины определяется в два раза больше, чем в мужской[43], [44]. Присутствие в женской клетке аносмина в удвоенном количестве является необходимым условием для взаимодействия аносмина с рецептором к фактору роста фибробластов первого типа *FGFR1*, что приводит к отсутствию клинической картины заболевания у женщин – носительниц патогенных замен в генах, продукты экспрессии которых играют важную роль в FGF-сигнальном пути. У мужчин концентрация белка аносмина недостаточна для того, чтобы нивелировать эти молекулярно-генетические дефекты[30], [45].

1.2.2 Молекулярно-генетическая основа заболевания

С развитием гипогонадотропного гипогонадизма ассоциированы варианты замены в более чем 60 генах[21]. Сочетание аносмии с гипогонадизмом наблюдается при вариантных заменах в генах, продукты экспрессии которых контролируют закладку и миграцию ГнРГ-нейронов, а при гипогонадизме без нарушения обоняния - в генах, ассоциированных с секрецией ГнРГ и работой его рецептора[46]. Однако известно, что при вариантных заменах в одном и том же гене может развиваться как синдром Кальмана, так и нормосмический гипогонадизм. Подобная вариабельность клинической картины описана, например, для вариантных замен в генах *FGFR1*, *FGF8*, *PROK2*, *PROKR2*, *WDR11*, *CHD7*[7], [47].

По данным популяционных исследований в Бразилии, Турции, Финляндии, Дании, Северной Америке для пациентов с гипогонадизмом среди мужчин наиболее характерны варианты замены в генах *GNRHR*, *KAL1* и *FGFR1* (табл.1), среди женщин – *FGFR1*, *GNRHR* и *PROKR2*[7], [41], [48], [49]. В китайском исследовании Qin и соавт., проведенном в 2022 году с участием 125 мальчиков с ВИГГ, наиболее часто патогенные варианты определялись в генах *FGFR1*, *PROKR2*, *CHD7* и *ANOS1*[50]. Подобных исследований в российской популяции пациентов с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом не проводилось.

Таблица 1. Наиболее часто встречающиеся гены, ассоциированные с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом: встречаемость, тип наследования и клинические проявления

Ген	Частота	Нерепродуктивный фенотип	Тип наследования
Ген аносмина <i>KAL1 (ANOS1)</i>	4-12% [36], [38]	Бимануальная синкинезия Агенезия почек	X-сцепленное
Ген рецептора факторов роста фибробластов <i>FGFR1</i> Гены факторов роста фибробластов <i>FGF2*</i> , <i>FGF8*</i> , <i>FGF17*</i>	15-20% [49], [51]	Агенезия зубов Расщелина губы и неба Пороки развития конечностей	АД
Ген рецептора ГнРГ <i>GNRHR</i>	7-11% [49], [52]	Не описан	АР
Ген хромодомена ДНК-зависимой хеликазы <i>CHD7</i>	6-16% [53], [54]	CHARGE-синдром	АД

АД – аутосомно - доминантное наследование, АР – аутосомно-рецессивное наследование.

В 1991 году двумя группами авторов, работающими независимо друг от друга, было доказано, что вариантные замены в гене *KAL1* (ранее он именовался как *ANOS1*) ассоциированы с ВИГГ. Спектр нерепродуктивного фенотипа гипогонадизма, ассоциированного с вариантными нуклеотидными заменами в данном гене, включает в себя агенезию почек, так как продукт гена *KAL1* – белок аносмин - экспрессируется в органах мочеполовой системы[38]. По причине того, что ген *KAL1* экспрессируется и в нервной системе, вариантные замены в этом гене часто ассоциированы с развитием бимануальной синкинезии - произвольными движениями одной руки при

произвольных движениях другой (таблица 1). С бимануальной синкинезией многие ежедневные задачи становятся трудновыполнимыми, однако выраженность симптомов с возрастом снижается[55]. Бимануальная синкинезия может сопровождать гипогонадизм при изменениях и в других генах, участвующих в FGF-сигнальном пути, например, в гене рецептора фактора роста фибробластов 1-го типа *FGFR1*[56]. Для данного гена характерна корреляция генотип–фенотип: у 9 из 10 пациентов с патогенными изменениями в гене *FGFR1* и гипогонадизмом имеют место пороки развития одной или обеих конечностей [57], [58] (таблица 1). Спектр других компонентов бесплодного фенотипа при вариантных заменах в гене *FGFR1* включает в себя аномалии расщелина губы и неба[46] и пороки развития зубов[59]. Изменения в генах FGF-сигнального пути встречаются (*FGFR1*, *FGF8*, *KAL1*) встречаются у каждого 4-го пациента с ВИГГ (таблица 1).

Ген *GNRHR* кодирует рецептор к гонадотропин-рилизинг-гормону на гонадотрофах гипофиза. При изменениях в этом гене в большинстве случаев развивается гипогонадизм без нарушений обоняния[52]. Бесплодный фенотип у пациентов с ВИГГ и вариантными заменами в гене *GNRHR*, как правило, не отмечается.

Ген *SOX10* кодирует фактор транскрипции, который влияет на развитие меланоцитов. Вариантные замены в данном гене диагностируются у пациентов с синдромом Ваарденбурга, который представляет собой сочетание гипогонадизма с нейросенсорной тугоухостью, гетерохромией радужки и участками депигментации и аносмией. Вариантные замены в данном гене встречаются у каждого третьего пациента с гипогонадизмом и нарушением слуха[60]. Для синдрома Кальмана, ассоциированного с вариантными заменами в данном гене характерна гетерогенность клинических проявлений: так, у части пациентов, имеющих изменения в гене *SOX10*, развивается только аносмия, у других – гипогонадизм с аносмией, у третьих – синдром

Ваарденбурга с различной степенью нарушения слуха[60]. Доказано, что при вариантных заменах в гене *SOX10*, приводящих к нарушению синтеза белка (LOF-варианты, loss-of-function), то есть при вариантных заменах типа нонсенс, сдвиге рамки считывания, изменениях канонических (+1 или +2) нуклеотидов сайта сплайсинга и т.д., чаще развивается синдром Ваарденбурга, в то время как при изменениях типа миссенс в данном гене гипогонадизм реже сопровождается нарушениями слуха и пигментации[61]. Другим геном-кандидатом при нарушениях слуха в сочетании с гипогонадизмом является ген *CHD7*, изменения в котором выявляются у каждого третьего такого пациента. [60].

1.2.3 Олигогенное и дигенное наследование

Большинство случаев гипогонадизма ассоциированы с вариантными заменами в одном гене. При этом до 20% случаев заболевания могут иметь олигогенное наследование: у таких пациентов изменения выявляются в нескольких генах одновременно[1]. Однако в некоторых популяциях, например, финской, олигогенное наследование среди пациентов с гипогонадизмом встречается гораздо реже[7]. Данных о частоте олигогенизма в популяции российских пациентов с гипогонадизмом не представлено.

1.2.4 Вариабельность фенотипа

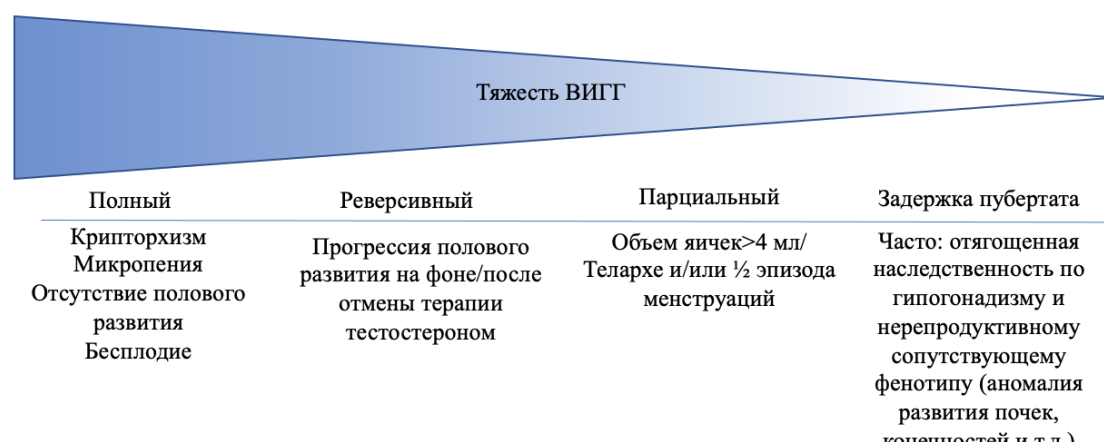


Рисунок 5. Вариабельность фенотипа ВИГГ

Рисунок 1. Полиморфизм клинической картины гипогонадотропного гипогонадизма.

Различают полные, неполные и реверсивные формы гипогонадотропного гипогонадизма (рис.5).

Полные формы гипогонадизма диагностируются у мальчиков, объем яичек у которых в возрасте 14 лет и старше менее 4 мл по данным физикального осмотра. При рождении у 2/3 мальчиков с гипогонадотропным гипогонадизмом отмечается крипторхизм, у 1/3 – микропения [7]. Считается, что микропения и крипторхизм являются клиническими проявлениями наиболее тяжелых форм заболевания[1], [62]. Частота крипторхизма и микропении у российских пациентов с ВИГГ не изучена.

Неполные, или парциальные, формы гипогонадизма наблюдаются в случае частично сохранной секреции гонадотропин-рилизинг-гормона или неполной резистентности рецептора ГнРГ. Неполные формы заболевания наблюдаются при изменениях в генах *FGFR1*, *PROKR2*, *CHD7* и *GNRHR*[7], [63], [64]. При парциальных формах заболевания сохраняется секреция ЛГ, однако с меньшей амплитудой и нарушенной частотой[42], [65]. Мальчики с неполными формами гипогонадизма имеют пубертатный объем яичек (более 4 мл), более высокие базальные уровни тестостерона и более высокие базальные и стимулированные уровни лютеинизирующего гормона. Так, в исследовании Нао и соавт. [63] с участием 122 пациентов объем яичек у юношей с парциальным гипогонадизмом составил $7,0 \pm 3,9$ мл, а у пациентов с полными формами – $1,8 \pm 0,7$ мл ($p < 0,001$). Также у пациентов с неполными формами отмечался более высокий уровень ЛГ на пробе с аналогом ГнРГ: 6,7 [2,8, 12,3] Ед/л против 2,4 [0,6, 3,8] Ед/л в группе пациентов с полными формами заболевания.

Парциальные формы заболевания у девушек проявляются развитием молочных желез и/или несколькими эпизодами менструаций, однако впоследствии половое развитие не прогрессирует[42]. Считается, что среди девушек неполные формы заболевания встречаются чаще, чем среди мужчин, однако данные некоторых исследований не подтверждают это

предположение: так, в проведенном в 2012 году исследовании Laitinen, 83% девушек с синдромом Кальмана и вариантными заменами гена *FGFR1* имели тяжелые полные формы гипогонадизма, в то время как среди мужчин встречались и реверсивные формы заболевания[7].

Реверсивным гипогонадизмом называют такое течение заболевания, при котором у пациента на фоне терапии половыми стероидами, но чаще через несколько месяцев после отмены терапии, наблюдается самостоятельная прогрессия полового развития вплоть до полного восстановления репродуктивной функции. Однако восстановление репродуктивной функции не гарантирует долговременного поддержания фертильности и необходимого уровня половых стероидов в крови, поэтому часто таким пациентам вновь иницируется андрогенная заместительная терапия препаратами тестостерона[1]. 10-20% случаев гипогонадизма являются реверсивными[1], [7]. Одной из причин развития реверсивных форм может являться зависимость экспрессии некоторых генов от уровня половых гормонов в крови[66]. Чаще реверсивный гипогонадизм развивается при вариантных заменах в генах *GNRHR* и *FGFR1*[7].. Молекулярно-генетическая основа развития различных форм ВИГГ изучена в российской популяции недостаточно, как и частота неполных и реверсивных форм среди мальчиков и девочек с ВИГГ.

Проводятся исследования с целью установить ген, вариантные замены в котором приводят к развитию более тяжелых форм гипогонадизма. Так, в исследовании Costa-Barborosa и соавт. у пациентов с вариантными заменами в гене *KAL1* объем гонад составлял $1,5 \pm 0,1$ мл в то время, как у пациентов с изменениями в генах *CHD7*, *FGFR1*, *FGF8*, *NELF*, *PROK2/PROKR2* отмечался вдвое больший объем гонад перед началом лечения ($3,7 \pm 0,3$ мл) [56]. По данным проведенного в 2020 году исследования Li и соавт. у юношей с гипогонадизмом и вариантными заменами в гене *FGFR1* отмечался достоверно меньший объем гонад в сравнении с пациентами с неустановленной молекулярно-генетической основой гипогонадизма[51].

Также среди пациентов с гипогонадизмом, ассоциированным с изменениями в гене *FGFR1*, чаще наблюдался крипторхизм, и кроме этого, им потребовалось больше времени для индукции сперматогенеза. Таким образом, по данным литературы наиболее тяжелые формы гипогонадизма отмечаются при вариантных заменах в генах *FGFR1* и *KAL1*.

Клиническая картина заболевания отличается не только среди пациентов с вариантными заменами в различных генах, но и среди пациентов с одной и той же вариантной заменой: так, в исследовании Raivio и соавт., вариантная замена (B3) Q680X в гене *FGFR1* у пробанда была ассоциирована с гипогонадотропным гипогонадизмом и аномалиями развития губы и неба, у сибса – только с гипогонадизмом, а у их отца - с поздним пубертатом[67]. В исследовании Pitteloud у пробанда отмечался гипогонадизм с нарушением обоняния, у его матери – задержка пубертата, а у его деда – только аносмия, все являлись носителями вариантной замены Arg622X в гене *FGFR1*[68]. Такая различная степень выраженности клинических симптомов заболевания называется варьирующей экспрессивностью.

Кроме варьирующей экспрессивности, в полиморфизм клинической картины вносит вклад неполная пенетрантность: у одного из членов семьи может наблюдаться полная картина гипогонадизма, в то время как другой член семьи может быть здоровым носителем той же самой вариантной замены, но не иметь никаких проявлений заболевания. Так, например, Fadiga и соавт. описывает семью, в которой гетерозиготная патогенная замена в гене *FGFR1* определялась у двух сибсов и отца детей, при этом у мальчика имел место нормосмический гипогонадизм, у его сестры - гипогонадизм с аносмией, а их отец был фенотипически здоров[69]. Неполной пенетрантностью и варьирующей экспрессивностью характеризуется большинство случаев гипогонадизма, наследуемых аутосомно-доминантно[70]. Многие авторы считают, что причиной этому является олигогенизм, то есть сопутствующие изменения в других генах, в том числе не ассоциируемых на настоящий

момент с развитием гипогонадизма и поэтому неисследованных. Однако представленный случай неполной пенетрантности в семье с вариантной заменой в гене *FGFR1*, по-видимому олигогенизмом не обусловлен, так как и детям и отцу было проведено полное секвенирование экзона, которое не выявило других генетических изменений.

Клинический полиморфизм может наблюдаться при различных типах вариантных замен. Так, вариантные замены типа миссенс в гене *CHD7*, приводящие к однонуклеотидной замене и к изменению аминокислоты в белковой последовательности, соответственно, но не влияющие на молекулярную массу экспрессируемого белка, могут быть ассоциированы с синдромом Кальмана или нормосмическим гипогонадизмом[71]. Однако вариантные замены в гене *CHD7* типа нонсенс, проявляющихся более ранней терминацией и, как следствие, образованием белка с более короткой аминокислотной последовательностью, ассоциированы с развитием CHARGE-синдрома[72]. Название синдрома является акронимом, образованным от сложения первых букв английских слов ‘Coloboma’, ‘Heart defect’, ‘Atresia choanae’, ‘Retarded growth and development’, ‘Genital abnormality’, ‘Ear abnormality’. Таким образом, основными клиническими проявлениями CHARGE-синдрома является хориоретинальная колобома или колобома зрительного нерва, пороки сердца, атрезия хоан, задержка роста и умственного развития, гипогонадизм и тугоухость. Распространенность заболевания составляет 1 на 15000-17000 новорожденных[73]. Большинство случаев CHARGE-синдрома являются спорадическими[74]. Вариантные замены в гене *CHD7* диагностируются в 65-90% случаев заболевания[73]–[76]. У пациентов могут встречаться не все компоненты синдрома одновременно. В 1981 Pagon et al. предложили диагностировать синдром у пациентов, имеющих 4 из 6 основных проявлений заболевания, составляющих акроним. В 2005 году Verloes предложил устанавливать диагноз по количеству «больших» и малых критериев. К «большим» компонентам синдрома он предлагал относить

колобому, атрезию хоан и гипоплазию полукружных каналов, а к «малым» - аномалии среднего и наружного уха, поражения 7-12 пар черепных нервов, гипоталамо-гипофизарную недостаточность, включающую гипогонадотропный гипогонадизм и дефицит гормона роста, аномалии сердца и пищевода и умственную отсталость. С учетом количества «больших» и малых критериев предлагалось разделять типичную, парциальную и атипичную формы CHARGE-синдрома [77].

В 2016 году в «большие» диагностические критерии, наряду с колобомой, атрезией хоан или расщелиной неба и аномалиями уха, включающими гипоплазию полукружных каналов, была включена патогенная вариантная замена в гене *CHD7*[76]. К малым критериям Hale и соавт., кроме прочих, относят тугоухость, нарушения глотания, структурные аномалии мозга, в том числе гипоплазию мозолистого тела, моста, нижнего отдела червя мозжечка, аномалию Арнольда-Киари I и др, заболевания аутистического спектра и др. (табл. 2). Для установления диагноза, по Hale et al., достаточно 2 «больших» критериев. Не все составляющие синдрома заметны с рождения. У детей с синдромом CHARGE часто диагностируют мигрень, эпилепсию, катаракту, отслойку сетчатки, сколиоз, а потеря слуха прогрессирует в течение жизни[78].

Клиническая картина гипогонадизма с аутосомно-рецессивным типом наследования может отличаться у пациентов с различными компаунд-гетерозиготными изменениями. В исследовании Beneduzzi и соавт. у пациента с компаунд-гетерозиготными вариантными заменами R139H/p.Q106 в гене *GNRHR* отмечалась картина реверсивного гипогонадизма: на фоне терапии тестостероном отмечалось увеличение объема яичек[5], а после отмены 3-х летней терапии - самостоятельная прогрессия полового развития, которая наблюдалась в течение последующих 4 лет. Впоследствии данному пациенту все-таки потребовалась андрогенная терапия препаратами тестостерона, что часто наблюдается при реверсивных формах гипогонадизма[79].

Таблица 2. Диагностические критерии CHARGE-синдрома (Hale, 2016[76]).

Большие критерии	Малые критерии
1. Колобома 2. Атрезия хоан или расщелина неба 3. Аномалии наружного, среднего или внутреннего уха, включая гипоплазию полукружных каналов 4. Патогенная вариантная замена в гене <i>CHD7</i>	1. Дисфункция черепных нервов, включая тугоухость 2. Нарушения глотания/трудности с кормлением 3. Структурные аномалии мозга 4. Задержка развития/умственная отсталость/заболевания аутистического спектра 5. Гипоталамо-гипофизарная недостаточность (гипогонадотропный гипогонадизм/дефицит гормона роста) 6. Пороки сердца или пищевода 7. Аномалии почек/скелета/конечностей

Диагноз устанавливается при наличии 2 больших критериев и любого количества малых.

Клиническая картина реверсивного гипогонадизма обусловлена в данном случае сочетанием двух «легких» вариантных замен: вариантные замены Q106R и R139N характеризуются частично сохранной активностью рецептора [7], [80]–[82]. По этой же причине гомозиготная вариантная замена Q106R ассоциирована с развитием неполных форм гипогонадизма [64], [83]. Напротив, биаллельные компаунд-гетерозиготные замены, обе из которых приводят к полной резистентности рецептора, ассоциированы с развитием тяжелых полных форм заболевания[79].

Вариабельность фенотипа в части случаев обусловлена олигогенным наследованием, как упоминалось выше. Так, наличие одной вариантной

замены R296W в гене *HS6ST1* не во всех случаях ассоциировано с развитием гипогонадизма, несмотря на аутосомно-доминантное наследование заболевания[84]. В случаях олигогенизма и имеющейся еще одной вариантной замены R250Q в гене *FGFR1* клиническая картина гипогонадизма развивается чаще[84]. Это объясняется важной ролью гепарансульфат6-сульфотрансферазы, продукта экспрессии гена *HS6ST1*, в обеспечении взаимодействия между фактором роста фибробластов (ФРФ) или аносмина с рецептором ФРФ. Нарушение структуры и гепарансульфат6-сульфотрансферазы, и рецептора фактора роста фибробластов приводит к развитию клинической картины гипогонадизма, в то время как изменение структуры одного из этих белков может не сопровождаться развитием заболевания.

Олигогенностью в некоторых случаях объясняется наличие аносмии у пациентов с вариантными заменами в генах, которые не ассоциированы с закладкой и миграцией ГнРГ-нейронов. Так, в исследовании, проведенном в 2021 году, у 1 из 16 пациентов с гипогонадизмом, ассоциированным с вариантными заменами в гене *GNRHR*, отмечалась аносмия, причиной которой, по – видимому, являлся патогенный гемизиготный вариант в гене *ANOS1* изменений, который также был диагностирован у пациента [82].

В полиморфизм сопутствующих клинических проявлений вносит вклад синдром потери генных последовательностей (contiguous gene deletion syndrome). Гипогонадотропный гипогонадизм может сопровождаться ихтиозом, ожирением, страбизмом, дислипидемией и аутизмом в случае выпадения протяженного участка короткого плеча X-хромосомы, на котором картируются гены *KAL1*, *STS*, *NLGN4*, *GPR143*, *NLGN4X*, *VCX-A*, *PUDP*, *PNPLA4* и другие[85], [86]. Диагностика этих нарушений возможна с помощью методов, определяющих структурные изменения количества генетического материала, например, посредством хромосомного микроматричного анализа (ХМА) [87], MLPA (метод мультиплексной

амплификации лигированных зондов, multiplex ligation-dependent probe amplification) или полногеномного секвенирования с неглубоким покрытием. Таким образом, особенности клинической картины должны учитываться при выборе приоритетного метода исследования.

1.2.5 Обонятельная функция и размеры обонятельных луковиц у пациентов с врожденным гипогонадотропным гипогонадизмом

Обычно диагноз «Синдром Кальмана» устанавливается на основании жалоб пациента на нарушения обоняния. Иногда пациенты отмечают способность слышать определенные запахи, например, запах мяты, так как он стимулирует и обонятельный, и тройничный нервы[88]–[90]. Объективно оценить обонятельную функцию пациента возможно с помощью электрофизиологического метода обонятельных вызванных потенциалов, который является золотым стандартом диагностики нарушений обоняния и предполагает запись реакций различных структур головного мозга на обонятельные стимулы[91]. Однако такой метод чаще используется в научных исследованиях, чем в рутинной практике. Для диагностики нарушений обоняния у пациента клиницисты применяют ольфактометрические исследования. Наиболее часто для диагностики нарушений обоняния у пациентов с гипогонадизмом применяются UPSIT тест (University of Pennsylvania Smell Identification Test) и Sniffin' Sticks Test[92], [93]. В некоторых странах применение стандартизированных ольфактометрических тестов ограничено по причине незнакомых населению запахов или их названий, поэтому могут быть использованы их аналоги или адаптированные версии [92], [94], [95]. Исследований по оценке обонятельной функции в российской когорте подростков с ВИГГ не проводилось.

Проводить оценку обоняния у детей психофизическими методами предлагается с возраста 5-6 лет, однако единого мнения о том, какой именно ольфактометрический тест необходимо для этого использовать, нет[96]. По данным исследования 2015 года наиболее предпочтительным для применения

у детей является Sniffin' Sticks Test в виду возможности его многократного использования и меньшего количества необходимых для определения запахов в сравнении с UPSIT тестом[97]. Классическая версия Sniffin' Sticks Test предполагает определение 16 запахов, не все из которых детям знакомы[96], поэтому для оценки обонятельной функции у детей предлагаются различные модифицированные и адаптированные версии Sniffin' Sticks Test [96], [98], [99], однако они не применялись в исследованиях у пациентов с гипогонадизмом. В исследованиях с участием данной когорты пациентов, кроме классической версии теста, применяется его укороченный скрининговый вариант, предполагающий определение 12 запахов (12 Item Screening Sniffin' Sticks Test)[90], [93].

Данные о корреляции между субъективной оценкой обоняния посредством опросников и результатами ольфактометрии противоречивы. В исследовании Yu и соавт. результаты ольфактометрии совпали с результатами самостоятельной оценки обонятельной функции у 94,4% пациентов с гипогонадизмом[100]. В других работах такая корреляция установлена не была[101]: эпидемиологическое исследование 2022 года с участием 405 взрослых норвежцев не выявило корреляции между субъективной оценкой обоняния и результатами ольфактометрии[102]. В исследовании Jagtap и соавт. 42% пациентов с гипогонадизмом (12 из 28), определяющих собственную обонятельную функцию как нормальную, набрали недостаточное количество баллов по результатам UPSIT теста, что позволило диагностировать у них аносмию[92].

В детской популяции по данным исследования 2022 года не было установлено корреляции между результатами самостоятельной оценки обонятельной функции путем опросников и данными ольфактометрии ни в группе детей от 6 до 11 лет, ни в группе подростков 12-17 лет[103]. Таким образом, использование скрининговых психофизических ольфактометрических тестов в диагностике гипо- и аносмии более

предпочтительно, так как субъективная оценка обоняния путем опросников, особенно при нарушении обоняния легкой степени, обладает низкой чувствительностью и специфичностью[104].

Обоняние нарушается не только при синдроме Кальмана. По результатам исследования Leopold и соавт. из 22 пациентов с нарушением обоняния синдром Кальмана отмечался только у 1[105]. Еще у двоих пациентов из исследования наблюдалось сужение хоан. Другими причинами аносмии могут являться травмы, переломы решетчатой кости, вирусная инфекция, опухоли головного мозга, менингиомы обонятельной борозды, сосудистые нарушения, атрофический риносинусит[106]–[108]. Перед установлением диагноза «синдром Кальмана» другие причины заболевания должны быть исключены.

Обонятельные луковицы считаются органом, размер которого прямо коррелирует с их функцией. Так, предполагалось, что аносмия у пациентов с синдромом Кальмана ассоциирована с полным отсутствием обонятельных луковиц в обонятельной ямке, т.е. с двусторонней аплазией, а гипосмия – с гипоплазией, то есть с уменьшением размеров луковиц. Данные исследований частично подтверждают это предположение: объем обонятельных луковиц у пациентов с синдромом Кальмана достоверно меньше, чем у пациентов с нормосмическим гипогонадизмом[100]. Насquart и соавт. установили, что 68% случаев синдрома Кальмана ассоциированы с двусторонней аплазией обонятельных луковиц по данным МРТ головного мозга, в 13% - с односторонней[109]. По результатам исследования 2022 года двусторонние изменения обонятельных луковиц наблюдались в 52% случаев синдрома Кальмана[110]. Двусторонние нарушения во всех случаях сопровождались аносмией, а односторонние – только в половине случаев ($p=0,03$). В исследовании Yu et al. аплазия обеих луковиц была выявлена у 96% пациентов с синдромом Кальмана (27/28), при этом у 1 пациента с гипогонадизмом и аносмией отмечались нормальные размеры обонятельных луковиц [100].

Причиной нарушения обоняния при сохранных обонятельных луковицах, возможно, является нарушение контакта между ольфакторным нейроном и луковицей [105].

Во многих исследованиях подтверждена корреляция между размером обонятельных луковиц и результатами субъективных психофизических ольфактометрических тестов [92]–[94], [111], [112]. Наличие этой взаимосвязи предполагает, что пациенты с гипогонадизмом без нарушения обоняния имеют нормальные размеры обонятельных луковиц. Однако уменьшение размеров луковиц или их отсутствие отмечается в том числе у пациентов с ненарушенной обонятельной функцией: так, в статье Yu и соавт. изменение размеров луковиц у пациентов с гипогонадизмом без нарушения обоняния отмечалось в 22% случаев, то есть практически у каждого пятого пациента с НВИГГ (у 6 из 27) [100].

Нормосмию при односторонних изменениях луковиц авторы объясняют ненарушенной функцией второй луковицы. Объяснить отсутствие нарушений обоняния при полной двусторонней аплазии луковиц сложнее, но и такие случаи описаны в литературе: по результатам исследования Yu и соавт. обе обонятельные луковицы отсутствовали у 3 из 27 пациентов с нормосмическим гипогонадизмом. Причина отсутствия нарушений обоняния при двусторонней аплазии на настоящий момент неизвестна. Известно, что обонятельная функция нормосмических пациентов с изменениями луковиц может ухудшиться с возрастом, поэтому у таких пациентов предлагается неоднократно проводить ольфактометрические исследования в течение жизни [113].

Исследований, оценивающих обонятельную функцию, размеры обонятельных луковиц и их корреляцию между собой с участием российских подростков с гипогонадотропным гипогонадизмом не проводилось.

1.2.6 Индукция пубертата при врожденном изолированном гипогонадотропном гипогонадизме

Существует несколько принципиально разных подходов к индукции пубертата у подростков с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом: возможна терапия препаратами тестостерона или препаратами гонадотропинов. Терапия смесью эфиров тестостерона приводит к достаточной андрогенизации, увеличению полового члена, пигментации и отвисанию мошонки, прогрессированию оволосения. Такая терапия имеет прямой дозозависимый эффект и требует 1 инъекции препарата каждые 21 день. Однако введение «готовых» препаратов тестостерона не приводит к увеличению объема гонад и индукции сперматогенеза.

С целью индукции пубертата у мальчиков может применяться монотерапия хорионическим гонадотропином или комбинированная стимулирующая терапия хорионическим гонадотропином и рекомбинантным фолликулостимулирующим гормоном. Применение препаратов хорионического гонадотропина позволяет увеличить объем яичек и индуцировать сперматогенез за счет способности ХГч связываться с ЛГ-рецептором на клетках Лейдига, так как альфа-субъединицы гормонов ЛГ и ХГч общие, а аминокислотная последовательность бета-субъединиц различаются в области С-терминального конца, сайтов гликозилирования и β -L2 петли лишь частично[114]. По данным метаанализа 2020 года разницы между группами пациентов, получающих монотерапию ХГч или комбинированную стимулирующую терапию, в отношении увеличения объема яичек и длины полового члена не выявлено, однако сочетанная терапия гонадотропинами позволила достичь более высоких уровней тестостерона[115]. В исследовании 2012 года добавление препаратов рФСГ позволило добиться индукции сперматогенеза у всех пациентов, в то время как на фоне монотерапии сперматогенез отмечался только у трети[116].

Одним из критериев эффективности терапии у взрослых пациентов с

гипогонадотропным гипогонадизмом является индукция сперматогенеза. Ответ на терапию разнится у пациентов с полными и парциальными формами заболевания: так, по данным исследования Miyagawa и соавт. индуцировать сперматогенез на фоне терапии гонадотропинами удалось у 36% пациентов с полными формами и у 71% пациентов с парциальными формами заболевания. В подобном исследовании Нао и соавт. 2020 года удалось достичь сперматогенеза у большего количества пациентов с полными формами (у 74,7%), однако и в этом исследовании в группе пациентов с неполными формами терапия гонадотропинами была более эффективна (у 92,3%, $p=0,023$). Более того, пациентам с полными формами гипогонадизма потребовалось больше времени для достижения сперматогенеза[63].

Единого мнения о том, ухудшает ли предшествующая терапия тестостероном эффективность ответа на терапию гонадотропинами, на настоящий момент нет. По данным исследования Liu и соавт., проведенного в 2012 году, предшествующая терапия тестостероном снижает вероятность зачатия естественным путем[117]. По данным исследования 2017 года Kohn и соавт. продолжительная терапия тестостероном, предшествующая терапии гонадотропинами, ухудшала параметры спермограммы[118], в связи с чем некоторые авторы считают, что терапия тестостероном не должна применяться в случаях, когда пациент желает сохранить фертильность[115]. Однако по данным более поздних исследований (2019 и 2023 гг.), предшествующая терапия препаратами тестостерона не ухудшала ответ на терапию гонадотропинами[119], [120]. Также проводились исследования, изучающие влияние предшествующей терапии тестостероном у пациентов с парциальными формами гипогонадотропного гипогонадизма при объеме яичек менее 3 мл до начала терапии и полными вариантами ВИГГ[121]: количество сперматозоидов в 1 мл у пациентов с полными формами заболевания и предшествующей терапией тестостерона составило 0 млн/мл, а у пациентов, не получавших терапии андрогенами, - 7 млн/мл

($p=0,01$), однако статистически достоверной разницы в других показателях спермограммы между группами выявлено не было.

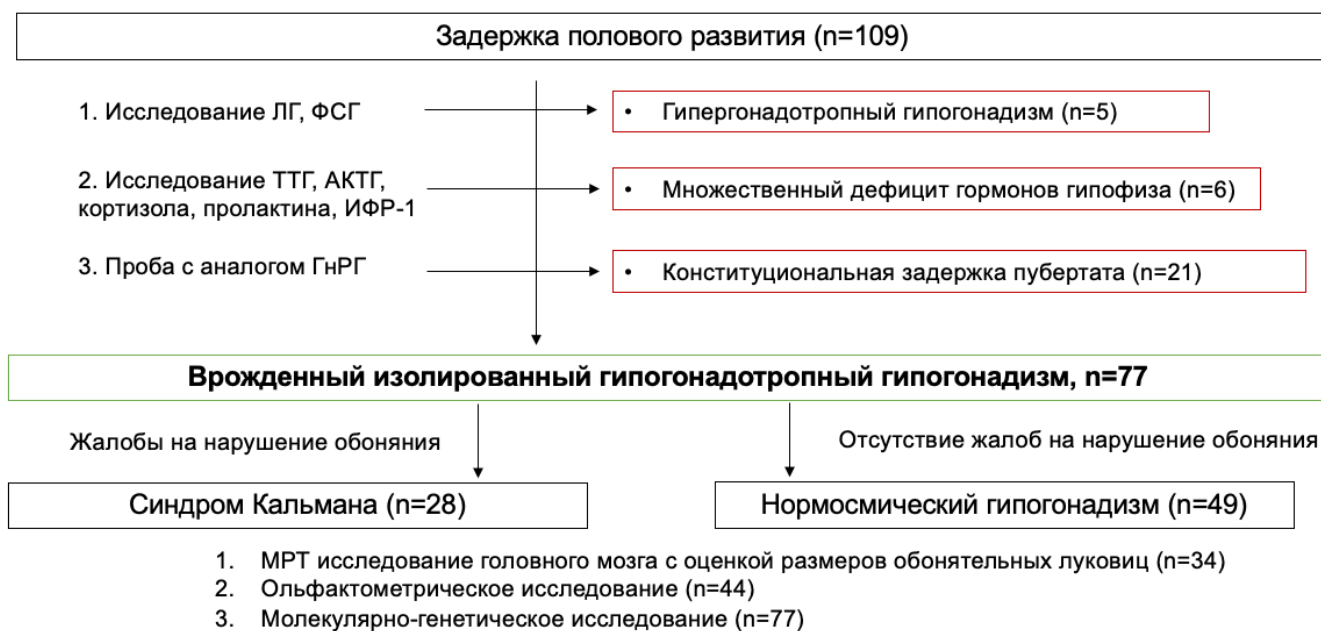
Результаты спермограммы обычно не используются с целью оценки эффективности терапии гонадотропинами в исследованиях с участием подростков по этическим причинам. Критериями эффективности терапии у юношей, кроме увеличения объема яичек, считают снижение уровня АМГ и повышение ингибина В, что свидетельствует о созревании и дифференцировке клеток Сертоли, которое возможно только в условиях высокой внутритестикулярной концентрации тестостерона и наличии рецепторов к нему на мембране большинства клеток. К 5 месяцам жизни мальчика рецепторы к андрогенам определяются только на небольшом количестве клеток Сертоли[122], чем объясняется отсутствие дифференцировки клеток Сертоли на фоне высокого уровня тестостерона в период мини-пубертата. К 8 годам рецепторы к андрогенам экспрессируются на 90% клеток Сертоли[122]. Связывание внутритестикулярного тестостерона с рецептором к андрогенам на клетках Сертоли ингибирует экспрессию АМГ[122]. Дополнительным фактором снижения экспрессии и секреции АМГ является сопутствующее созреванию и дифференцировке клеток Сертоли увеличение количества герминативных клеток в гонадах[122]. Секреция альфа-субъединицы ингибина В в созревающих клетках Сертоли, напротив, увеличивается[123]. Предполагается, что созревание бета-субъединицы ингибина В возможно только в условиях сперматогенеза [122], [123]. Более высокий уровень ингибина В до начала лечения считается одним из предикторов эффективности терапии гонадотропинами[124]. Работ, посвященных инициации пубертата гонадотропинами у мальчиков с ВИГГ, в России практически не проводилось: в отечественной литературе описан только один клинический случай лечения мальчика с гипогонадотропным гипогонадизмом препаратами ХГч и рФСГ [125].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего в исследование включено 125 детей от 13,0 до 17,9 лет: 109 детей с задержкой полового развития и 16 детей – группа сравнения.

Из 109 обследованных детей с задержкой полового развития были исключены дети с конституциональной задержкой пубертата, гипергонадотропным гипогонадизмом и множественным дефицитом гормонов гипофиза. Пациенты с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом (n=77) были включены в дальнейший анализ (рис.6). Затем на основании жалоб на нарушение обоняния были сформированы подгруппы детей с синдромом Кальмана и нормосмическим ВИГГ.

I этап - Диагностика



II этап - Лечение

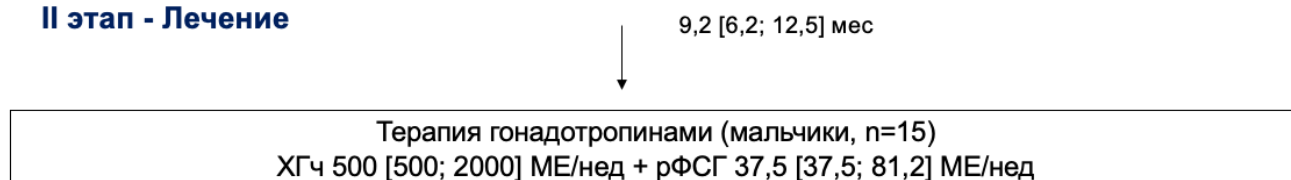


Рисунок 6. Дизайн исследования

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

Продолжительность исследования. Набор и обследование пациентов проводились с ноября 2020 г. по март 2023 г.

Критерии включения в основную группу:

Критерии включения в основную группу:

- Мальчики 14 лет и старше с объемом яичек менее 4 мл по орхидометру Прадера (полная форма ВИГГ) и мальчики с объемом яичек более 4 мл по орхидометру Прадера и арестом пубертата в течение 1 года (неполная форма ВИГГ)
- Девочки с отсутствием телархе и менархе в возрасте 13 лет и старше (полная форма ВИГГ) и девочки с телархе и отсутствием менархе в возрасте 15 лет или 1-2 эпизодами менархе с последующим развитием вторичной аменореи (неполная форма ВИГГ)
- Костный возраст более 12 лет у мальчиков и более 11 лет у девочек
- Уровень ЛГ на пробе с аналогом ГнРГ менее 8 Ед/л
- Подписание родителями информированного согласия на включение в исследование.

Критерии невключения:

- Множественный дефицит гормонов гипофиза
- Функциональный гипогонадизм на фоне некомпенсированных хронических заболеваний
- Приобретенный гипогонадотропный гипогонадизм
- Гипергонадотропный гипогонадизм
- Отказ родителей от подписания информированного согласия

Способ формирования выборки

Сплошной способ формирования выборки.

Исследование состояло из **2 этапов**, **I этап** - из **2 фрагментов**.

I этап 1 фрагмент - одноцентровое одномоментное описательное исследование: обследование пациентов включало сбор жалоб, анамнеза жизни и заболевания, семейного анамнеза. Всем пациентам проводилось исследование антропометрических параметров. Расчет показателей SDS роста, массы тела, индекса массы тела, сегментов тела производился посредством компьютерной программы Auxology 1,0 b17 (Pfizer, США). Половое развитие оценивалось по классификации Таннер. Для оценки объема яичек у мальчиков использовался орхидометр Прадера.

Лабораторная диагностика: базальные концентрации тестостерона, базальные и стимулированные уровни ЛГ и ФСГ оценивались посредством усиленной хемилюминесценции с помощью автоматического иммунохимического анализатора Vitros 3600 (Ortho Clinical Diagnostics, Johnson& Johnson, США (заведующая лабораторией - Никанкина Л.В.)). Всем пациентам был проведен тест с аналогом ГнРГ (бусерелин 300 мкг интраназально) с оценкой ЛГ и ФСГ на 0, 60 и 240-й минутах теста. В исследование включались пациенты с отрицательным ответом на пробе (уровень ЛГ менее 8 Ед/мл во всех точках). Уровень ингибина В (Inhibin B Gen II ELISA) и АМГ (AMH Gen II ELISA) оценивался методом иммуноферментного анализа с помощью наборов Beckman Coulter (Beckman Coulter, Inc., США).

Инструментальная диагностика: ультразвуковое исследование **органов мошонки** проводилось на ультразвуковом сканере (Voluson E8, GE Healthcare, Австрия) с использованием линейного датчика с частотой 10–12 МГц (врачом – специалистом ультразвуковой диагностики Артемовой А.М.). Объем тестикул рассчитывался, используя формулу объема эллипсоида $0,52 \times$

d1 x d2 x d3.

Дифференцировка костей скелета оценивалась путем проведения рентгенографии кистей рук и лучезапястных суставов в прямой проекции в референс-центре лучевых методов диагностики ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (рук.-Тарбаева Н.В.), определение костного возраста проводилось по рентгенологическому атласу W. Greulich и S. Pyle.

Ольфактометрическое исследование методом принудительного выбора Sniffin' Sticks Screening 12 Item test (Burghart Messtechnik, Германия) проведено 44 пациентам без сопутствующих заболеваний, которые могут сопровождаться anosmией (нейродегенеративные заболевания, голопроэнцефалия, аллергический ринит, оперативные вмешательства в области носа, травмы головы в анамнезе – критерии исключения из данного фрагмента исследования). Ольфактометрическое тестирование предполагало определение пациентами 12 различных запахов и выбор из 4-х предложенных вариантов. Нормосмия устанавливалась в случае, если пациент набирал 11-12 баллов по результатам теста, гипосмия – 9-10 баллов, anosmia – 0-8 баллов. Ольфактометрическое исследование проводилось Кокоревой К.Д. и Чугуновым И.С.

Молекулярно-генетическое исследование проведено всем детям с ВИГГ (n=77) в лаборатории Лаборатория генетики моногенных эндокринных заболеваний ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Исследование методом массового параллельного секвенирования следующего поколения (NGS) с применением панели «Гипогонадотропный гипогонадизм» (платформа Illumina методом парно-концевого чтения (2x150 п.о.) со средней глубиной покрытия – 392,90x, процент целевых нуклеотидов с эффективным покрытием >10x – 99,99%). В состав исследования были включены следующие 53 гена: *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, MTPP, NR0B1, NSMF, NTRK2, PCSK1, PNPLA6, POLR3A, POLR3B, PROK2, PROKR2, PROP1, RBM28, RNF216, RXFP2, SEMA3A, SH2B1, SIM1, SOX10, SPRY4, TAC3, TACR3, TTC8, WDR11 проводилось 71 пациенту. Выявленные варианты классифицировались согласно критериям American College of Medical Genetics (ACMG). Пациентам с выраженными стигмами дисэмбриогенеза (n=2) проводилось полноэкзомное секвенирование. Пациентам с ихтиозом (n=2) проводилось полногеномное секвенирование с неглубоким покрытием для выявления протяженных делеций. Патогенные, вероятно патогенные и вариантные замены с неизвестной клинической значимостью считались изменениями, объясняющими развитие ВИГГ. Другим пациентам с ихтиозом (n=2) проводилось цитогенетическое исследование методом хромосомного микроматричного анализа.

I этап 2 фрагмент: в рамках данного фрагмента проводилась оценка размеров обонятельных луковиц (высота и ширина правой и левой луковиц) 34 пациентам с гипогонадизмом. 16 пациентам из группы сравнения на аппарате «Magnetom Harmony» (Siemens, Германия) с напряженностью магнитного поля 1,5 Тесла в T1 и T2 взвешенных режимах (врачами д.м.н. Воронцовым А.В., Владимировой В.П., Хайриевой А.В.).

Критерии включения в группу сравнения: мальчики старше 14 лет, девочки старше 13 лет с эндокринной офтальмопатией, которым проводилась оценка размеров обонятельных луковиц при проведении магнитно-резонансной томографии орбит; подписание родителями информированного согласия.

II этап: 15 мальчиков с ВИГГ получали сочетанную андроген-стимулирующую терапию препаратами хорионического гонадотропина человека (ХГч) и рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в течение $9,2 \pm 3,9$ мес.

Дизайн данного этапа исследования: проспективное

несравнительное исследование (до-после).

Начальная доза препаратов ХГч составила 500,0 [500,0; 2000,0] МЕ в неделю, рФСГ - 37,5 [37,5; 81,3] МЕ в неделю. У всех пациентов доза получаемых препаратов была увеличена в два раза через 6 мес терапии.

Через $9,2 \pm 3,9$ мес терапии проводился контроль антропометрических данных, проводились все указанные выше лабораторные исследования, кроме молекулярно-генетических, УЗИ органов мошонки и рентгенография кистей рук. Оценка концентрации тестостерона на фоне лечения проводилась через 48 ч от инъекции препаратов ХГч и рФСГ.

Способ формирования выборки на данном этапе исследования

Сплошной способ формирования выборки. Небольшой объем выборки ($n=15$) объясняется отказом большинства родителей мальчиков с ВИГГ от включения в исследование по причине нежелания получать отличное от препаратов тестостерона лечение, требующее большей кратности инъекций и визитов к врачу для титрации дозы получаемых препаратов.

Статистический анализ

Размер выборки не был рассчитан предварительно, что обусловлено низкой частотой врожденного изолированного гипогонадотропного гипогонадизма. По причине небольшого объема выборки при обработке данных использованы непараметрические тесты. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха: Me [Q1;Q3]. 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. Для выявления статистически значимых различий между количественными признаками двух зависимых групп был использован критерий Уилкоксона. Для качественных признаков был использован Хи-квадрат Пирсона, а при его неприменимости - двусторонний точный критерий Фишера. 95-процентный доверительный интервал (ДИ) для

относительных частот рассчитан с помощью метода Клоппера–Пирсона с использованием интернет-калькулятора www.graphpad.com/quickcalcs/confinterval1. Корреляционный анализ проводился методом Спирмена. Расчет данных производился с помощью статистического пакета Statistica 12 (StatSoft inc., США). Уровень $p < 0,05$ считался статистически значимым. С целью решения проблемы множественных сравнений применялся p -value, скорректированный поправкой Бонферрони.

Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Локальным Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Протокол № 18 от 11/10/2020).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клиническая характеристика пациентов

В исследовании приняли участие 62 мальчика и 15 девочек (рис.7). Медиана (Me) возраста детей на момент постановки диагноза ($n=77$) составила 15,4 года [10,0; 17,9]. Среди девочек с ВИГГ отмечалась тенденция к установлению диагноза в более позднем возрасте в сравнении с мальчиками (13,9 лет [13,0; 15,1] у мальчиков против 16,5 [16,0; 17,3] у девочек, $p=0,042$ при пороговом p -value после применения поправки Бонферрони= $0,003$), что, по-видимому, объясняется преобладанием у девочек неполных форм заболевания (половая стадия по Таннер 1 1 [1; 1] у мальчиков против 2 [1; 3] у девочек, $p=0,002$) (табл.3).

Мальчики и девочки с ВИГГ имели нормальные показатели роста и веса (табл. 3). У большинства пациентов отмечалось половое оволосение. У всех пациентов отмечались допубертатные базальные уровни ЛГ и ФСГ. У большинства пациентов с ВИГГ наблюдалось отставание костного возраста от паспортного более чем на 2 года.

Жалобы на нарушения обоняния предъявляли более трети пациентов ($n=28$, 36,3%, 95% ДИ [25,7; 48,1]), в связи с чем они были включены в подгруппу пациентов с синдромом Кальмана. Пациентам, не предъявлявшим



Рисунок 7. Процентное распределение участников исследования по полу

жалоб на нарушения обоняния, был установлен диагноз «нормосмический гипогонадотропный гипогонадизм».

Таблица 3. Клинико-гормональная характеристика детей

Показатель	Мальчики Me [Q1; Q3]* (n=62)	Девочки Me [Q1; Q3]* (n=15)	p**
Возраст постановки диагноза, лет	13,9 [13,0; 15,1]	16,5 [16,0; 17,3]	0,042
SDS роста, SD	-0,8 [-1,6; 0,1]	-1,0 [-1,5; 0,6]	0,424
SDS ИМТ, SD	0,5 [-0,5; 1,5]	0,6 [-1,3; 1,0]	0,656
SDS верхнего сегмента, SD	-2,2 [-1,3; -2,7] (n=37)	-1,1 [-0,3; -3,2] (n=8)	0,377
SDS нижнего сегмента, SD	0,1 [-0,9; 1,1] (n=37)	0,9 [-1,0; 1,7] (n=8)	0,449
Половое развитие по Таннер, стадия	1 [1; 1]	2 [1; 3]	0,002
Пубархе (Р), стадия	2 [1; 2]	3 [2; 3]	0,002
Базальный уровень ЛГ, Ед/л	0,2 [0,2; 0,3]	0,2 [0,2; 0,3]	0,505
Базальный уровень ФСГ, Ед/л	0,7 [0,7; 1,0]	0,7 [0,6; 0,8]	0,327
АМГ, нг/мл	20,1 [12,1; 39,2] (n=52)	3,1 [1,0; 4,2] (n=13)	
Ингибин В, пг/мл	39,2 [12,6; 75,6] (n=53)	11,8 [10,0; 14,1] (n=11)	
Половые стероиды (тестостерон – мальчики, эстрадиол – девочки), нмоль/л	0,6 [0,4; 0,7]	61,2 [45,8; 78,0]	
Костный возраст, лет	13,1 [12,5; 13,5]	12,5 [11,5; 13,5]	0,618
Мах уровень ЛГ на пробе с аналогом ГнРГ, Ед/л	1,4 [0,6; 3,6]	1,7 [1,1; 3,9]	0,890
Мах уровень ФСГ на пробе с аналогом ГнРГ, Ед/л	3,6 [2,2; 4,3]	4,1 [2,2; 6,3]	0,478
Объем яичек по орхидометру Прадера, мл	1,5 [1,0; 2,5]	-	
Длина матки, мм	-	31,0 [28,0; 35,0]	
Средний объем яичников (правый+левый/2), мл	-	1,2 [0,3; 2,1]	
Ольфактометрическое исследование, баллы	5 [2; 11] (n=34)	6 [4; 12] (n=10)	0,005

*

С целью оценки репрезентативности изучаемой выборки использовались данные исследования Federici и соавт. 2022 г. [126], табл.4.

Таблица 4. Сравнение изучаемой выборки пациентов с генеральной совокупностью по данным исследования Federici и соавт.[126]

Параметр	Изучаемая выборка (n=77)	Выборка исследования Federici 2022 (n=334)
Пол, %, 95% ДИ	80,5% [69,9; 88,6] - мальчики 19,5% [11,3; 30,0] - девочки	72,2% [67,0; 76,9] - мальчики 27,8% [23,1; 32,9] - девочки
Возраст, годы, Ме, 95% ДИ	15,4 [10,0; 17,9]	16,9 [13,8; 18,0]
Форма ВИГГ, %, 95% ДИ	43,5% [36,1; 48,9] - СК, 56,5% [51,0; 61,8] - НВИГГ	36,3% [25,7; 48,1] – СК 63,6% [51,8; 74,3] - НВИГГ

СК-Синдром Кальмана,

НВИГГ – нормосмический врожденный изолированный гипогонадотропный гипогонадизм

На основании представленных в таблице данных с высокой долей вероятности можно считать, что выборка являлась репрезентативной, а результаты исследования могут быть экстраполированы на генеральную совокупность.

3.2 Клинический полиморфизм ВИГГ у детей

3.2.1. Клинический полиморфизм формы ВИГГ

Полная форма заболевания была диагностирована у 62 из 77 пациентов (80,5%, 95% ДИ [69,9; 88,6]). Неполная форма была диагностирована у 12 из 77 пациентов (15,6%, 95% ДИ [8,3; 25,6]). Реверсивная форма заболевания отмечалась только у мальчиков (3/77, 3,9%, 95% ДИ [0,8; 10,9]), рис.8.

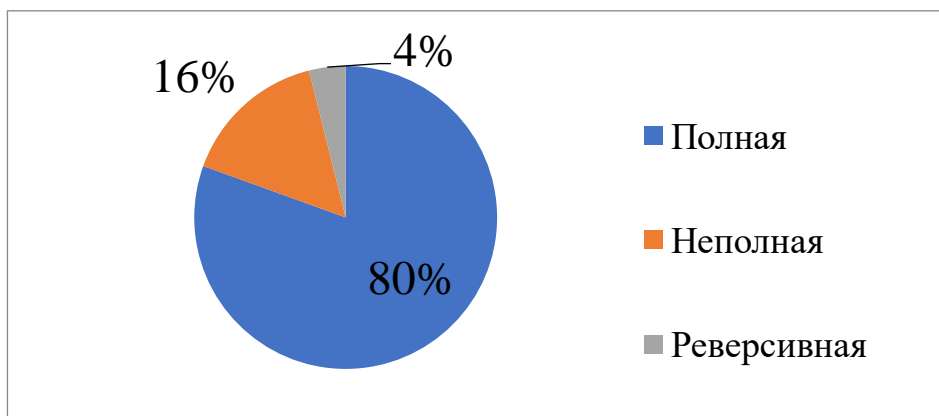


Рисунок 8. Процентное распределение участников исследования по форме ВИГГ

У мальчиков с неполной формой заболевания отмечались достоверно больший объем яичек по орхидометру Прадера (6,5 мл [4,2; 8,5] против 1,5 [1; 2,25], $p < 0,01$), более высокие базальные уровни ингибина В (199,2 пг/мл [168,9; 254,2] против 27,6 пг/мл [13,3; 58,3], $p < 0,001$) и ЛГ (0,7 [0,5; 1,2] против 0,2 [0,2; 0,3], $p < 0,006$). Достоверной разницы между стимулированными уровнями ЛГ на пробе с аналогом ГнРГ в подгруппах после применения поправки Бонферрони не выявлено ($p = 0,039$).

У девочек неполная форма заболевания встречалась достоверно чаще: 53,3%, 95% ДИ [26,6; 78,7] у девочек против 6,4%, 95% ДИ [1,7; 15,7] у мальчиков ($p < 0,0001$ по точному критерию Фишера), рис. 9А, 9Б. Реверсивная форма заболевания наблюдалась только у мальчиков.

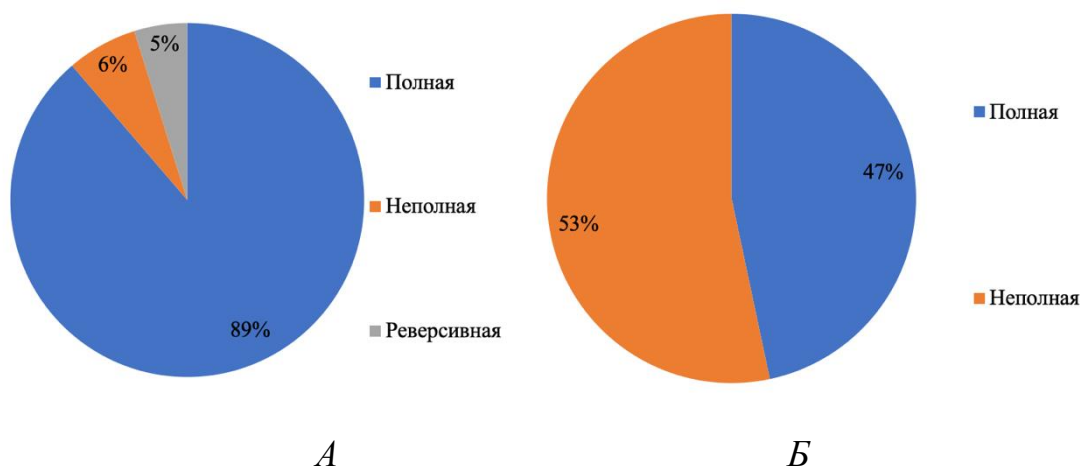


Рисунок 9. Клинический полиморфизм форм ВИГТ: гендерные различия:

А-формы ВИГТ у мальчиков, Б-формы ВИГТ у девочек

Клинический случай №1 демонстрирует развитие неполной формы гипогонадизма у девочки с компаунд-гетерозиготными заменами в 1 экзоне гена *GNRHR*.

Клинический случай №1.

Пациентка К, 16,5 лет. Поступила с жалобами на отсутствие менструаций. У девочки с 12 лет отмечается увеличение грудных желез. Значимого снижения веса в последнее время не отмечалось, наличие хронических некомпенсированных заболеваний отрицает. При осмотре - 3 стадия полового развития по Таннер (В3, Р3). Отмечалось формирование диспропорции сегментов тела ($SDS BC: -0,87$, $SDS HC: -2,05$). В гормональном профиле 0 низкий уровень ЛГ 0,41 Ед/л, ФСГ 1,29 Ед/л и эстрадиола - 18 пмоль/л, ингибин В - 13,4 пг/мл, АМГ - 3,34 нг/мл. По данным УЗИ органов малого таза длина матки 35 мм, правый яичник объемом 3 мл, левый - 4,2 мл с единичными фолликулами до 2 мм, М-эхо - в виде тонкой полоски. По рентгенографии кистей рук и лучезапястных суставов костный возраст оценивался на 12 лет. По результатам пробы с аналогом ГнРГ максимальный уровень ЛГ - 4,74 Ед/л. По результатам ольфактометрического исследования - нормосмия (11 баллов из 12). Наследственный анамнез неотягощен.

Таким образом, с учетом 3 стадии полового развития по Таннер, а также результатов УЗИ органов малого таза (объем яичников 3-4 мл) у девушки была диагностирована парциальная форма нормосмического гипогонадотропного гипогонадизма и рекомендована заместительная гормональная терапия препаратами эстрогенов. Однако пациентка отказалась от приема гормональной терапии. Через 4 месяца у пациентки наблюдалось менархе с последующими регулярными менструациями в течение 3 месяцев. За девочкой продолжено динамическое наблюдение.

По данным молекулярно-генетического исследования выявлены две вариантные замены в 1 экзоне гена *GNRHR* (NM 000406.3) в компаунд-гетерозиготном состоянии *p.R139H* и *p.Q106R*

Развитие неполной формы заболевания в данном случае обусловлено неполной инактивацией рецептора при гетерозиготных вариантных заменах R139H/p.Q106 [7], [80]–[82]. При данных вариантных заменах по данным литературы возможно развитие и реверсивной формы заболевания[5]. Причиной такого клинического полиморфизма формы заболевания при одних и тех же вариантных заменах на настоящий момент называют влияние эпигенетических факторов[60].

Клинический случай №2 демонстрирует реверсивное течение гипогонадотропного гипогонадизма у мальчика на терапии препаратами тестостерона.

Клинический случай №2.

Пациент С.Ж., 14 лет 5 мес впервые обратился к детскому эндокринологу с жалобами на задержку полового развития. Жалоб на нарушения обоняния не предъявлял. По данным физикального осмотра при обращении: рост 160,8 см (-0,38 SD), вес 50 кг, SDS ИМТ 0,17. При оценке сегментов отмечалось формирование диспропорции сегментов тела: верхний сегмент 80,6 см (-1,79 SD), нижний сегмент 80,2 см (0,46 SD). Половая формула по Таннер 2, G2P3, яички по 3 мл. В гормональном профиле отмечались допубертатные уровни ЛГ (0,5 Ед/л), ФСГ (1,1 Ед/л), ингибина В (23,2 пг/мл), тестостерона (0,7 нмоль/л). На пробе с аналогом ГнРГ максимальный уровень ЛГ - 7,3 Ед/л. Молекулярно-генетическое исследование

не выявило нуклеотидных изменений. С целью индукции пубертата было проведено 6 инъекций 125 мг (0,5 мл) эфиров тестостерона.

Через 3 месяца отмечалось увеличение объема яичек до 4 мл. В гормональном профиле наблюдалось повышение базального уровня ЛГ до 1,3 Ед/л. Была повторно проведена проба с аналогом ГнРГ: максимальный уровень ЛГ 12,2 Ед/л. Подъем уровня ЛГ > 10 Ед/л на пробе с аналогом ГнРГ, увеличение объема яичек с 3 до 4 мл после 6 инъекций тестостерона свидетельствовали об инициации полового развития. Был установлен диагноз «конституциональная задержка пубертата», рекомендовано динамическое наблюдение без терапии.

Через 4 месяца в возрасте 15 лет 7 месяцев при физикальном осмотре не отмечалось дальнейшего увеличения объема яичек. В гормональном профиле уровень тестостерона - 0,8 нмоль/л. С учетом отсутствия самостоятельной прогрессии полового развития диагноз был изменен на «Гипогонадотропный гипогонадизм» и была иницирована терапия эфирами тестостерона в прежней дозе (125 мг) на постоянной основе 1 раз в 28 дней.

В 16,6 лет наблюдалось увеличение уровня ЛГ до 2,6 Ед/л, что было расценено как самостоятельная активация гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси на фоне терапии тестостероном и проявление реверсивного течения гипогонадизма, в связи с чем проведена пробная отмена терапии. Через 3 месяца после отмены препаратов уровень тестостерона в крови - 1,1 нмоль/л, уровни ЛГ и ФСГ повторно снизились: 0,3 Ед/л и 0,8 Ед/л, соответственно. Терапия эфирами тестостерона была иницирована вновь в дозе 250 мг 1 раз в 28 дней, которую пациент получал до возраста 17,7 лет.

В 17,7 лет пациент самостоятельно отменил терапию. На фоне 10-месячной отмены терапии наблюдалось уменьшение объема яичек до 2 мл и допубертатные уровни тестостерона и гонадотропинов. Был окончательно установлен диагноз «Гипогонадотропный гипогонадизм. Реверсивное течение» и возобновлена терапия эфирами тестостерона. В дальнейшем пациент был переведен на тестостерона ундеканат.

О реверсивном течении гипогонадизма в данном случае свидетельствуют динамика максимального уровня ЛГ на пробе с аналогом ГнРГ (с 7,3 до 12,2 Ед/л) и увеличение объема яичек до пубертатного после 6 инъекций тестостерона. Повышение базального уровня ЛГ на фоне терапии также свидетельствовало о возобновлении активности гонадотрофов, а низкий

базальный уровень гонадотропинов и уменьшение объема яичек с пубертатного до 2 мл, наоборот, об отсутствии стимуляции ГнРГ на клетки аденогипофиза. Также данный клинический случай демонстрирует сложности дифференциальной диагностики между реверсивной формой гипогонадотропного гипогонадизма и «поздним» пубертатом: положительный ответ на пробу с аналогом ГнРГ не во всех случаях свидетельствует о конституциональной задержке полового развития и не исключает необходимости динамического контроля.

3.2.2 Клинический полиморфизм репродуктивного фенотипа

К репродуктивному фенотипу гипогонадотропного гипогонадизма относят изменения со стороны репродуктивных органов, которые часто встречаются у пациентов с ВИГГ: крипторхизм, микропению и гипоспадию.

Крипторхизм при рождении определялся у 24/62 пациентов (38,7%, 95% ДИ [26,6; 51,9]). Двусторонний крипторхизм имел место у 18 из 24 пациентов (75,0%, 95% ДИ [53,2; 92,0]), у 6/24 (25,0%, 95% ДИ [9,7; 46,7]) – односторонний.

Микропения отмечалась у 20/62 мальчиков (32,2%, 95% ДИ [20,9; 45,3]). Микропения без крипторхизма имела место у 12 из 62 пациентов (19,3%, 95% ДИ [10,4; 31,3]). У 8/62 (12,9%, 95% ДИ [5,7; 23,8]) отмечалось сочетание крипторхизма и микропении.

Клинико-гормональные показатели в подгруппах мальчиков с крипторхизмом и без него достоверно не различались (табл.5).

Таблица 5. Клинико-гормональные характеристики пациентов с крипторхизмом в анамнезе и без него

Параметр Me [Q1;Q3], мм	Пациенты с крипторхизмом, (n=24)	Пациенты без крипторхизма (n=38)	p
Объем яичек по орхидометру Прадера, мл	1 [1;1,5]	2,0 [1,0;3,0]	0,047
Объем яичек по данным УЗИ, мл	0,5 [0,4;0,7]	0,7 [0,5;1,2]	0,016
Базальный ЛГ, Ед/л	0,2 [0,2; 0,3]	0,33 [0,0; 1,54]	0,831
Базальный ФСГ, Ед/л,	0,7 [0,7; 0,9]	0,7 [0,6;1,1]	0,512
Базальный тестостерон, нмоль/л	0,5 [0,4;0,9]	0,6 [0,4;0,7]	0,728
Ингибин В, пг/мл	21,8 [13,6;50,8]	51,9 [11,6;81,5]	0,230
АМГ, нг/мл	13,4 [11,3;25,0]	20,9 [14,1;47,5]	0,114

Пороговый P=0,007 (после применения поправки Бонферрони).

Применялся критерий Манна-Уитни

При анализе в подгруппах установлено, что частота крипторхизма была одинаковой среди мальчиков с синдромом Кальмана и мальчиков с НВИГГ (p=0,75 по критерию Хи-квадрат Пирсона).

Клинико-гормональные показатели в подгруппах мальчиков с микропенией и без нее представлены в таблице 6. Пациенты с микропенией имели меньший базальный объем гонад по орхидометру Прадера. Кроме

этого, между подгруппами отмечалась достоверная разница в базальном уровне тестостерона.

Таблица 6. Клинико-гормональная характеристика пациентов с микропенией и без нее

Параметр Me [Q1;Q3], мм	Пациенты с микропенией, (n=20)	Пациенты без микропении (n=42)	P
Объем яичек по орхидометру Прадера, мл	1,0 [1,0;2,0]	2,0 [1,0;3,0]	0,006
Объем яичек по данным УЗИ, мл	0,5 [0,4;0,7]	0,7 [0,5;1,2]	0,047
Базальный ЛГ, Ед/л	0,2 [0,1; 0,2]	0,2 [0,2;0,45]	0,251
Базальный ФСГ, Ед/л	0,7 [0,3;0,7]	0,7 [0,7;1,10]	0,013
Базальный тестостерон, нмоль/л	0,4 [0,3; 0,6]	0,6 [0,5;0,7]	0,006
Ингибин В	21,8 [10,0;57,0]	40,7 [14,3;81,5]	0,274
АМГ	14,5 [8,6;45,75]	20,6 [12,7;35,3]	0,428

Скорректированный поправкой Бонферрони P-value=0,00

Применялся критерий Манна-Уитни

У 2 из 62 мальчиков отмечалась гипоспадия. У 1 мальчика головчатая форма гипоспадии являлась единственным фенотипическим проявлением ВИГГ; микропении, крипторхизма, нерепродуктивного фенотипа у пациента не отмечалось, а при проведении молекулярно-генетического исследования вариантных замен выявлено не было. У другого мальчика стволовая форма гипоспадии сочеталась с микропенией, аносмией, двусторонней тугоухостью и синдромом дефицита внимания.

3.2.3 Клинический полиморфизм нерепродуктивного фенотипа

Нерепродуктивным фенотипом гипогонадизма называют изменения, со стороны нерепродуктивных органов, сопутствующих ВИГГ.

Нерепродуктивный фенотип отмечался более чем у трети пациентов (30 из 77, 38,9%, 95% ДИ [28,0; 57,7]): у 10 пациентов с патогенными и вероятно-патогенными изменениями, у 8 пациентов с ВЗ неизвестной клинической значимости и у 12 пациентов без установленной молекулярно-генетической вариантной замены.

Из компонентов нерепродуктивного фенотипа отмечались:

- нарушения слуха (6/30, 20,0%, 95% ДИ [7,7; 38,5]),
- патология сердечно-сосудистой системы (5/30, 16,6%, 95% ДИ [5,6; 34,7]),
- дефекты средней линии (5/30, 16,6%, 95% ДИ [5,6; 34,7]),
- ихтиоз (4/23, 13,3%, 95% ДИ [3,7; 30,7]),
- синдромальная патология (4/23, 13,3%, 95% ДИ [3,7; 30,7]):

CHARGE-синдром (n=2), синдром Ваарденбурга (n=1) и синдром Клиппель-Фейла (n=1) - аномалия строения шейного отдела позвоночника,

- пороки развития почек (3/30, 10,0%, 95% ДИ [2,1; 26,5]),
- пороки развития конечностей (2/30, 6,7%, 95% ДИ [0,8; 22,0]),
- пороки развития зубов (1/30, 3,3%, 95% ДИ [0,1; 17,2]).

Нерепродуктивный фенотип отмечался у 25/62 мальчиков с ВИГГ, рис.10. Наиболее часто среди данной когорты пациентов отмечались дефекты средней линии (n=5), патология сердечно-сосудистой системы (n=5), ихтиоз (n=4).

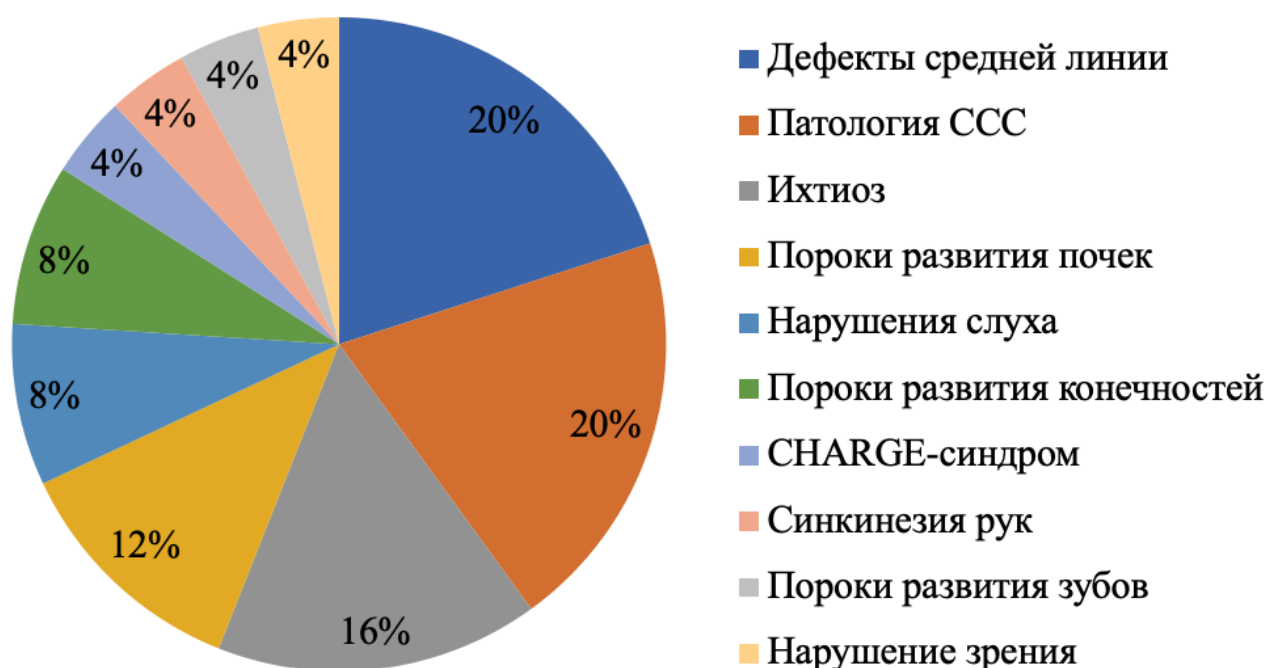


Рисунок 10. Нерепродуктивный фенотип ВИГГ у мальчиков

Нерепродуктивный фенотип имел место у 5/15 девочек с ВИГГ (33,3%, 95% ДИ [11,8; 61,6]), рис.11. Наиболее частыми проявлениями ВИГГ у девочек являлись синдромальные патологии (CHARGE-синдром, синдром Ваарденбурга, синдром Клиппель-Фейла), нарушение слуха (несиндромальная двусторонняя тугоухость, n=2) и зрения.

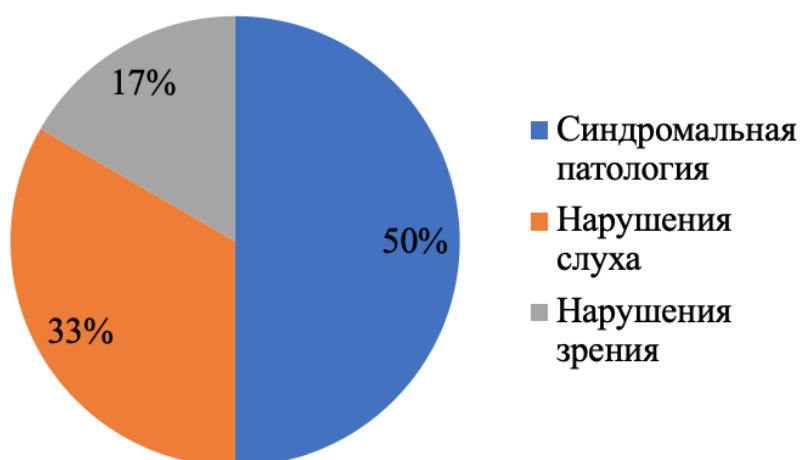


Рисунок 11. Нерепродуктивный фенотип ВИГГ у девочек

Клинические случаи №3 и 4. Клинический полиморфизм сопутствующих гипогонадизму особенностей фенотипа у родных братьев с ихтиозом

На прием обратились два брата с ихтиозом и нормальным мужским кариотипом (рис.12). У младшего из братьев с рождения отмечались микропенис и двусторонний крипторхизм, по поводу чего в возрасте 7 месяцев был госпитализирован в ФГБУ НМИЦ эндокринологии Минздрава России. При обследовании отмечались низкие уровни гонадотропинов (ЛГ - 0,001 МЕ/мл, ФСГ-0,4 МЕ/мл), АМГ 0,58 нг/мл, тестостерон 1,6 нмоль/л. Для оценки функциональной активности гонад была проведена проба с хорионическим гонадотропином (5000 МЕ). Результат пробы отрицательной: повышение тестостерона составило 0,2 нмоль/л. Было рекомендовано применение андрогеля в течение года, на фоне чего отмечалось увеличение кавернозных тел.

В возрасте 7 лет данных за микропению и крипторхизм не было получено: длина полового члена - 3,2 см, оба яичка в мошонке объемом 0,2-0,3 мл по данным УЗИ. В гормональном профиле – допубертатные гонадотропины и тестостерон (ЛГ - 0,07 МЕ/мл, ФСГ 0,61 МЕ/мл, общий тестостерон -0,24 нмоль/л), низкие уровни АМГ и ингибина В (АМГ 11,71 нг/мл, ингибин В -6,88 пг/мл). На основании сочетания двустороннего крипторхизма и микропении был установлен диагноз «Нарушение формирования пола». По данным молекулярно-генетического исследования (панель «нарушения формирования пола») отмечалась гемизиготная вариантная замена с.173G>C р.G58A (rs782572843) в гене MAMLD1 (NM_005491) с неизвестной клинической значимостью.

Его старший брат впервые обратился к детскому эндокринологу с жалобами на ихтиоз и задержку полового развития в возрасте 12 лет. При осмотре у пациента не отмечалось задержки роста (SDS роста 0.87 SD), микропении и крипторхизма. У мальчика отмечалась диспропорция сегментов тела: разница между верхним и нижним сегментами составила более 2 SD (верхний сегмент – 87,9 см, 2,33 SD, нижний сегмент – 73,7 см, 0,43 SD). Половая формула по Таннер 1. Объем яичек по данным УЗИ - допубертатный (0,45 мл), кавернозные тела составили 5,1 см. По данным рентгенографии кистей рук значимого отставания костного возраста также не отмечалось. В гормональном профиле допубертатные уровни гонадотропинов (ЛГ-0,06 МЕ/мл, ФСГ - 0,84 МЕ/мл), низкие уровни АМГ (23,7 нг/мл) и ингибина В (11 пг/мл). По данным ольфактометрического теста – аносмия (3 балла из 12). Гипоплазия гонад, а

также низкий уровень ингибина В в сочетании с аносмией позволили предположить наличие у ребенка синдрома Кальмана, несмотря на отсутствие возможности провести пробу с аналогом ГнРГ (возраст мальчика < 14 лет). Наличие микропении и крипторхизма у младшего брата свидетельствовало о возможном синдроме Кальмана у обоих детей. Сочетание синдрома Кальмана с ихтиозом может иметь место при микроделеционном синдроме потери генных последовательностей (рис.13). Одним из методов диагностики микроделеционного синдрома является хромосомный микроматричный анализ, который выявил у обоих детей патогенную микроделецию участка X хромосомы с позиции 6533602 до позиции 8791660. Данный сегмент включает в себя в том числе гены *KAL1* (OMIM 308700) и *STS* (OMIM 308100). После получения результатов хромосомного микроматричного анализа старшему брату была инициирована терапия препаратами тестостерона в дозе 0,2 мл (50 мг).



Рисунок 12. Ихтиоз у ребенка микроделеционным синдромом потери генных последовательностей.

Данные клинические случаи демонстрируют не только различные клинические проявления заболевания у братьев с одним и тем же хромосомным дефектом, но и сложность дифференциальной диагностики между гипогонадотропным гипогонадизмом и нарушением формирования пола. Анализ клинической картины заболевания, сопутствующих фенотипических особенностей и семейного анамнеза позволил заподозрить

микроделеционный синдром и выбрать необходимый подтверждающий метод диагностики. Также данный клинический случай демонстрирует вклад результатов генетических исследований в персонифицированный подход к ведению пациента: так, своевременная постановка диагноза позволила инициировать терапию тестостероном у старшего брата в возрасте, соответствующему физиологическому сроку начала пубертата.

Клинический случай 5. CHARGE-синдром у мальчика с вариантной заменой в гене CHD7

Пациент Л.М., 14 лет 1 мес. госпитализирован в ФГБУ НМИЦ эндокринологии Минздрава России с жалобами на задержку роста, задержку полового развития, снижение слуха, неустойчивость походки, односложную речь.

Из анамнеза жизни известно, что мальчик от 1-ой беременности на фоне угрозы прерывания, гестационного сахарного диабета на 32 неделе. Роды на 37 неделе, оперативные в связи со слабостью родовой деятельности. Масса тела при рождении - 2350 г, длина - 45 см, по Апгар 8/8 баллов. С рождения - левосторонний крипторхизм. Развивался с задержкой: голову держит с 4 месяцев, сидит и ползает с 2 лет, ходит самостоятельно с 3-х лет. Из сопутствующих заболеваний: дизартрия, двусторонняя смешанная тугоухость 2 степени справа и 4 степени слева, двустороннее отсутствие полукружных каналов уха, колобома хориоидеи и зрительного нерва, миопия высокой степени ОУ, микрострабизм, гипоплазия правой почки, атрезия хоан, задержка умственного развития. В детстве отмечались трудности с кормлением по причине нарушения глотания. Оперирован в 2 года по поводу открытого овального окна. Наследственный анамнез не отягощен, имеет младшую сестру, 8 лет, здорова. Со слов мамы, мальчик с рождения не различает запахи. Кариотип 46 XY. Проводилась молекулярно-генетическая диагностика с синдромом делеции 1p36, который проявляется гипотонией, задержкой развития, умственной отсталостью, судорогами, пороками сердца, нарушением слуха и началом задержкой роста в пренатальном периоде: делеции не обнаружено.

В возрасте 10 лет на основании сочетания колобомы, тугоухости, порока сердца, порока внутреннего уха, атрезии хоан, аносмии, одностороннего крипторхизма был заподозрен синдром CHARGE. Молекулярно-генетического исследования гена CHD7 не проводилось. В

возрасте 10 лет на основании сочетания аносмии, одностороннего крипторхизма, низких уровней гонадотропинов и тестостерона, гипоплазии яичек у ребенка был заподозрен синдром Кальмана в составе CHARGE синдрома. Проба с аналогом ГнРГ не проводилась. С возраста 10 лет в течение 4 лет мальчик получал препараты хорионического гонадотропина в дозе 500 МЕ 2 раза в неделю с целью опущения яичка и индукции полового развития. В течение последнего года получал ХГч в дозе 1000 МЕ 2 раза в неделю без эффекта.

По данным физикального осмотра при поступлении в стационар у ребенка отмечалась задержка роста (145,7 см, -2,04 SD, SDS целевого роста = -16 SD), избыток веса (48 кг, SDS ИМТ = 1,4 SD), диспропорция сегментов тела (SDS верхнего сегмента: -3,86, SDS нижнего сегмента: -0,4), задержка



Рисунок 13. Аномалии наружного уха у пациента с CHARGE-синдромом: короткая и широкая раковина, прикрепленная мочка, треугольная полость ушной раковины.



Рисунок 14. Фенотип пациента с CHARGE-синдромом: задержка роста, задержка полового развития, стигмы дисэмбриогенеза (гипертелоризм сосков, аномалии наружного уха).

полового развития (Таннер 1 G1P1), а также левосторонний крипторхизм (правое яичко объемом 0,5 мл в мошонке, левое – в мошонке не определяется). Из стигм дисэмбриогенеза: аномалия развития наружного уха, гипертелоризм сосков (рис.13 и 14).

В гормональном профиле у мальчика отмечались низкие уровни гонадотропинов (ЛГ – 0,216 Ед/л, ФСГ 0,66 Ед/л), тестостерона (0,44 нмоль/л), ингибина В (14,7 пг/мл) и АМГ (11,67 пг/мл). Костный возраст

соответствовал 12 годам. Правое яичко в мошонке объемом 0,35 мл, левое – в нижней трети пахового канала объемом 0,4 мл по данным УЗИ. По результатам пробы с аналогом ГнРГ максимальный уровень ЛГ составил 1,4 Ед/л. По результатам МРТ головного мозга отмечалась МР-картина частично «пустого» турецкого седла и гипоплазия обонятельных лукович. По результатам ольфактометрического теста методом принудительного выбора (Sniffin Sticks Test) набрано 0 баллов из 12, что соответствует аносмии. Также отмечалось снижение костной плотности в поясничном отделе, Z-score L1-L4 -2,3 по данным денситометрии поясничного отдела позвоночника. По результатам проведенного молекулярно-генетического исследования в гене CHD7 (NM 017780.4) в экзоне 21 выявлена гетерозиготная вариантная замена неизвестной клинической значимости типа миссенс с.4739A>T, приводящая к замене аминокислоты p.E1580V. Выявленная вариантная замена не обнаружена ни у матери ни у младшей сестры. Оценить наличие вариантной замены у отца не было возможно, так как отец мальчика погиб.

У мальчика был диагностирован Синдром Кальмана в составе CHARGE-синдрома. С терапии препаратами ХГч мальчик переведен на терапию эфирами тестостерона в дозе 75 мг 1 раз в 28 дней.

Согласно диагностическим критериям Hale, 2016[76] для постановки диагноза «CHARGE-синдром» у пациента должны отмечаться не менее 2 «больших» критериев, наличие «малых» критериев не является необходимым. У данного пациента отмечалось 3 «больших» критерия (колобома, атрезия хоан и аномалия развития наружного и внутреннего уха) и 6 «малых», включая тугоухость, гипогонадотропный гипогонадизм и задержку роста, аномалию развития почек, порок сердца, задержку умственного развития и нарушение глотания.

3.3 Молекулярно-генетический полиморфизм ВИГГ у детей

Патогенные и вероятно патогенные вариантные замены, ассоциированные с развитием ВИГГ, были выявлены у 19 из 77 пациентов (24,6%, 95% ДИ [15,5; 35,8]) (рис.15): у 18 диагностировано моногенное наследование ВИГГ, у 1 – олигогенное (табл.5). Патогенными также являлись вариации числа копий, а именно протяженные делеции, которые отмечались у 5,2% пациентов, n=4, (95% ДИ [1,4; 12,7]). Таким образом, патогенные молекулярно-генетические изменения определялись у 23/77 пациентов, 31,1% (95% ДИ [19,9; 41,3]).

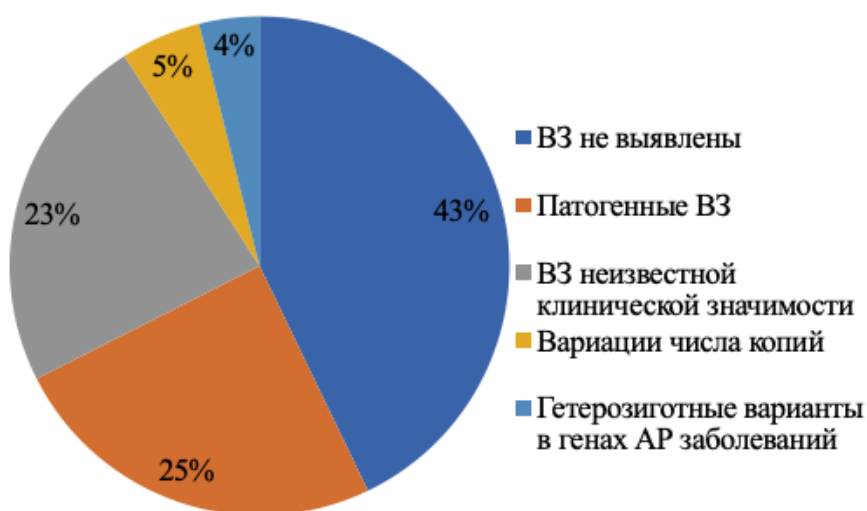


Рисунок 15. Результаты молекулярно-генетического исследования у пациентов с ВИГГ
ВЗ – вариантная замена, АР – аутосомно-рецессивный

Вариантные замены неизвестной клинической значимости отмечались у 23,3% пациентов (95 ДИ [14,4; 34,4]) (n=18); носительство гетерозиготных вариантов в генах рецессивных заболеваний – 4% (95% ДИ [0,8; 10,9]) (n=3).

Таким образом, те или иные молекулярно-генетические изменения диагностированы у 57,1% (95% ДИ [45,3; 68,3]) пациентов с ВИГГ. Молекулярно-генетическая основа заболевания не была установлена у 43%, n=33 пациентов (95% ДИ [31,6; 54,6]).

Гендерных различий в частоте молекулярно-генетически изменений

среди мальчиков и девочек с ВИГГ не отмечалось (36/62, 58,0% среди мальчиков против 8/15, 53,3% у девочек, $p=0,740$). В подгруппах наблюдались сопоставимые уровни встречаемости патогенных изменений (19/62, 30,6% против 4/15, 26,6%, $p=0,776$), рис. 9. Варианты с неизвестной клинической значимостью так же встречались среди мальчиков и девочек с ВИГГ с одинаковой частотой (15/62, 24,1% против 3/15, 20,0%, $p=0,778$), рис. 16. Олигогенное наследование гипогонадизма в когорте мальчиков и девочек встречалось с сопоставимой частотой (8,0% против 6,7%, $p=0,677$). Всего олигогенное наследование подтверждено у 6/77 пациентов – 7,8% (95% ДИ [2,9; 16,1]), табл. 14 и 15.



Рисунок 16. Результаты молекулярно-генетического исследования у мальчиков (А) и девочек (Б) с ВИГГ

3.4 Ассоциация генотип – фенотип

3.4.1 Патогенные и вероятно патогенные замены. Молекулярно-генетический и клинический полиморфизм

По результатам исследования панели «гипогонадотропный гипогонадизм» в рамках моногенного наследования наиболее часто патогенные и вероятно патогенные вариантные замены определялись в генах *GNRHR* ($n=5/19$, гомозиготы или компаунд гетерозиготы, 26,3%, 95% ДИ [9,2; 51,2]), *ANOS1* (4/19, 21,0%, 95% ДИ [6,1; 45,6]) и *FGFR1* (3/19, 15,8%, 95% ДИ [3,3; 39,6]) (рис.17). У двух пациентов отмечалась одна и та же вариантная замена в гене *FGF8* ($n=2$, p.P26L). Подробная клинико-гормональная характеристика пациентов с результатами молекулярно-генетического исследования представлена в таблицах 8 - 13. Еще у 4 пациентов были выявлены гетерозиготные вариантные замены в генах *CHD7* ($n=1$, c.6270G>A), *PROKR2* ($n=1$, c.533G>C), *SEMA3A* ($n=1$, c.1663C>T), *SOX10* ($n=1$, c.44_62del). У одного из пациентов диагностировано олигогенное наследование ВИГГ с вариантными заменами в генах *GNRHR* и *FGFR1*.

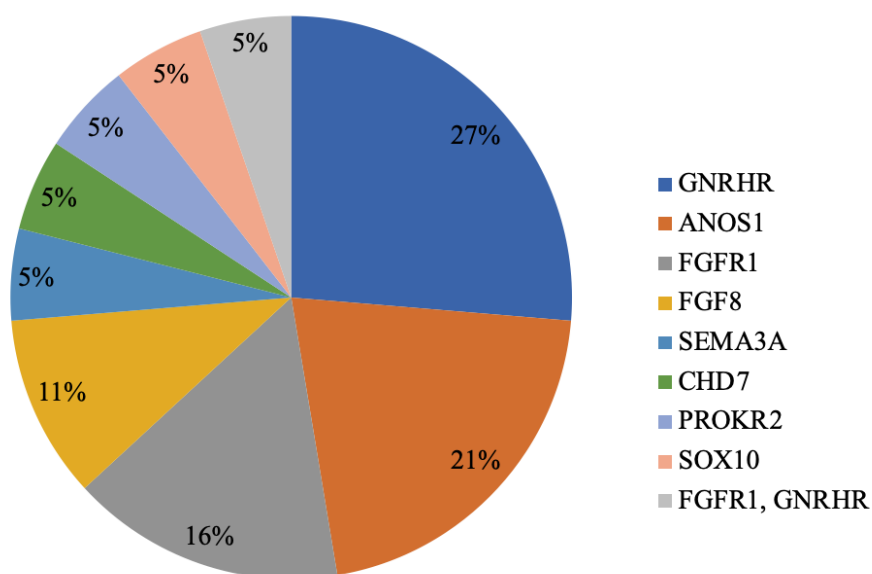


Рисунок 17. Полиморфизм генов с патогенными ВЗ, объясняющими развитие ВИГГ

Вариации числа копий, которые были представлены выпадением протяженного участка короткого плеча X-хромосомы, также были классифицированы как патогенные. Данные протяженные делеции были выявлены у всех четырех пациентов с ВИГГ и ихтиозом (табл.7). У пациента Д.З. с наиболее протяженной делецией в 3140873 н.п., кроме ВИГГ и ихтиоза, отмечались расстройства поведения, ожирение. У пациента Г.В. с наименее протяженной делецией, содержащей 1985276 н., других особенностей фенотипа, кроме ихтиоза и гипогонадизма, не отмечалось. Двое других мальчиков являлись сибсами, у которых была диагностирована одна и та же делеция, однако у старшего брата делеция сопровождалась развитием крипторхизма и микропении, в то время как у младшего отмечалась только гипоплазия яичек (клинические случаи №3 и №4).

Таблица 7. Выявленные протяженные делеции короткого плеча X-хромосомы у мальчиков с ихтиозом и гипогонадотропным гипогонадизмом.

Пациент	Клиническая картина	Метод исследования	Делеция	Длина, н.п.	Гены
Д.З.	Ихтиоз, гипогонадизм, крипторхизм, микропения, ожирение, нарушение поведения	Полногеномное секвенирование с неглубоким покрытием	chrX:5892507-9033380	3140873	<i>ANOS1, FAM9A, FAM9B, NLGNX, PNPLA4, PUDP, STS, VCX, VCX2, VCX3A, VCX3B</i>
Г.В.	Ихтиоз, гипогонадизм	Полногеномное секвенирование с неглубоким покрытием	chrX:6637902-8623178	1985276	<i>PUDP, STS, VCX, PNPLA4, VCX2, VCX3B, ANOS1</i>
К.В.	Ихтиоз, гипогонадизм, микропения, двусторонний крипторхизм	Хромосомный микроматричный анализ	chrX:6533602-8971660	2258508	<i>VCX3A, PUDP, STS, VSX, ANOS1, VSX2, VSX3B, PNPLA4</i>
К.Д. (сибс К.В.)	Ихтиоз, гипогонадизм, гипоплазия яичек	Хромосомный микроматричный анализ	chrX:6533602-8971660	2258508	<i>VCX3A, PUDP, STS, VSX, ANOS1, VSX2, VSX3B, PNPLA4</i>

Нерепродуктивный фенотип отмечался у 10/19 (52,6%, 95% ДИ [28,8; 75,5]) пациентов с патогенными молекулярно-генетическими изменениями. Наиболее частыми проявлениями нерепродуктивного фенотипа являлись ихтиоз (n=4), неврологическая симптоматика (энурез и дизартрия) (n=3) и патология сердечно-сосудистой системы (n=3). Также встречались синдромальные патологии (CHARGE-синдромом при патогенной ВЗ в гене *CHD7* и синдром Ваарденбурга у пациентки с патогенной ВЗ гене *SOX10*).

Среди пациентов с патогенными молекулярно-генетическими изменениями у 20/23, 86,9% (95% ДИ [66,4; 97,2]) отмечалась полная форма заболевания, у 3/23, 13,1% (95% ДИ [2,8; 33,6]) пациентов – неполная (при ВЗ в генах *GNRHR*, *SOX10*, *FGF8*). Ни у кого из пациентов с патогенными молекулярно-генетическими изменениями не была диагностирована реверсивная форма заболевания.

У мальчиков с ВИГГ наиболее часто патогенные вариантные замены, ассоциированные к ВИГГ, определялись в генах *ANOS1* (4/15, 26,6%, 95% ДИ [7,8; 55,1]), *GNRHR* (3/15, 20,0%, 95% ДИ [4,3; 48,1]) и *FGFR1* (2/15, 13,3%, 95% ДИ [1,6; 40,4]), рис.18. У девочек с ВИГГ патогенных вариантных замен в гене *ANOS1* не отмечалось, а самыми частыми патогенными вариантами, приводящими к развитию заболевания, являлись изменения в гене *GNRHR* (2/4, 50%, 95% ДИ [6,7; 93,2]).

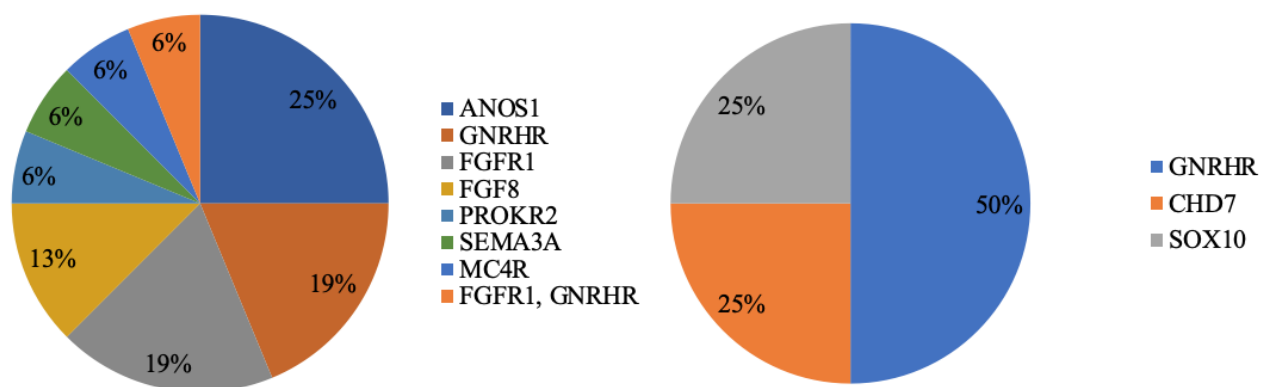


Рисунок 18. Полиморфизм генов с патогенными изменениями, объясняющими развитие заболевания, у мальчиков и у девочек с ВИГГ

Патогенные вариантные замены в гене аносмина *ANOS1* имели место у 4 мальчиков, у 3 из которых (75%, 95 ДИ [19,5; 99,3]) отмечалась микропения. У такого же количества пациентов имел место двусторонний крипторхизм. Ни у кого из данной группы пациентов не отмечалось компонентов нерепродуктивного фенотипа, характерного для изменений в этом гене, т.е. бимануальной синкинезии и пороков развития почек. На нарушения обоняния предъявляли жалобы 3 из 4 пациентов, ольфактометрическое исследование было проведено 2, и только у 1 мальчика аносмия была подтверждена результатами ольфактометрического исследования (табл.8).

Патогенными варианты в гене *GNRHR* были выявлены у 3 мальчиков: у одного отмечалась микропения, у другого – односторонний крипторхизм. У других пациентов не было выявлено нарушений со стороны репродуктивных органов. Нерепродуктивный фенотип не отмечался ни у одного из пациентов. На нарушения обоняния никто из мальчиков жалоб не предъявлял. 1 мальчику из данной группы было проведено ольфактометрическое исследование, по результатам которого была выявлена аносмия. Среди девочек с патогенными изменениями в гене *GNRHR* ($n=2$) жалоб на нарушения обоняния никто не предъявлял. Нормосмия у пациенток подтвердилась данными ольфактометрии. У одной из девочек отмечалась полная форма заболевания, у другой - неполная. У девочки с неполной формой ВИГГ с помощью молекулярно-генетического исследования были выявлены патогенные

биаллельные изменения в гене *GNRHR* с.416G>A с.2T>C в компаунд-гетерозиготном состоянии (клинический случай №1), в то время как те же самые вариантные замены в гомозиготном состоянии у одного из мальчиков привели к полной форме ВИГГ с аносмией, подтвержденной результатами ольфактометрического исследования (таблицы 9 и 10).

Патогенные варианты в гене *FGFR1* были выявлены у 3 мальчиков с ВИГГ, у 2 из которых (66,6%, 95% ДИ [9,4; 99,1]) отмечались характерные для изменений в данном гене фенотипические особенности репродуктивных органов, а именно пороки развития конечностей: так, у одного мальчика отмечалась синдактилия (сращение) 1-ого и 2-ого пальцев стопы и добавочная фаланга 3-его пальца, у второго мальчика — клиндактилия (деформация пальцев, которая характеризуется искривлением и изгибом в одном или нескольких межфаланговых суставах) 4-ого пальца стопы (таблица 11). У одного из мальчиков с олигогенным наследованием ВИГГ (патогенной ВЗ в гене *FGFR1* в сочетании с ВЗ неизвестной клинической значимости в гене *SPRY4*) отмечалась расщелина верхней губы, которая тоже является характерным компонентом репродуктивного фенотипа ВИГГ, ассоциированного с изменениями в гене рецептора фактора роста фибробластов 1-го типа (таблица 14).

Расщелина твердого неба характерна не только для ВИГГ, ассоциированного с изменениями в гене *FGFR1*, но и для ВИГГ с изменениями в гене фактора роста фибробластов 8 типа *FGF8*. В наше исследование были включены 2 мальчика с одной и той же патогенной ВЗ в данном гене (с.77C>T), но имеющие различную клиническую картину заболевания: так, у одного мальчика отмечалась неполная форма ВИГГ, крипторхизм, микропения, множественные пороки сердца и дефекты средней линии, в то время как у другого мальчика с той же самой вариантной заменой развилась полная форма ВИГГ, а из фенотипических особенностей отмечалась только микропения (таблица 11).

3.4.2 Вариантные замены неизвестной клинической значимости. Молекулярно-генетический и клинический полиморфизм

Вариантные замены, неизвестной клинической значимости, отмечались у 18 из 77 пациентов (23,3%, 95% ДИ [14,5; 34,4]).

Моногенные изменения были диагностированы у 13 из 18 пациентов (72,2%; 95% ДИ [46,5; 90,3]). Среди данной когорты пациентов наиболее часто определялись гетерозиготные вариантные замены в генах *FGFR1* (n=3), *ANOS1* (n=2), *CHD7* (n=2, с.4739A>T p.E1580V и с.15G>A) (табл. 7, 10, 11). У одной пациентки отмечалась гетерозиготная вариантная замена в гене *FGF17* (n=1, с.359C>T). Еще у двух пациентов были выявлены гетерозиготные замены в генах *WDR11* (n=1, с.2932A>T p.K978X), *MKRN3* (n=1, с.1315A>G:p.S439G).). У мальчика который наблюдался с ВИГГ и ожирением, была диагностирована гетерозиготная вариантная замена в гене *MC4R* с.631_634del (n=1), которая описана в литературе как патогенная и ассоциирована с развитием морбидного ожирения с раннего возраста. В связи с отсутствием на настоящий момент данных об ассоциации патогенных гетерозиготных изменений в данном гене и ВИГГ, она была классифицирована как вариант неизвестной клинической значимости. По результатам полноэкзомного секвенирования у двух пациентов с выраженными стигмами дисэмбриогенеза были выявлены гетерозиготные вариантные замены в генах *CBL* (n=1, с.1096-7A>G), *PAX6* (n=1).

Биаллельные изменения неизвестной клинической значимости отмечались только у одного пациента в гене *ANOS1* (n=1, табл. 8).

Нерепродуктивный фенотип отмечался у 8/18 (44,4%, 95% ДИ [21,5; 69,2]) пациентов с ВЗ неизвестной клинической значимости. В данной подгруппе пациентов наиболее часто встречались нарушения слуха (n=3), зрения (n=3) и дефекты средней линии (n=3). Полная форма заболевания отмечалась у 15 из 18 пациентов с ВЗ неизвестной клинической значимости отмечалась, неполная - у 2, реверсивная – у 1. Среди

пациентов с патогенными ВЗ и ВЗ неизвестной клинической значимости достоверной разницы в частоте крипторхизма, микропении, полной формы заболевания и нерепродуктивного фенотипа не установлено ($p>0,05$).

Гетерозиготные варианты неизвестной клинической значимости в гене *ANOS1* отмечались у 2 пациентов, у одного из которых отмечалась поясничная дистопия правой почки и нормосмия, а у другого – бимануальная синкинезия (непроизвольные движения одной руки при произвольных движениях другой) и аносмия, подтвержденная результатами ольфактометрии. У обоих пациентов отмечалась полная форма ВИГГ (таблица 8).

Гетерозиготные вариантные замены неизвестной клинической значимости в гене *FGFR1* имели место у 2 мальчиков (таблица 11) и у 1 девочки (таблица 12). У мальчика с микропенией отмечалась полная форма ВИГГ, у другого мальчика с микропенией и компонентами нерепродуктивного фенотипа ВИГГ (расщелина неба и тугоухость) течение гипогонадизма имело реверсивный характер. У девочки отмечалась аносмия в сочетании с неполной формой ВИГГ.

3.4.3 Носительство гетерозиготных вариантов в генах рецессивных заболеваний. Молекулярно-генетический и клинический полиморфизм

Носительство гетерозиготных вариантов в генах рецессивных заболеваний (ген *GNRHR*) отмечалось у 3/77 пациентов (2 мальчика и 1 девочка). Данные изменения не были классифицированы как варианты с неизвестной клинической значимостью, так как при аутосомно-рецессивном типе наследования обнаружение одного варианта в гетерозиготном состоянии не может приводить к развитию ВИГГ без установленной вариантной замены во второй копии гена.

Все пациенты с гетерозиготными ВЗ в гене *GNRHR* наблюдались с НВИГГ. Оба мальчика имели полную форму ВИГГ, а девочка – неполную. Один из пациентов имел двусторонний крипторхизм, микропении ни у кого из

мальчиков не отмечалось. Нерепродуктивный фенотип ни у кого из пациентов не отмечался. Подробная клинико-гормональная характеристика данной когорты пациентов вместе с данными МГИ представлена в таблицах 9 и 10.

Таблица 8. Характеристика мальчиков с вариантными заменами в гене *ANOS1*

Пациент	МГИ			Жалобы на нарушения обоняния	Ольфактометрия		Диагноз	Фенотип	Форма	Тестостерон, нмоль/л	АМГ, нг/мл	Ингибин В, нг/мл	Средний объем гонад по орхидометру, мл
	Ген	Вариантная замена	Патогенность		Баллы	Результат							
1. С.А.	<i>ANOS1</i>	c.708C>A	НКЗ	Да	2	Аносмия	СК	Бимануальная синкинезия, двусторонний крипторхизм	Полная	1,1	12,6	17,0	1,0
		c710_715del	НКЗ										
2. Б.Н.	<i>ANOS1</i>	c.1062+1G>T	П	Да	12	Нормосмия	НВИГГ	Двусторонний крипторхизм	Полная	0,7	69	50,9	1,5
3. Г.А.	<i>ANOS1</i>	c.778C>T	П	Нет	7	Аносмия	СК	Двусторонний крипторхизм, микропения	Полная	0,5	13,3	33,3	1,0
4. В.Р.	<i>ANOS1</i>	1450-1G>C	П	Да	Не проводилось		СК	Двусторонний крипторхизм, микропения	Полная	0,5	15,0	17,5	0,5
5 Х.Д.	<i>ANOS1</i>	C.1402_1403insTG	П	Да	Не проводилось		СК	Микропения	Полная	0,4	Не исследованы		3,0
6. Р.Д.	<i>ANOS1</i>	c.1151G>A	НКЗ	Нет	12	Нормосмия	НВИГГ	Поясничная дистопия правой почки	Полная	0,7	18,3	23,6	3,0

Примечание: МГИ- молекулярно-генетическое исследование, СК – синдром Кальмана, НВИГГ – нормосмический врожденный изолированный гипогонадотропный гипогонадизм, П – патогенный, НКЗ – неизвестной клинической значимости

Таблица 9. Характеристика мальчиков с вариантными заменами в гене *GNRHR*

Пациент	МГИ			Жалобы на нарушения обоняния	Ольфактометрия		Диагноз	Фенотип	Форма	Тестостерон, нмоль/л	АМГ, нг/мл	Ингибин В, нг/мл	Средний объем гонад по орхидометру, мл
	Ген	Вариантная замена	Патогенность		Баллы	Результат							
1. Е.Д.	<i>GNRHR</i>	c.416G>A homo c.2T>C hetero	П	Нет	Не проводилась		НВИГГ	Нет	Полная	0,6	Не исследованы		3,0
2. Ч.Н.	<i>GNRHR</i>	c.416G>A homo c.2T>C homo	П	Нет	6	Аносмия	СК	Микропения	Полная	0,4	20,1	2,6	0,5
3.Ш.А.	<i>GNRHR</i>	c.227C>T hetero	Гетерозиготное носительство в AP-генах	Нет	Не проводилась		НВИГГ	Двусторонний крипторхизм	Полная	0,9	Не исследованы		1,0
4. М.Т.	<i>GNRHR</i>	c.415C>T c.317A>G compound hetero	П	Нет	Не проводилась		НВИГГ	Односторонний крипторхизм	Полная	0,5	75,6	38,9	3,0
5.А.З.	<i>GNRHR</i>	c.416G>A hetero	Гетерозиготное носительство в AP-генах	Нет	Не проводилась		НВИГГ	Нет	Полная	0,7	16,9	11,5	2,0

Примечание: МГИ - молекулярно-генетическое, СК – синдром Кальмана, НВИГГ – нормосмический врожденный изолированный гипогонадотропный гипогонадизм,

П – патогенный, НКЗ – неизвестной клинической значимости

Таблица 10. Характеристика девочек с вариантными заменами в гене *GNRHR*

Пациент	МГИ			Жалобы на нарушения обоняния	Ольфактометрия		Диагноз	Фенотип	Форма	Эстрадиол, пмоль/л	АМГ, нг/мл	Ингибин В, пг/мл	Средний объем яичников, мл	Длина матки, см
	Ген	Вариантная замена	Патогенность		Баллы	Результат								
1. К.И.	<i>GNRHR</i>	c.416G>A, c.317A>G compound hetero	П	Нет	11	Нормосмия	НВИГГ	Норма	Неполная	18,0	3,3	13,4	3,6	3,5
2. Г.Д.	<i>GNRHR</i>	c.416G>A, c.2T>C compound hetero	П	Нет	11	Нормосмия	НВИГГ	Норма	Полная	54,8	3,6	Не исследован	1,2	3,9
3 Ф.А.	<i>GNRHR</i>	c.317A>G hetero	Гетерозиготное носительство в AP-генах	Нет	7	Аносмия	СК	Норма	Неполная	45,8	4,2	17,6	1,9	4,0

Таблица 11. Характеристика мальчиков с вариантными заменами в гене *FGFR1*

	МГИ			Жалобы на нарушения обоняния	Ольфактометрия		Диагноз	Фенотип	Форма	Тестостерон, нмоль/л	АМГ, нг/мл	Ингибин В, нг/мл	Средний объем гонад по орхидометру, мл
	Ген	Вариантная замена	Патогенность		Баллы	Результат							
1.А.М	<i>FGFR1</i>	c.1997G>A hetero	П	Нет	3	Аносмия	СК	Двусторонний крипторхизм, микропения, гипоплазия и опущение правой почки, синдактилия 1и 2 пальцев стопы, добавочная фаланга 3 пальца	Полная	1,9	8,9	10,0	0,8
2.П.Е.	<i>FGFR1</i>	c.709G>A hetero	П	Да	2	Аносмия	СК	Микропения	Полная	0,4	6,52	10,0	2,0
3.С.Н.	<i>FGFR1</i>	c.1711del hetero	П	Нет	11	Нормосмия	НВИГГ	Задержка роста, клиндактилия 4 пальца стопы	Полная	0,35	25	41,4	1
4.П.В.	<i>FGFR1</i>	C.1097C>T hetero	НКЗ	Да	Не проводилась		СК	Микропения	Полная	0,4	48,1	51,9	1,0
5.Д.А	<i>FGFR1</i>	C.2099G>A hetero	НКЗ	Нет	10	Гипосмия	СК	Микропения, расщелина неба, тугоухость	Реверсивная	1,0	8,4	10,0	1,0

Примечание: МГИ- молекулярно-генетическое исследование, СК – синдром Кальмана, НВИГГ – нормосмический врожденный изолированный гипогонадотропный гипогонадизм, П – патогенный, НКЗ – неизвестной клинической значимости

Таблица 12. Характеристика девочек с вариантными заменами в гене *FGFR1*

	МГИ			Жалобы на нарушения обоняния	Ольфактометрия		Диагноз	Фенотип	Форма	Эстрадиол, пмоль/л	АМГ, нг/мл	Ингибин В, нг/мл	Средний объем яичников, мл	Длина матки, см
	Ген	Вариантная замена	Патогенность		Баллы	Результат								
К.Д.	<i>FGFR1</i>	c.2292+16C>T hetero	НКЗ	Нет	8	Аносмия	СК	Норма	Неполная	96,0	2,9	14,1	2,2	3,4

Таблица 13. Характеристика мальчиков (не сибсов) с одной и той же вариантной заменой в гене *FGF8*

Пациент	МГИ			Жалобы на нарушения обоняния	Ольфактометрия		Диагноз	Фенотип	Форма	Тестостерон, нмоль/л	АМГ, нг/мл	Ингибин В, нг/мл	Средний объем гонад по орхидометру, мл	Мах ЛГ на пробе, Ед/л
	Ген	Вариантная замена	Патогенность		Баллы	Результат								
Б.И.	<i>FGF8</i>	c.77C>T	П	Нет	Не проводилась		НВИГТ	Расщелина твердого неба, множественные пороки сердца, двусторонний крипторхизм и микропения	Неполная	2,29	152,1	168,9	2,5	13,3
В.И.								Микропения	Полная	0,62	70,3	81,5	1,5	1,71

Таблица 14. Характеристика мальчиков с вариантными заменами в двух и более генах

	МГИ			Жалобы на нарушения обоняния	Ольфактометрия		Диагноз	Фенотип	Форма заболевания	Тестостерон, нмоль/л	АМГ, нг/мл	Ингибин В, нг/мл	Средний объем гонад по орхидометру, мл
	Гены	Вариантная замена	Патогенность		Баллы	Результат							
1.К.П.	<i>POLR3A</i>	c.2472C>T hetero	НКЗ	Нет	Не проводилась		НВИГГ	Норма	Полная	1,1	Не исследованы		2,0
	<i>HS6ST1</i>	c.1112G>T hetero	ВД										
	<i>WDR11</i>	c.1066G>A hetero	ВД										
2.К.И.	<i>FGFR1</i>	c.296A>G	П	Да	9	Аносмия	СК	Расщелина верхней губы	Полная	0,6	14,4	78,4	1,0
	<i>SPRY4</i>	c.6626G>A	НКЗ										
3.С.М	<i>CHD7</i>	c.296C>T	НКЗ	Нет	11	Нормосмия	НВИГГ	Патология ССС	Неполная	1,03	169,8	20,9	5,0
	<i>HS6ST1</i>	c.1132C>T	НКЗ										
4.И.А.	<i>FGFR1</i>	c.742G>A	ВД	Нет	Не проводилась		НВИГГ	Микропения	Полная	0,6	32,6	20,3	1
	<i>GNRHR</i>	c.785G>A homo	П										
5.П.А.	<i>CHD7</i>	c.6151G>A	НКЗ	Нет	Не проводилась		НВИГГ	Двусторонний крипторхизм	Полная	0,5	Не исследованы		1,0
	<i>FSHR</i>	c.1467C>G	НКЗ										

Примечание: МГИ- молекулярно-генетическое исследование, СК – синдром Кальмана, НВИГГ – нормосмический врожденный изолированный гипогонадотропный гипогонадизм, П – патогенный, НКЗ – неизвестной клинической значимости, ВД – вероятно доброкачественный

Таблица 15. Характеристика девочек с вариантными заменами в двух и более генах

	МГИ			Жалобы на нарушения обоняния	Ольфактометрия		Диагноз	Фенотип	Форма заболевания	Эстрадиол, пмоль/л	АМГ, нг/мл	Ингибин В, нг/мл	Средний объем яичников, мл	Длина матки, см
	Ген	Вариантная замена	Патогенность		Баллы	Результат								
Ч.А.	<i>FGFR1</i>	c.238C>T	НКЗ	Нет	Не проводилась		НВИГГ	Двусторонняя тугоухость, слепота, задержка умственного развития	Неполная	80,0	0,8	10,0	0	2,5
	<i>WDR4</i>	c.133_137del hetero	НКЗ											

3.5 Обонятельная функция и размеры обонятельных луковиц пациентов с ВИГГ

Жалобы на нарушения обоняния предъявляли 28/77 пациентов (36,3%, 95% ДИ [25,7; 48,1]). Ольфактометрическое исследование проведено 44/77 пациентам. В зависимости от результатов ольфактометрии пациенты были отнесены в подгруппу пациентов с синдромом Кальмана или в подгруппу пациентов с нормосмическим вариантом. Остальные 33 из 77 пациентов, которым не проводилось ольфактометрическое исследование, были отнесены в ту или иную группу на основании наличия или отсутствия жалоб на нарушения обоняния.

Из тех пациентов, которым проводили ольфактометрию, результаты ольфактометрического теста не совпали с самостоятельной оценкой обоняния у 9 пациентов (9/44, 20,4%, 95% ДИ [9,8%; 35,3%]). Таким образом, после проведения Sniffin' Sticks Test в первую подгруппу было включено 37 пациентов с синдромом Кальмана (48,0%, 95% ДИ [36,5% 59,7%]), а во вторую подгруппу – 40 пациентов с нормосмическим вариантом ВИГГ (51,9%, 95% ДИ [40,2% 63,4%]). Статистически значимых различий в клинко-гормональных параметрах, кроме количества баллов, набранных по результатам ольфактометрии, между подгруппами (с учетом поправки Бонферрони) не выявлено (табл.16). Частота синдрома Кальмана в подгруппах мальчиков и девочек была сопоставима (31/62, 50,0%, 95% ДИ [37,0; 62,9] против 6/15, 40,0%, 95% ДИ [16,3; 67,7], $p=0,419$, критерий Хи-квадрат Пирсона).

*Таблица 16. Клинико-гормональные характеристики пациентов
с синдромом Кальмана и НВИГГ*

Параметр Ме [Q1;Q3], мм	N	Синдром Кальмана, (n=37)	НВИГГ, (n=40)	p
Длина при рождении, см	73	51,1 [45,0; 57,0]	52,3 [42; 58]	0,064
Масса при рождении, г	73	3247 [2100; 4200]	3700 [2850; 4500]	0,012
Средний объем яичек по данным УЗИ (мальчики), мл	62	1,6 [0,1;13,0]	0,7 [0,5;1,1]	0,284
Средний объем яичек по орхидометру Прадера, мл	62	1,9 [0,1;9,0]	2,1 [1,0;5,0]	0,006
Базальный ЛГ, Ед/л	77	0,2 [0,2; 0,3]	0,2 [0,1;0,4]	0,344
Базальный ФСГ, Ед/л,	77	0,7 [0,7; 0,9]	0,7 [0,6;1,0]	0,982
Тестостерон (мальчики), нмоль/л	62	0,5 [0,4;0,8]	0,6 [0,4;0,7]	0,983
Эстрадиол (девочки), нмоль/л	15	66,9 [59,3; 80,0]	53,0 [18,0; 63,0]	0,156
Мак уровень ЛГ на пробе с аналогом ГнРГ, Ед/л	77	1,4 [0,5; 2,6]	1,65 [0,8; 4,1]	0,326
Длина матки, мм	15	32,0 [28,0; 35,0]	33,0 [30,0; 37,0]	0,829
Ингибин В (мальчики), пг/мл	48	53,4 [2,6;280,0]	69,6 [10,0;183,5]	0,064
АМГ (мальчики), нг/мл	48	20,1 [1,0;70,0]	40,3 [2,57;152]	0,019
АМГ (девочки), нг/мл	10	1,7 [1,1; 3,0]	3,4 [0,9; 4,3]	0,520
Микропения, n, %	20	14/32	6/30	0,045
Нерепродуктивный фенотип, n, %	62	13/37, 40,5%	11/40, 27,5%	0,193
Ольфактометрическое исследование, баллы	34	2 [1;4]	11 [11; 12]	0,001

Скорректированный поправкой Бонферрони p-value=0,003

Описательная статистика количественных признаков представлена медианами и интерквартильными интервалами - Ме [Q1; Q3].

Для оценки количественных показателей применялся критерий Манна-Уитни.

Качественные характеристики представлены в виде абсолютных значений (n) и частот (%).

Для оценки качественных характеристик – двусторонний точный критерий Фишера.

Оценка обонятельных луковиц с помощью МРТ проводилась у 34 пациентов с ВИГГ (30 мальчиков и 4 девочки: 19 мальчиков и 3 девочки с синдромом Кальмана и 11 мальчиков и 1 девочка с НВИГГ). По данным МРТ почти в половине случаев у пациентов с ВИГГ определялась гипоплазия обеих обонятельных луковиц (ОЛ) (16/34, 47,1%, 95% ДИ [25,3%; 69,6%]). Аплазия обеих ОЛ определялась у 7/34 (20,7%, 95% ДИ [8,7%; 37,9%]), у 5 - аплазия левой при гипоплазии правой (14,8%, 95% ДИ [4,9%; 31,0%]), у 2 – гипоплазия левой луковицы (5,8%, 95% ДИ [0,7%; 19,6%]), у 1 – аплазия правой луковицы (2,9%, 95% ДИ [0,07%; 15,3%]), у 1 – гипоплазия правой (2,9%, 95% ДИ [0,07%; 15,3%]), у 1 – аплазия правой при гипоплазии левой (2,9%, 95% ДИ [0,07%; 15,3%]). Нормальные размеры луковиц отмечались только у 1 пациента (2,9%, 95% ДИ [0,07%; 15,3%]). Аплазии левой луковицы ни у кого не отмечалось.

Двусторонние изменения отмечались у 29/34 (85,2%, 95% ДИ [68,9%; 95,1%]) пациентов, односторонние – у 4/34 (11,7%, 95% ДИ [3,0%; 27,4%]).

Проведенный корреляционный анализ не установил взаимосвязи между баллами, полученными по результатам Sniffin' Sticks Test и размерами луковиц ($p > 0,05$).

Размеры обонятельных луковиц мальчиков не коррелировали с базальным объемом яичек у мальчиков (r от -0,05 до 0,24, $p > 0,05$), уровнем ингибина В до терапии (r от 0,11 до 0,20, $p > 0,05$), базальным уровнем ЛГ (r от -0,09 до 0,13). Размеры обонятельных луковиц не отличались в подгруппах пациентов с выявленной вариантной заменой и без нее ($p > 0,05$, по критерию Манна Уитни). Размеры луковиц у пациентов с микропенией и без нее достоверно не отличались ($p > 0,05$ по критерию Манна-Уитни). Не отличались размеры луковиц и при сравнении в подгруппах пациентов с крипторхизмом и без него ($p > 0,05$ по критерию Манна-Уитни). Статистически значимых

различий не было выявлено при сравнении размеров луковиц между пациентами с полной и неполной формами заболевания ($p=0,02$, в то время как пороговый p -value после применения поправки Бонферрони = 0,013).

И ольфактометрическое исследование, и оценка обонятельных луковиц были проведены 25 пациентам с гипогонадизмом. Результаты представлены в таблице 17.

Таблица 17. Результаты ольфактометрического исследования и данных МРТ

Данные МРТ	Ольфактометрия		
	Аносмия	Гипосмия	Нормосмия
Гипоплазия обеих ОЛ (n=10)	3/25, 12,0% 95% ДИ [2,5; 31,2]	2/25, 8,0% 95% ДИ [1,0; 26,0]	5/25, 20,0% 95% ДИ [6,8; 40,7]
Аплазия обеих ОЛ (n=6)	5/25, 20,0% 95% ДИ [6,8; 40,7]	0/25	1/25, 4,0% 95% ДИ [0,1; 20,3]
Односторонняя гипоплазия ОЛ (n=3)	3/25, 12,0% 95% ДИ [2,5; 31,2]	0/25	0/25
Односторонняя аплазия ОЛ (n=1)	1/25, 4,0% 95% ДИ [0,1; 20,3]	0/25	0/25
Аплазия одной ОЛ при гипоплазии другой ОЛ (n=4)	3/25, 12,0% 95% ДИ [2,5; 31,2]	1/25, 4,0% 95% ДИ [0,1; 20,3]	0/25
Нормальный размер луковиц (n=1)	0/25	0/25	1/25, 4,0% 95% ДИ [0,1; 20,3]

Как видно из таблицы, при одном и том же состоянии обонятельных луковиц по данным МРТ обонятельная функция у пациентов различалась: так, двустороннее уменьшение размеров луковиц у 3 пациентов сопровождалось

аносмией, у 2 – снижением обонятельной функции (гипосмией) и у 5 не приводило к нарушению обоняния. При аплазии обонятельных луковиц у большинства пациентов по данным ольфактометрии была диагностирована anosmia, однако у одного пациента не было выявлено каких-либо нарушений обонятельной функции.

Проводился анализ размеров обонятельных луковиц в подгруппах пациентов с синдромом Кальмана (n=22) и с НВИГГ (n=12), обонятельная функция у всех пациентов оценивалась с помощью ольфактометрического исследования (n=34). Подгруппы были сопоставимы по показателям возраста (p=0,293), пола (p=0,346), роста (p=0,581), массы тела (p=0,579). Размеры луковиц не отличались в подгруппах пациентов с СК и НВИГГ (табл.18). В подгруппе пациентов с СК, как и в общей когорте пациентов с ВИГГ, чаще всего выявлялась гипоплазия обеих луковиц 8/22 (36,3%, 95% ДИ [17,2; 59,3]). Двусторонняя гипоплазия или аплазия луковиц отмечалась у 15/22 пациентов с СК (68,1%, 95% ДИ [45,1; 86,1]). В подгруппе детей с НВИГГ все случаи изменения размеров обонятельных луковиц являлись двусторонними: в 8/12 случаев – гипоплазия обеих ОЛ (66,6%, 95% ДИ [34,8; 90,0]), 3/12 - аплазия обеих обонятельных луковиц (25,0%, 95% ДИ [5,4; 57,9%])

Таблица 18. Размеры обонятельных луковиц у пациентов с синдромом Кальмана и НВИГГ.

Параметр Me [Q1;Q3], мм		Синдром Кальмана (n=22)	НВИГГ (n=12)	P
Правая луковица	Высота	0,8 [0,0;1,5]	1,1 [0,7;2,4]	0,283
	Ширина	0,5 [0,0;1,2]	1,7 [0,4;2,2]	0,122
Левая луковица	Высота	0,0 [0,0;1,1]	0,8 [0,0;1,5]	0,238
	Ширина	0,0 [0,0;1,1]	0,8 [0,0;1,4]	0,186

Скорректированный поправкой Бонферрони P - value=0,001

Применен критерий Манна-Уитни.

Также проводилось сравнение с группой сравнения. Основную группу составили 20 детей с ВИГГ (16 мальчиков и 4 девочки). В группу сравнения были включены 16 пациентов (9 мальчиков и 7 девочек). Группы сопоставимы по полу, возрасту и антропометрическим характеристикам (табл.19).

Таблица 19. Характеристика пациентов с ВИГГ и пациентов из группы сравнения, которым проводилась оценка размеров обонятельных луковиц

Параметр Me [Q1;Q3]	ВИГГ (n=20)	Группа сравнения (n=16)	P
Возраст, лет	14,6 [14,1; 16,2]	15,3 [14,0; 17,5]	0,073
Пол, м/ж	16/4	9/7	0,242
Рост, мм	160,0 [138,2; 175,5]	168,0 [138,1; 190,0]	0,112
Масса тела, кг	56,2 [33,5; 93,0]	60,9 [31,5; 89,0]	0,780

Скорректированный поправкой Бонферрони P - value =0,001

*Для оценки сопоставимости показателей возраста, роста и массы тела применялся критерий Манна-Уитни. **Для оценки сопоставимости по полу - точный критерий Фишера.

На рисунках 19 и 20 представлены результаты МРТ исследования обонятельных луковиц у пациентки из группы сравнения и отсутствие обонятельных луковиц у мальчика с синдромом Кальмана.

Таблица 20. Размеры луковиц у пациентов с ВИГГ и в группе сравнения

Параметр Me [Q1;Q3], мм		ВИГГ (n=20)	Группа сравнения (n=16)	p
Правая луковица	Высота	1,0 [0,0;1,8]	3,0 [2,5;3,2]	<0,01
	Ширина	0,7 [0,0;1,9]	3,0 [2,0;3,2]	<0,01
Левая луковица	Высота	0,45 [0,0;1,1]	3,0 [2,8;3,2]	<0,01
	Ширина	0,3 [0,0;1,1]	2,5 [2,0;3,0]	<0,01

Скорректированный поправкой Бонферрони P - value =0,001

Применен критерий Манна - Уитни

Размеры лукович достоверно различались у пациентов с ВИГГ и у пациентов из группы сравнения (табл.20, рис. 21-24).

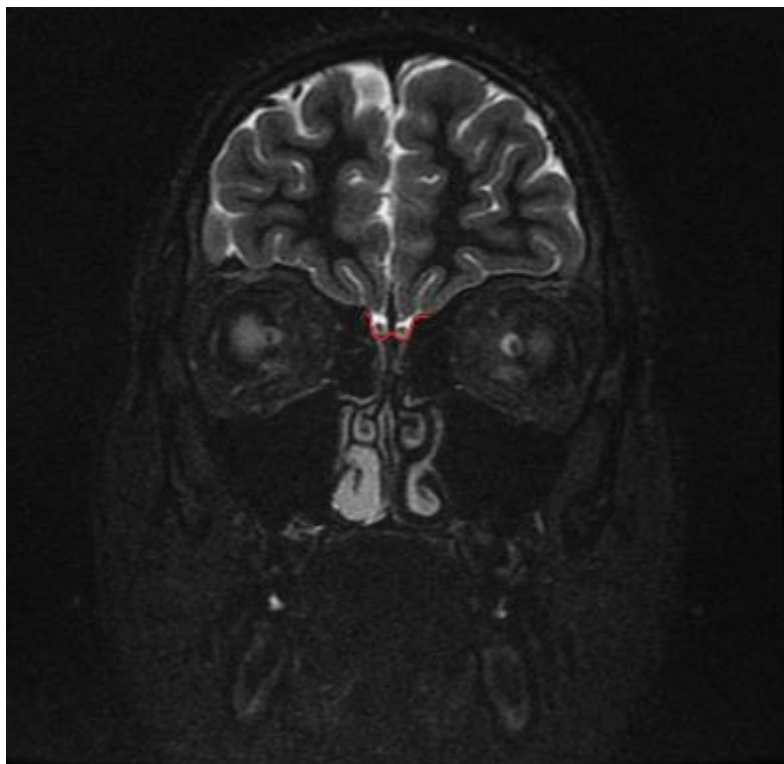


Рисунок 19. Нормальные обонятельные луковичы у девочки из группы сравнения.

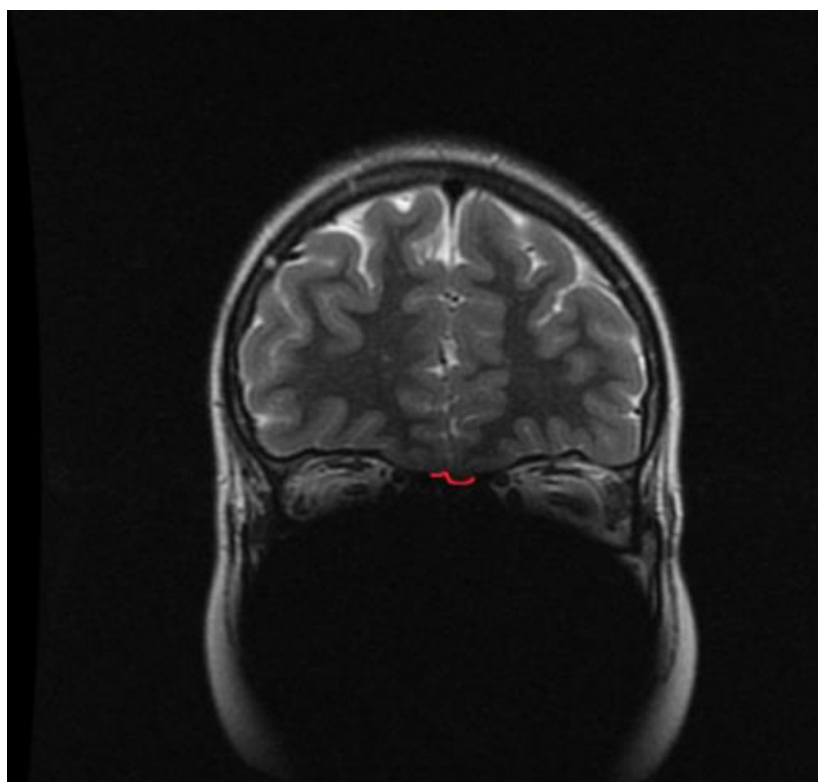


Рисунок 20. Отсутствие обонятельных лукович у мальчика с синдромом Кальмана.

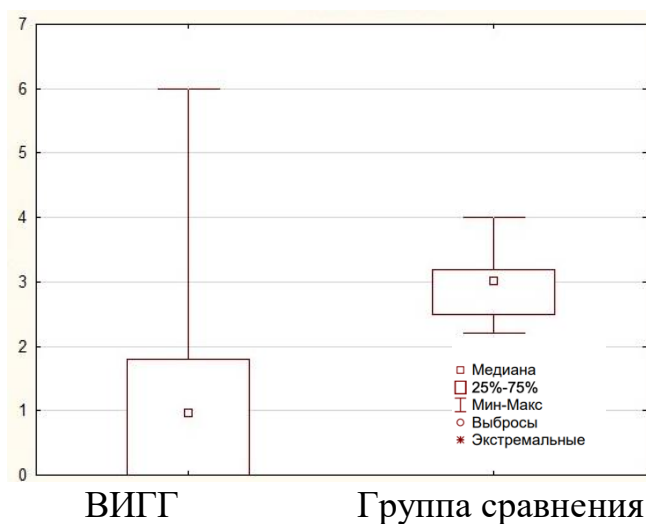


Рисунок 21. Высота правой луковицы, мм, мальчики, $Me [Q1; Q3]$, $p < 0,01$

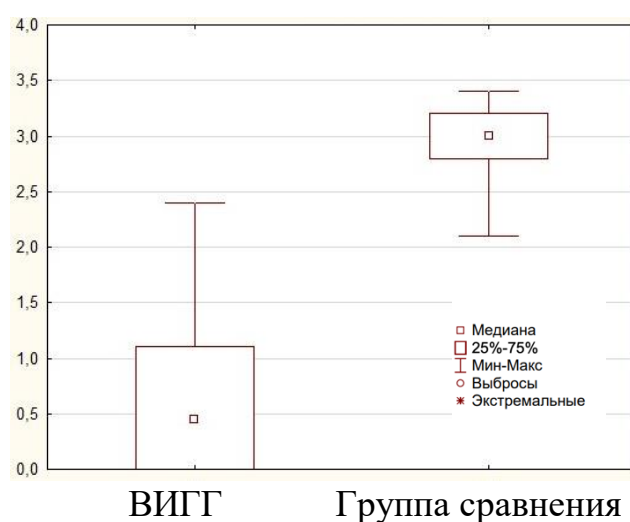


Рисунок 22. Высота левой луковицы, мм, мальчики, $Me [Q1; Q3]$, $p < 0,01$

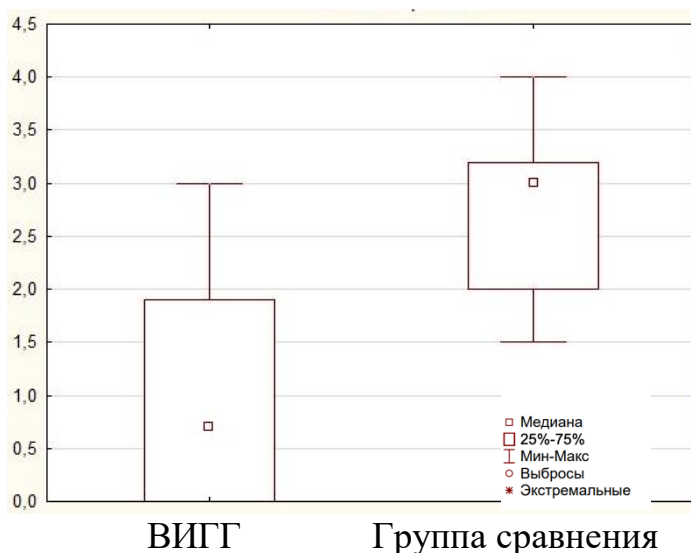


Рисунок 23. Ширина правой луковицы, мм, мальчики, $Me [Q1; Q3]$, $p < 0,01$

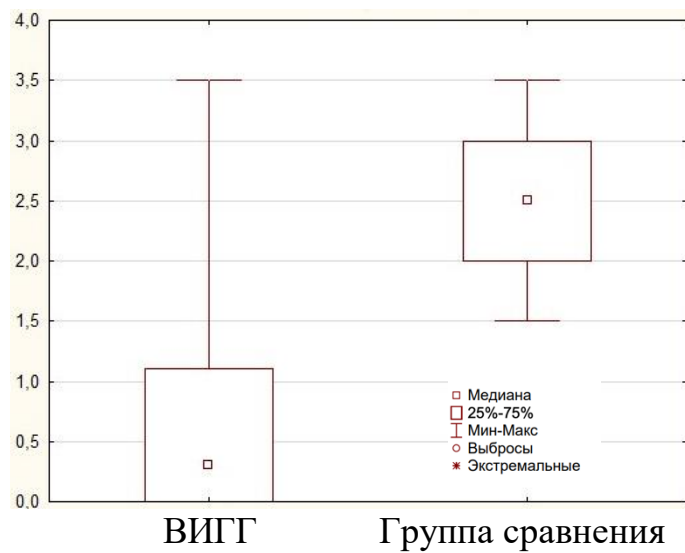


Рисунок 24. Ширина левой луковицы, мм, мальчики, $Me [Q1; Q3]$, $p < 0,01$.

3.6 Инициация пубертата препаратами гонадотропинов у мальчиков с ВИГГ

Один из фрагментов исследования включал в себя оценку стадии полового развития, объема гонад и уровней тестостерона, АМГ и ингибина В на фоне инициации пубертата гонадотропинами (ХГч и рекомбинантным ФСГ). 15 мальчиков с полной формой заболевания, из которых 8 наблюдались с СК, 7 – с НВИГГ, получали препараты гонадотропинов в течение $9,2 \pm 3,9$ месяцев. Начальная доза препаратов ХГч составила 500,0 [500,0; 2000,0] МЕ в

неделю, рФСГ - 37,5 [37,5; 81,3] МЕ в неделю. Через полгода дозы препаратов были увеличены в 2 раза.

На рис.25-26 представлена динамика полового развития пациентов через $9,2 \pm 3,9$ месяцев терапии.

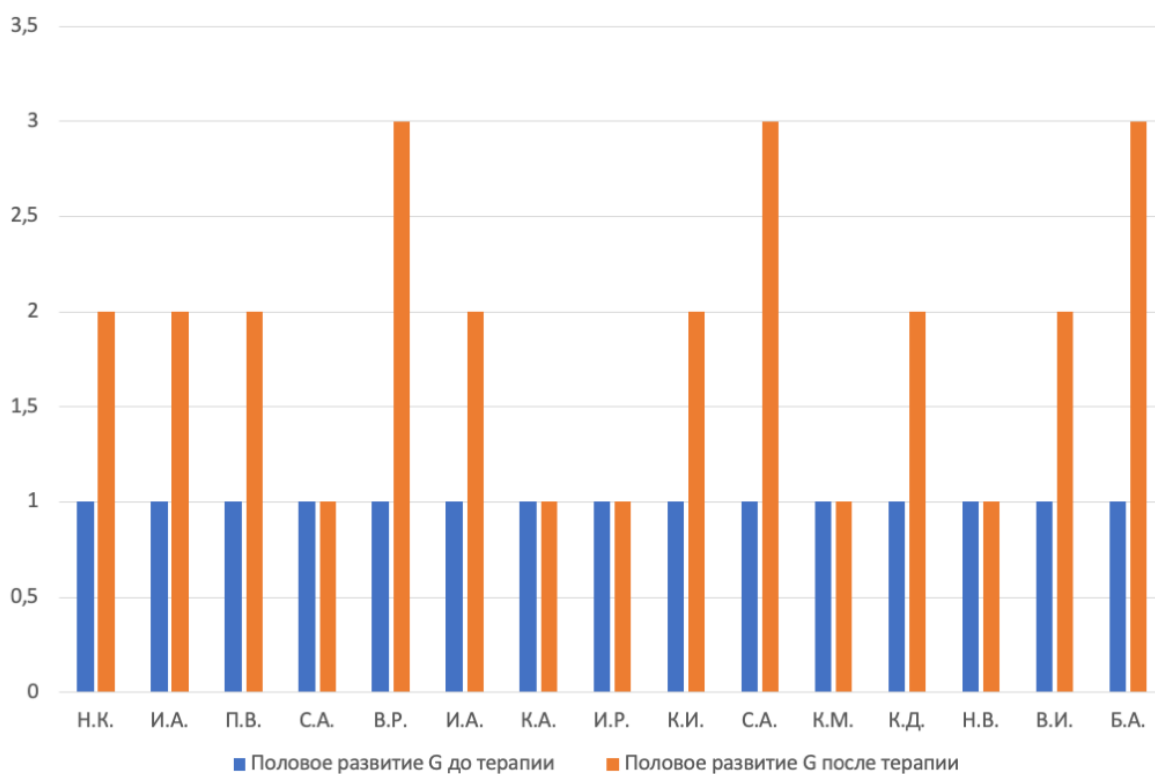


Рисунок 25. Динамика полового развития G (изменения мошонки и полового члена)

У подавляющего большинства подростков (10/15, 66,6%, 95% ДИ [38,3; 88,2%]) на фоне терапии отмечалось прогрессирование полового развития (G): у 7-ми пациентов - со стадии G1 до стадии G2 (увеличение полового члена, отвисание мошонки, изменение структуры мошонки и ее пигментирование), у 3 - до стадии G3 (дальнейшее увеличение и утолщение полового члена). Прогрессия пубархе как минимум на 1 стадию отмечалась у 7/15 мальчиков с ВИГГ (46,6%, 95% ДИ [21,2; 73,4]).

По лабораторным данным на фоне лечения достоверно увеличился уровень тестостерона ($p < 0,001$). Объем яичек, показатели ингибина В, АМГ,

костного возраста с учетом поправки Бонферрони статистически значимо не изменились (табл.21, рис. 27-30).

Нежелательных явлений на фоне терапии не отмечалось.

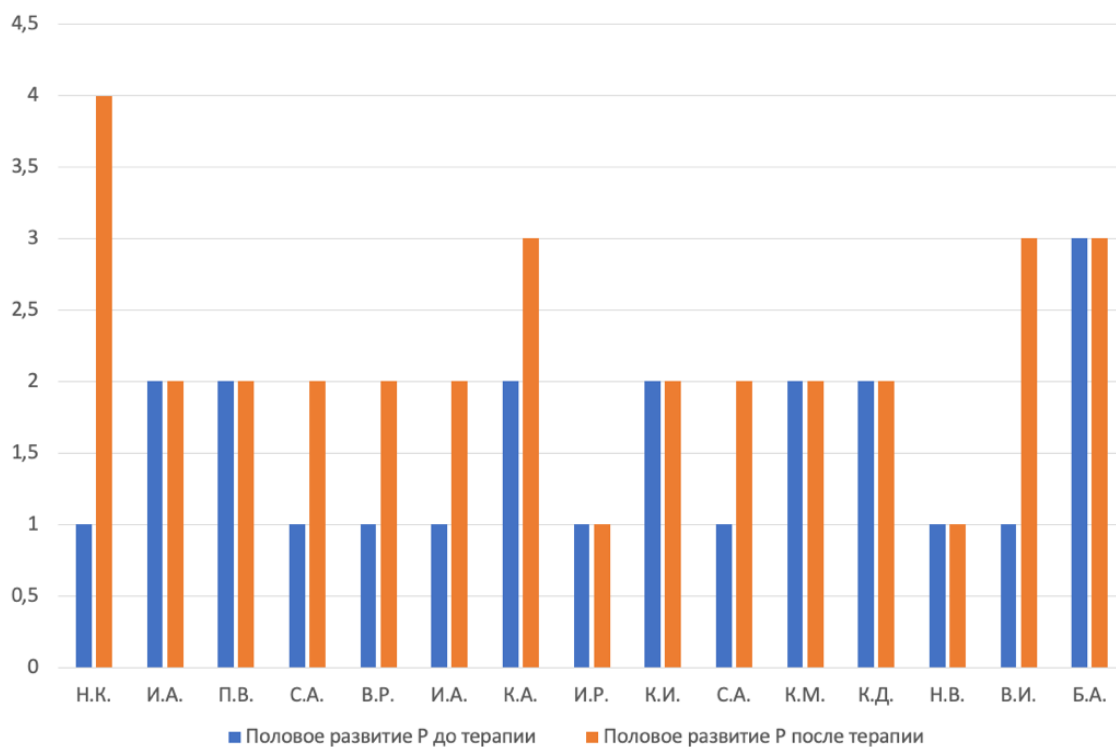


Рисунок 26. Динамика полового развития Р

При проведении корреляционного анализа установлена прямая взаимосвязь между базальными уровнями ингибина В ($r=0,62$, $p=0,034$), АМГ ($r=0,58$, $p=0,042$) и объемом гонад по данным УЗИ через $9,2 \pm 3,9$ месяцев терапии. Обратная взаимосвязь установлена между объемом гонад и АМГ после лечения ($r=-0,7$, $p=0,028$).

*Таблица 21. Клинико-гормональная характеристика пациентов до и после
лечения гонадотропинами*

Скорректированный поправкой Бонферонни p-value = 0,005

Показатель Me [Q1; Q3]	До лечения (n=15)	Через 9,2 ±3,9 мес лечения (n=15)	Критерий Уилкоксона p-value
SDS роста, SD n=15	-1,0 [-1,9; -0,6]	-0,7 [-2,0; -0,1]	0,046
SDS верхнего сегмента, SD, n=13	-2,4 [-2,6; -1,6]	-2,4 [-3,0; -1,8]	0,441
SDS нижнего сегмента, SD, n=13	-0,1 [-0,9; 1,4]	0,6 [-1,3; 1,7]	0,085
Средний объем яичек по орхидометру Прадер, мл, n=15	1,0 [1,0; 2,0]	3,0 [2,0; 4,0]	0,043
Средний объем яичек по УЗИ, мл, n=10	0,7 [0,5; 0,9]	0,9 [0,5; 1,3]	0,202
Тестостерон, нмоль/л, n=15	0,5 [0,4; 0,6]	7,0 [0,6; 10,0]	0,001
Ингибин В, нг/мл, n=15	23,6 [15,3; 72,0]	34,3 [24,5; 92,5]	0,133
АМГ, нг/мл n=13	18,3 [13,0; 43,5]	25,1 [5,2; 33,1]	0,637
Костный возраст, год n=8	12,5 [13,5; 13,5]	13,5 [13,5; 14,0]	0,178

Применялся критерий Уилкоксона

Скорректированный поправкой Бонферонни p-value = 0,005

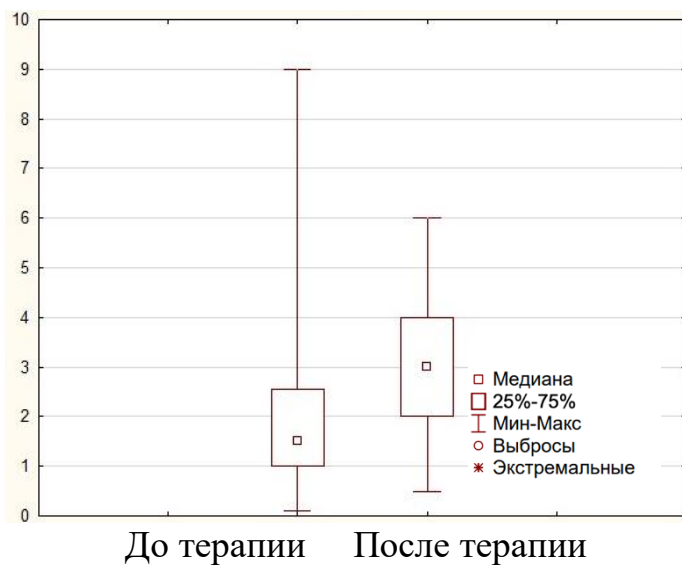


Рисунок 27. Средний объем гонад по орхидометру Прадера до и после терапии, мл, Ме [Q1; Q3], $p=0,043$

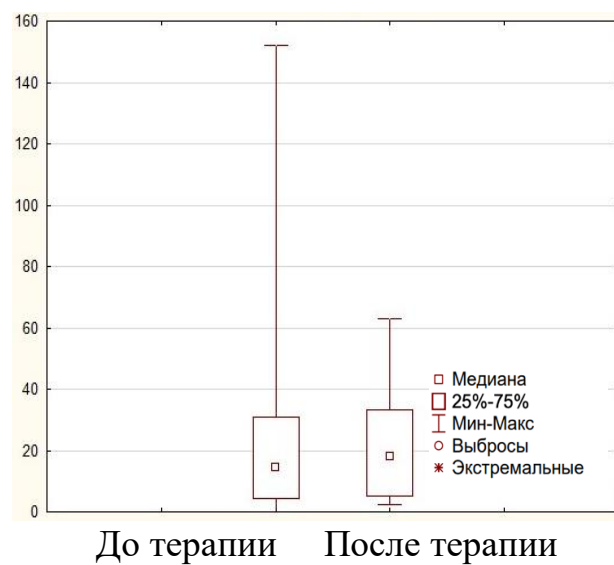


Рисунок 22. Уровень АМГ до и после терапии, нг/мл, Ме [Q1; Q3], $p=0,637$

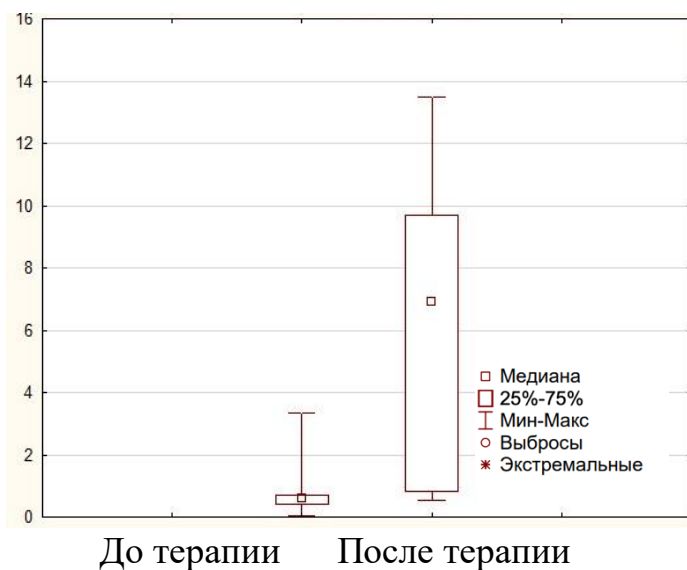


Рисунок 29. Уровень тестостерона до и после терапии, нмоль/л, Ме [Q1; Q3], $p=0,001$

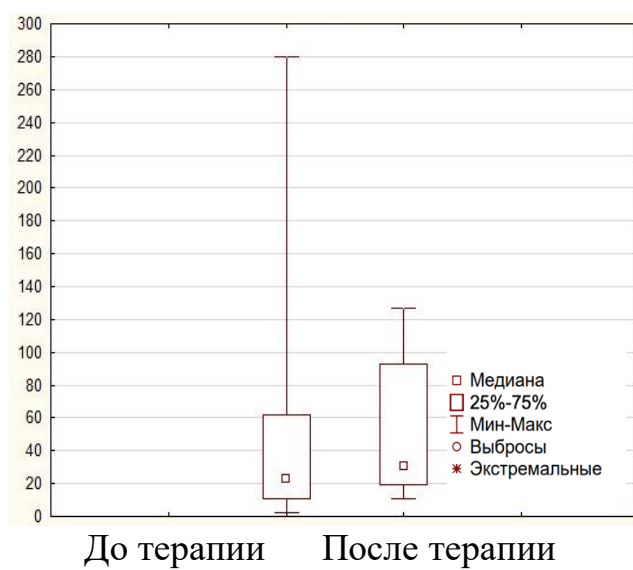


Рисунок 30. Уровень ингибина В до и после терапии, пг/мл, Ме [Q1; Q3], $p=0,133$

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Соотношение мальчиков и девочек с ВИГГ в нашей работе составило 4:1, что соответствует результатам американских и европейских исследований с участием большого количества пациентов (>200), соотношение мужчин и женщин с ВИГГ в которых составило в среднем 3,6:1 [127]–[130].

Преобладание неполных форм заболевания среди девочек, по-видимому, объясняет тенденцию к постановке диагноза у данной когорты пациенток в более позднем возрасте в сравнении с мальчиками (16,5 лет [16,0; 17,3] у девочек против 13,9 [10,0; 15,1] лет у мальчиков, $p=0,042$ при пороговом p -value после применения поправки Бонферрони $p=0,03$).

В нашей работе впервые в России в когорте девочек с ВИГГ был исследован уровень АМГ, медиана которого составила 3,1 нг/мл [1,0; 4,2] $n=13$). Антимюллеров гормон у лиц женского пола исследуется для оценки овариального резерва. Этот гликопротеин вырабатывается в яичниках растущими фолликулами, в основном, диаметром менее 4 мм[131]. Основная роль АМГ у девушек состоит в ингибировании роста примордиальных фолликулов, что способствует созреванию единичного доминантного фолликула. Максимальные значения АМГ у девушек определяются перед началом полового развития и в раннем пубертатном периоде, снижаясь на протяжении репродуктивного возраста по мере истощения овариального резерва[131]. По результатам исследования 2013 года, в котором приняли участие более 1300 здоровых девушек, Anderson и соавт. установили, что в подростковом возрасте медиана уровня АМГ составляет 3,57 нг/мл [2,41; 5,49] [132]. Накапливаются знания об уровне АМГ при различных заболеваниях. Так, при овариальной гиперандрогении секреция АМГ значимо повышается[133].

Данные об уровне АМГ у девушек с ВИГГ разнятся. По результатам исследования Bry-Gaillard и соавт. 2017 года с участием 68 пациенток, включая 38 девушек с синдромом Кальмана, пациентки с изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом имели достоверно более низкий уровень АМГ, чем пациентки из группы контроля. Напротив, в исследовании Alemyar и соавт. 2020 года уровень АМГ у девушек с гипогонадотропным гипогонадизмом оказался выше, чем у здоровых женщин в группе контроля (3,8 нг/мл [0,1; 19,8] против 1,9 нг/мл [0,1; 21,5] в группе контроля ($p < 0,001$)), несмотря на то, что у девушек с гипогонадизмом отмечалось общее снижение количества фолликулов по данным УЗИ[134]. Авторы объясняют такое повышение АМГ у девушек с гипогонадизмом большим пулом антральных фолликулов с неопределяемыми посредством УЗИ размерами (менее 2 мм в диаметре).

Другим маркером состояния овариального резерва у девушек считается ингибин В. Так же, как и АМГ, ингибин В является гликопротеином, вырабатывается в яичниках, относится к семейству трансформирующих факторов роста, наиболее активно секретируется в пубертатном возрасте, так как играет важную роль в ФСГ-зависимом фолликулогенезе. Его уровень увеличивается пропорционально увеличению числа фолликулов[131], [135]. Основное отличие функции ингибина В от функции АМГ в том, что АМГ секретируется в клетках не только антральных, но и преантральных фолликулов, в то время как ингибин В контролирует рост, в основном, малых антральных фолликулов. Именно по этой причине основным маркером овариального резерва считают АМГ[131], [135].

Уровень ингибина В у девочек до пубертата составляет 26,5 пг/мл [20; 100] пг/мл. На 2 стадии полового развития уровень ингибина В резко повышается, достигая к 3 стадии 84 пг/мл [28; 227] пг/мл. Уровень ингибина В у девушек с гипогонадотропным гипогонадизмом достоверно ниже, чем у здоровых девушек[136], [137]. Binder и соавт. предлагают использовать в

качестве точки отсечения «cut-off» для ингибина В у девушек с гипогонадотропным гипогонадизмом показатель 20 пг/мл[138]. Показатели менее 20 пг/мл по результатам исследования свидетельствуют о конституциональной задержке пубертата. Авторы метаанализа 2021 года также предлагают использовать точку отсечения в 20 пг/мл в дифференциальной диагностике между гипогонадотропным гипогонадизмом и конституциональной задержкой пубертата у девочек[139]. Медиана ингибина В у наших пациенток с ВИГГ (n=11) составила 11,8 пг/мл [10,0; 14,1]. Определение точки отсечения по ингибину В и АМГ и дискриминационной способности данных методов дифференциальной диагностики конституциональной задержки пубертата и гипогонадотропного гипогонадизма является предметом дальнейших исследований в данной области.

По результатам нашей работы те или иные молекулярно-генетические дефекты отмечались у 57,1% подростков, что соответствует мировым данным: установить молекулярно-генетическую природу ВИГГ, как правило, удастся в 40-50% случаев заболевания[140]. Такие высокие показатели выявляемости генетических изменений стали возможными благодаря применению метода массового секвенирования следующего поколения NGS. Однако этот метод имеет ряд ограничений, одним из которых является отсутствие возможности достоверной диагностики крупных хромосомных перестроек, например, делеций. Диагностика крупных делеций у 4/77 пациентов из нашего исследования была проведена с помощью хромосомного микроматричного анализа и полногеномного секвенирования с неглубоким покрытием. Исследование генов, входящих в панель «Гипогонадотропный гипогонадизм» у этих пациентов, не позволило бы достоверно диагностировать протяженную делецию. Возможно, внедрение в практику методов, позволяющих выявлять крупные хромосомные перестройки, наряду с методом NGS, позволит устанавливать причину заболевания в большем проценте случаев. Так, в

работе Laitinen у пациентов с ВИГГ, кроме NGS, для детекции крупных делеций в некоторых генах применялся метод MLPA[7]. Более того, проведение ХМА или MLPA у пациентов с ВИГГ, которые являются носителями гетерозиготной вариантной замены в гене *GNRHR*, гипогонадизм при котором наследуется аутосомно-рецессивно, возможно, позволило бы выявить крупные хромосомные перестройки участка гомологичной хромосомы и объяснить наличие заболевания у ребенка. Также обосновано применение данных методов у пациентов с ВИГГ при биаллельных гетерозиготных вариантных заменах в гене *GNRHR* в цис-положении. Применение MLPA также актуально для выявления дефектов в гене *ANOS1*, 14 экзон которого характеризуется наличием псевдогена *ANOS2P* на длинном плече Y-хромосомы. Наличие псевдогена обуславливает возможность генной конверсии, делеции и т.д. Выявление данного состояния возможно только при помощи методов, диагностирующих хромосомные перестройки[141].

В нашей когорте пациентов наиболее часто патогенные вариантные замены выявлялись в гене рецептора гонадотропин-рилизинг гормона *GNRHR*, гене аносмина *ANOS1* (он же *KALI*) и гене рецептора фактора роста фибробластов 1-го типа *FGFR1*, что соответствует данным популяционных зарубежных исследований [41], [48], [49]. Ни у одной из девочек с ВИГГ, участвующих в нашем исследовании, не отмечалось изменений в гене *ANOS1*. Несмотря на X-сцепленное наследование гена и традиционные представления о необходимости наличия изменений на обеих X-хромосомах для проявления заболевания у лиц женского пола, в литературе описаны случаи развития ВИГГ у девушек при гетерозиготных вариантных заменах в гене *ANOS1*[70].

В FGF-пути, кроме аносмина и рецептора к фактору роста фибробластов 1-го типа, участвуют фактор роста фибробластов 8-го типа (ген *FGF8*) и гепарансульфат6-сульфотрансфераза (ген *HS6ST1*). По данным нашего исследования вариантные замены в генах *FGF8* и *HS6ST1* встречались только у мальчиков с ВИГГ, что, по-видимому, объясняется избеганием X-

инактивации геном *ANOS1* в женских клетках, который нивелирует молекулярно-генетические нарушения в генах FGF-пути у девочек, предотвращая развитие ВИГГ.

Вариантные замены в гене *HS6ST1* в нашей когорте пациентов встречались только в составе олигогенных нарушений, что соответствует мировым данным. Ген *HS6ST1* картирован на длинном плече 2 хромосомы; продуктом экспрессии данного гена является белок гепарансульфат6-сульфотрансфераза, который играет важную роль в развитии нервной системы и формировании конечностей. Изолированные изменения в данном гене обычно не сопровождаются развитием ВИГГ в отличие от сочетанных нарушений при олигогенном наследовании[142]. У наших пациентов дефекты в гене *HS6ST1* носили характер вариантных замен неизвестной клинической значимости и сочетались у одного пациента с вариантными заменами в генах *WDR11* и *POLR3A*, а у другого – в гене *CHD7*. Moon и соавт. в 2022 году, по результатам исследования *in vivo* на мышах, предположили, что FGF-путь реализуется не напрямую, а посредством влияния гена *CHD7* на экспрессию других генов[143]. Результаты данного исследования позволяют объяснить развитие ВИГГ у нашего пациента с сочетанными вариантными заменами в генах *CHD7* и *HS6ST1*, однако не объясняют развитие у него неполной формы заболевания.

В нашей работе у одного из мальчиков была выявлена гетерозиготная вариантная замена в гене *MKRN3* p.S439G неизвестной клинической значимости, которая являлась изменением *de novo*. Вариантные замены в этом гене ассоциированы практически с половиной случаев семейных форм преждевременного полового развития[144]. Считается, что продукт экспрессии данного гена, белок макорин, оказывает ингибирующее действие на секрецию гонадолиберина. Инактивирующие вариантные замены в гене *MKRN3* ассоциированы с ранней активацией секреции гонадолиберина в гипоталамусе, что клинически проявляется преждевременным половым

развитием. Предполагается, что активирующие вариантные замены, наоборот, могут быть ассоциированы с персистенцией макорина и развитием ВИГГ. В исследовании *in vitro* Stamou и соавт., проведенном в 2020 году, на 21 день дифференцировки в клетках-производных нервного гребня (neural crest cells, NCC) пациента с синдромом Кальмана наблюдалось 2-х кратное достоверное повышение экспрессии гена *MKRN3*[145], что позволило авторам исследования высказать предположение о рассмотрении гена *MKRN3* в качестве гена-кандидата ВИГГ, однако данная гипотеза требует подтверждения в дальнейших исследованиях, одним из которых является оценка патогенности выявленной вариантной замены с помощью анализа *in silico*.

У пациента с ожирением с раннего возраста по данным молекулярно-генетического исследования была выявлена гетерозиготная патогенная делеция в гене рецептора меланокортина-4 *MC4R*, приводящая к сдвигу рамки считывания и терминации экспрессии белка (p.Leu211MetfsTer6). Данная делеция была описана ранее у ребенка с ожирением, развившемся до 10 лет[146]. Однако с развитием гипогонадизма подобные гетерозиготные изменения не ассоциированы, в связи с чем делеция была классифицирована как вариант неизвестной клинической значимости. Интересно, что гомозиготные вариантные замены в данном гене описаны при врожденном изолированном гипогонадизме, что свидетельствует о влиянии продукта гена *MC4R* на половое развитие и требует проведения дальнейших исследований [147].

У одного из мальчиков с синдромом Кальмана при проведении полноэкзомного секвенирования была диагностирована ранее не описанная вариантная нуклеотидная замена chr11:31790016A>G в гене *PAX6* в гетерозиготном состоянии, приводящая к аминокислотной замене Thr394Pro. По совокупности сведений данный вариант был классифицирован как вариант с неизвестной клинической значимостью несмотря на то, что компьютерные

программы предсказывали патогенное влияние на белок. Гетерозиготные вариантные замены в гене *PAX6* описаны при аниридии (отсутствии радужки), катаракте с поздней дистрофией роговицы, фовеальной гипоплазии, кератите, гипоплазии и колобоме зрительного нерва. У нашего пациента не отмечалось нарушения зрения, однако, с учетом их развития в более позднем возрасте пациенту было рекомендовано наблюдение у офтальмолога. На настоящий момент недостаточно данных для того, чтобы утверждать, что изменения в данном гене могут приводить к развитию ВИГГ, однако в исследовании Zhou и соавт., проведенном в 2018 году, вариантные замены в гене *PAX6* определялись у 2,6% мужчин с ВИГГ (всего в исследовании приняли участие 137 пациентов с гипогонадизмом)[148], [149], в связи с чем авторы исследования предлагают рассматривать ген *PAX6* в качестве одного из генов-кандидатов при гипогонадизме. Результаты более раннего исследования *in vivo* на мышах также подтверждают это, доказывая, что продукт гена *PAX6* является важным транскрипционным фактором, регулирующим миграцию и дифференцировку клеток гипофиза [150].

Одному из пациентов с выраженными множественными стигмами дисэмбриогенеза и сопутствующими патологиями (задержка роста, коронаро-легочная фистула, сходящееся косоглазие, задержка психомоторного развития) так же было проведено полноэкзомное секвенирование, которое выявило ранее не описанный в литературе вариант chr11:119278159A>G в акцепторном сайте сплайсинга 7 экзона гена *CBL* (NM 005188.4). Изменения в данном гене описаны у пациентов с Нунан-подобными заболеваниями и ювенильным миеломоноцитарным лейкозом. Как правило, при Нунан-подобных заболеваниях у пациентов возникает гипергонадотропный гипогонадизм, однако в литературе описаны случаи гипогонадотропного гипогонадизма при синдроме Нунан [151] и при таком Нунан-подобном синдроме, как LEOPARD[152]. Вероятность развития гипофункции гипофиза у пациентов с данными заболеваниями, возможно, обуславливает включение

гена *CBL* и других генов, ассоциированных с RAS-патиями, в панель «гипогонадотропный гипогонадизм».

Олигогенное наследование ВИГГ в нашей работе было подтверждено у 7,8% (95% ДИ [2,9; 16,1%]) детей: у 8% мальчиков и у 6,7% девочек. По данным зарубежных работ частота олигогенизма при ВИГГ разнится, составляя от 9,8 до 27,7% и зависит от того, какие гены были внесены в используемую в исследовании панель[50].

По результатам нашего исследования патогенные и вероятно патогенные дефекты были диагностированы в 31,1% пациентов с ВИГГ (95% ДИ [19,9; 41,3]). Полученные данные согласуются с результатами зарубежных исследований. Так, в исследовании итальянских эндокринологов Federici и соавт. с участием 338 подростков с ВИГГ, патогенные варианты отмечались у 36,1% пациентов. Кроме того, в данном исследовании, как и в нашей работе, изучался клинический полиморфизм заболевания[126]: нерепродуктивный фенотип гипогонадотропного гипогонадизма в исследовании Federici и соавт. встречался достоверно чаще у пациентов с синдромом Кальмана ($p=0,02$); в российской когорте подростков с ВИГГ встречался с одинаковой частотой как в подгруппе пациентов с СК, так и пациентов с НВИГГ (после применения поправки Бонферрони). Также в нашей работе встречаемость нерепродуктивного фенотипа была сопоставимой среди мальчиков и девочек, в то время как в исследовании Federici и соавт. нерепродуктивный фенотип достоверно чаще имел место у лиц мужского пола, $p<0,001$.

Встречаемость репродуктивного фенотипа в исследовании Federici и соавт. сопоставима с данными, полученными в нашей работе: так, крипторхизм отмечался у 42,9% (95% ДИ [36,3; 49,5]) мальчиков с ВИГГ, включенных в исследование Federici, а микропения - у 26% (95% ДИ [19,7; 32,2]) [126]. В нашей работе крипторхизм при рождении имел место у 38,7% мальчиков с ВИГГ (95% ДИ [26,6; 51,9]), микропения - у 32,2% (95% ДИ [20,9; 45,3]) (вывод о сопоставимости данных основывается на сравнительном

анализе доверительных интервалов). Однако в некоторых работах частота нарушений репродуктивных органов у пациентов с ВИГГ была значимо выше: в работе Wang и Qin 2022 года с участием 125 пациентов с ВИГГ микропения отмечалась у 80% мальчиков[50]. Более того, микропения в данной работе достоверно чаще имела место у пациентов с синдромом Кальмана (86,2% в группе СК против 65,8% в группе НВИГГ, $p=0,009$) [50], в то время как в нашей работе частота микропении среди данных групп статистически значимо не отличалась ($p=0,045$ при пороговом p -value после применения поправки Бонферрони 0,003), однако необходимо учитывать, что в работе Wang и соавт. диагноз «Синдром Кальмана» устанавливался только на основании жалоб пациентов, а не по результатам ольфактометрического исследования.

В нашем исследовании из 20 мальчиков с микропенией у 8 отмечалось ее сочетание с крипторхизмом (40,0%, 95% ДИ [19,1; 63,9]). В работе Wang и Qin получены сопоставимые данные: из общего числа мальчиков с микропенией сочетание с крипторхизмом отмечалось у 35,2%.

В нашем исследовании у 2/62 мальчиков отмечалась головчатая и стволовая формы гипоспадии. Мнение авторов о том, рассматривать ли гипоспадию в качестве компонента репродуктивного фенотипа мальчиков с ВИГГ разнится. В целом, гипоспадия более характерна для пациентов с тяжелым внутриутробным андрогенным дефицитом и обычно наблюдается у пациентов с нарушениями формирования пола при парциальной или смешанной дистенезией гонад[153]. Несмотря на то, что в большинстве случаев нарушений формирования пола у пациентов отмечаются тяжелые проксимальные гипоспадии, при которых наружное отверстие уретры открывается в члено-мошоночный угол, в область мошонки или в область промежности[154], авторы европейского консенсуса по гипогонадизму предлагают не включать ВИГГ в диагностический поиск при любых формах гипоспадий, так как наличие данного дефекта свидетельствует о недостаточности внутриутробной андрогенной секреции под действием ХГЧ

на ранних этапах жизни плода (до 12 недели) до инициации собственной эндогенной секреции ГнРГ и практически не встречается у данной когорты пациентов [1]. Однако наше исследование не единственное, в котором у пациентов с ВИГГ отмечалась гипоспадия. Так, в исследовании Wang и Qin у гипоспадия имела место у 7 из 125 пациентов. При этом у 6 из 7 пациентов удалось выявить молекулярно-генетические изменения в генах, ассоциированных с гипогонадизмом (*HS6ST1*, *FGF17*, *ANOS1*, *PROKR2*, *CHD7*). Авторы исследования подчеркивают, что гипоспадия и ВИГГ могут быть не связанными между собой патологиями, учитывая высокую частоту гипоспадии в популяции (1:150-300 новорожденных мальчиков[155]), однако наличие подтвержденных вариантных замен может говорить об обратном. Гипоспадии описывались у пациентов с ВИГГ и в других работах[156]. В нашей работе мы рассматривали гипоспадию как один из компонентов репродуктивного фенотипа мальчиков с ВИГГ.

Широкий спектр нерепродуктивных компонентов гипогонадизма в некоторых случаях объединяют в синдромы, так в число ассоциированных с ВИГГ синдромов входят CHARGE – синдром, синдром Ваарденбурга и другие. У одной из наших пациенток отмечалось сочетание нормосмического гипогонадизма с синдромом Клиппель – Фейла (аномалия строения шейного отдела позвоночника, включающая уменьшение количества и сращение позвонков) при отсутствии каких-либо молекулярно-генетических изменений. В литературе имеется единичное описание пациентки с гипогонадизмом и синдромом Клиппель – Фейла[157], однако в описанном клиническом случае имел место синдром Кальмана, а не нормосмический гипогонадизм. Тот факт, что и при синдроме Клиппель-Фейла, и при синдроме Кальмана может встречаться синкинезия рук и агенезия почек, позволил еще в 1995 году предположить наличие потенциальной этиологической или патогенетической связи между данными состояниями[158], однако достоверных данных, подтверждающих эту гипотезу, на настоящий момент нет. Клинических

случаев, описывающих пациентов с сочетанием синдрома Клиппель-Фейла и гипогонадизма без нарушения обоняния, среди опубликованных работ не найдено, что позволяет считать пациентку с синдромом Клиппель – Фейла и нормосмическим гипогонадизмом первым упоминанием о сочетании данных патологий.

Для изменений в некоторых генах описан характерный нерепродуктивный фенотип. Так, молекулярно-генетические изменения в гене *ANOS1* были выявлены у 6 мальчиков с ВИГГ, из них бимануальная синкинезия, характерная для изменений в данном гене, отмечалась только у 1 (16,6%, 95% ДИ [0,4; 64,1]). Односторонний порок развития почки - другой частый нерепродуктивный компонент ВИГГ, ассоциированный с ВЗ в гене *ANOS1*, – отмечался также у 1 из 6 мальчиков (16,6%, 95% ДИ [0,4; 64,1]). В исследовании 2023 года, проведенном Kim и соавт., односторонняя агенезия почки имела место у 3 из 7 мальчиков с изменениями в гене *ANOS1*, то есть у 42,9%., а бимануальная синкинезия отмечалась только у 1 пациента (14,3%) [141]. Так же, как и в нашей работе, в исследовании Kim и соавт. не все мальчики с дефектами гена *ANOS1* отмечали нарушение обоняния, однако, большинству пациентов в работе Kim и соавт. ольфактометрическое исследование не проводилось.

В работе Laitinen дефекты средней линии (расщелина губы и/или неба) отмечались у 2 из 9 пациентов (22,2%, 95% ДИ [2,8; 60,0]) с синдромом Кальмана и молекулярно-генетической ВЗ в гене *FGFR1*, пороки развития зубов у 3 из 9 (33,3%, 95% ДИ [7,5; 70,1]), а пороки развития конечностей не отмечались ни у кого из данной группы пациентов[159]. В нашей работе не у всех пациентов с ВЗ в данном гене отмечалась аносмия, а дефекты средней линии имелись у 1 из 6 пациентов при моногенном наследовании ВИГГ (16,6%, 95% ДИ [0,4; 64,1]), и у 1 из 3 пациентов с олигогенным наследованием ВИГГ с вариантными заменами в гене *FGFR1* и других. Пороки развития конечностей (синдактилия и клиндактилия) имели место у 2 из 9 пациентов,

имеющих те или иные моно- или олигогенные изменения в ген *FGFR1*, что полностью сопоставимо с данными исследования Laitinen.

В нашей когорте пациентов у 37/77 пациентов отмечались нарушения обоняния по данным ольфактометрии (48,1%, 95% ДИ [36,5; 59,7]), что сопоставимо с мировой распространенностью синдрома Кальмана в структуре ВИГГ. Так, по данным различных исследований синдром Кальмана имеет место в 50-60% случаев ВИГГ [126], [140].

По данным нашей работы результаты ольфактометрического исследования не совпали с самостоятельной оценкой обонятельной функции у 9 из 44 пациентов, которым проводилось данное исследование, то есть практически у каждого пятого пациента. Результаты зарубежных работ по этому вопросу варьируют: в одной из работ был выявлен высокий процент совпадения результатов ольфактометрии с наличием или отсутствием жалоб на нарушения обоняния[100], в другой работе конкордантность данных отмечалась только у 58% [92].

У 1 из 25 пациентов, которым проводилась и ольфактометрия, и МРТ-оценка обонятельных луковиц, имелась полная двусторонняя аплазия луковиц, которая не сопровождалась нарушением обонятельной функции. В недавно опубликованном зарубежном исследовании также можно встретить описание пациентов с НВИГГ с неопределяемыми ОЛ по данным МРТ и нормосмией[100]. Авторы исследования предполагают, что ненарушенная обонятельная функция у таких пациентов объясняется не полной аплазией луковиц, а их выраженной гипоплазией: возможно, размеры луковиц у таких пациентов настолько уменьшены, что не превышают толщину МРТ-среза, поэтому расцениваются МРТ-специалистами МРТ как аплазированные. Другим объяснением нормосмии при двусторонней аплазии луковиц может являться локализация данных структур в нетипичном месте. В работе Qin и соавт. также описываются пациенты с нормосмическим вариантом ВИГГ и измененным ольфакторным аппаратом [50] Причины данного состояния

остаются не до конца изученными, что требует проведения дальнейших исследований.

На последнем этапе нашей работы небольшой когорте мальчиков с полными формами гипогонадизма проводилась индукция пубертата сочетанной терапией препаратами ХГч и рФСГ. На настоящий момент с целью инициации полового развития применяются различные схемы и режимы терапии: кроме комбинированной терапии, применяется и монотерапия ХГч, и предшествующий прайминг препаратами рФСГ. В исследовании Dwyer и соавт. группа пациентов, получавшая прайминг препаратами ФСГ до назначения комбинированной терапии, показала достоверно более высокие уровни ингибина В и имела в 2 раза больший объем гонад. Shankar и соавт. в 2021 году на ежегодном европейском съезде детских эндокринологов представили результаты исследования эффективности и безопасности применения фоллитропина альфа и хронического гонадотропина у мальчиков с гипогонадотропным гипогонадизмом. В течение 12 недель 17 мальчиков с гипогонадотропным гипогонадизмом получали прайминг фоллитропином альфа в дозе 100 единиц/неделю при весе менее 60 кг и 150 единиц в неделю при весе более 60 кг. Затем на протяжении 52 недель к терапии были добавлены и препараты ХГч с титрацией доз от 500 до 5000 единиц в неделю. Через 12 недель прайминга фоллитропином объем яичек увеличился почти в 2 раза, а через 64 недели (т.е. почти 16 месяцев) – практически в 10 раз[160]. В нашей работе на фоне комбинированной терапии гонадотропинами удалось добиться выраженной андрогенизации (у большинства мальчиков отмечались изменения со стороны мошонки и полового члена - прогрессия полового развития G как минимум на одну стадию) и статистически значимого повышения уровня тестостерона, однако не наблюдалось увеличения объема яичек и изменения уровней ингибина В и АМГ, что, возможно, объясняется отсутствием прайминга препаратами рФСГ, низкой эффективностью терапии у пациентов с полными формами гипогонадизма[120], недостаточной

продолжительностью комбинированной терапии и/или недостаточно высокими дозами получаемых препаратов. Необходимо проведение дальнейших исследований в данной области, которые позволили бы сравнить эффективность различных режимов терапии.

Ограничения исследования

Исследование имеет несколько ограничений. Большинству пациентов проводилось исследование молекулярно-генетической панели «гипогонадотропный гипогонадизм», которое не позволяет идентифицировать варианты, находящиеся за пределами таргетной панели, а также структурные хромосомные перестройки.

Отсутствие проведенного анализа *in silico* методом компьютерного моделирования, а также функциональных исследований для вариантов с неизвестной клинической значимостью как в ассоциированных, так и в не ассоциированных с ВИГГ на настоящий момент генах не позволяет окончательно расценивать данные изменения в качестве причин заболевания, даже в случаях соответствия фенотипической картины генотипу.

Ограничениями фрагмента исследования, посвященного оценке размеров обонятельных луковиц, является небольшой объем как изучаемой группы, так и группы сравнения.

На 2-м этапе исследования, посвященном андроген-стимулирующей терапии, также имеются ограничения, связанные с небольшим объемом группы вмешательства, что объясняется, отказом большинства родителей мальчиков с ВИГГ от включения в исследование по причине нежелания получать отличное от препаратов тестостерона лечение, требующее большей кратности инъекций и визитов к врачу для титрации дозы.

Таким образом, необходимо проведение дальнейших исследований, посвященных молекулярно-генетической и клинической гетерогенности

ВИГГ с участием большого количества пациентов, применением различных методов диагностики молекулярно-генетических нарушений и сравнением различных режимов терапии гонадотропинами у мальчиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам анализа данных 77 детей с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом установлено, что молекулярно-генетические изменения определяются более, чем у половины пациентов (57,1%, 95% ДИ [45,3; 68,3]). При этом патогенные и вероятно патогенные молекулярно-генетические изменения, ассоциированные с гипогонадизмом, выявляются у трети пациентов (31,1%, 95% ДИ [19,9; 41,3]).

По результатам исследования удалось установить характерные для российской популяции детей и подростков с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом гены, патогенные вариантные замены в которых ассоциированы с развитием заболевания. Такими генами являются *GNRHR* (26,3%, 95% ДИ [9,2; 51,2]), *ANOS1* (21,0%, 95% ДИ [6,1; 45,6]) и *FGFR1* (15,8%, 95% ДИ [3,3; 39,6]). Изучены гендерные особенности молекулярно-генетического полиморфизма заболевания: в отличие от мальчиков у российской когорты девочек с ВИГГ наиболее часто выявлялись патогенные изменения в гене *GNRHR* (50%, 95% ДИ [6,7; 93,2]).

У всех мальчиков с ихтиозом и гипогонадизмом (n=4) были диагностированы вариации числа копий, представленные протяженной гемизиготной делецией короткого плеча X-хромосомы. Данные изменения были выявлены методами хромосомного микроматричного анализа и полногеномного секвенирования с низким покрытием и классифицированы как патогенные, приводящие к развитию X-сцепленного ихтиоза, ассоциированного с выпадением гена стероидной сульфатазы *STS*, и наследуемого X-сцепленно гипогонадотропного гипогонадизма, ассоциированного с делецией гена *ANOS1*. Выбор данных методов

исследования был сделан после анализа клинической картины заболевания и предположения о наличии у пациентов микроделеционного синдрома потери генных последовательностей. При этом, полиморфизм клинической картины отмечался у пациентов с одним и тем же молекулярно-генетическим дефектом.

В российской когорте детей и подростков с ВИГГ большинство пациентов имели полную форму заболевания в 80,5% (95% ДИ [69,9; 88,6]). Реже встречались неполные (15,5%, 95% ДИ [8,3; 25,6]) и реверсивные формы (3,9%, 95% ДИ [0,8; 10,9]). При этом неполные формы заболевания встречались в том числе у пациентов с патогенными вариантами заменами, а реверсивного течения ВИГГ в группе пациентов с патогенными изменениями не отмечалось. Реверсивная форма заболевания не встречалась и среди девочек, в то время как неполные формы у них развивались достоверно чаще, чем у мальчиков.

Проведен анализ частоты репродуктивного фенотипа (крипторхизма и микропении) в российской популяции мальчиков - подростков с ВИГГ. Более чем у трети пациентов отмечался крипторхизм (38,7%, 95% ДИ [26,6; 51,9]), который в 75% случаев являлся двусторонним (95% ДИ [53,2; 92,0]). Микропения так же отмечалась в трети случаев (32,2%, 95% ДИ [20,9; 45,3]), а сочетание двустороннего крипторхизма и микропении, которое традиционно считается проявлением тяжелого ВИГГ, имело место практически у каждого 8я мальчика (8/62, 12,9%, 95% ДИ [5,7; 23,8]). Стволовая и головчатая формы гипоспадии имели место у 2 мальчиков с ВИГГ.

«Красными флагами» ВИГГ считаются нарушения слуха, зрения, дефекты средней линии, пороки развития почек и конечностей и другие фенотипические изменения, которые носят собирательное название нерепродуктивного фенотипа заболевания. Нерепродуктивный фенотип отмечался более чем у трети пациентов. Наиболее часто отмечались нарушения слуха, патология сердечно-сосудистой системы и дефекты средней

линии. Реже всего встречались ихтиоз, пороки развития зубов и конечностей. Встречаемость нерепродуктивного фенотипа была сопоставимой как между группами пациентов с синдромом Кальмана и с нормосмическим гипогонадизмом, так и между группами мальчиков и девочек с ВИГГ, что может являться особенностью российской популяции подростков с гипогонадизмом.

Уменьшение размеров обонятельных луковиц или их полное отсутствие по данным МРТ имело место у 97,1% (95% ДИ [84,6; 99,9]) пациентов с ВИГГ вне зависимости от нарушений обоняния. Двусторонние нарушения отмечались у преобладающего большинства подростков [85,2%, 95% ДИ [68,9%; 95,1%]]. Самым частым изменением ольфакторного аппарата, которое было диагностировано почти у каждого второго пациента, являлась двусторонняя гипоплазия (47,1%, 95% ДИ [25,3%; 69,6%]). Корреляция с количеством баллов, набранных по результатам ольфактометрии, не установлена. Отсутствие корреляции размеров луковиц с базальным объемом яичек, базальным уровнем ингибина В, базальным и стимулированным уровнями ЛГ, свидетельствует об отсутствии ассоциации между размерами луковиц и тяжестью ВИГГ. Размеры луковиц у пациентов с полными и неполными формами так же были сопоставимы.

Терапия гонадотропинами позволяет добиться андрогенизации пациентов, о чем свидетельствует статистически значимое повышение уровня тестостерона через $9,2 \pm 3,9$ месяцев лечения, а также прогрессия полового развития (стадия G, изменения со стороны мошонки и полового члена) как минимум на 1 стадию имела место более, чем у половины мальчиков (66,6%). Статистически значимого увеличения объема яичек, повышения уровня ингибина В, снижения уровня АМГ после применения поправки Бонферрони не отмечалось, что, возможно, объясняется отсутствием прайминга препаратами рекомбинантного ФСГ, недостаточной продолжительностью терапии и недостаточными дозами получаемых препаратов.

ВЫВОДЫ

1. У детей с врожденным изолированным гипогонадотропным гипогонадизмом в 80,5% (95% ДИ [69,9; 88,6]) случаев развивается полная форма заболевания, в 15,5% (95% ДИ [8,3; 25,6]) – неполная форма, в 3,9% (95% ДИ [0,8; 10,9]) – реверсивная форма. У девочек неполная форма заболевания встречается достоверно чаще, чем у мальчиков.
Крипторхизм у мальчиков с ВИГГ встречается в 38,7% (95% ДИ [26,6; 51,9]), из них в 75% - двусторонний (95% ДИ [53,2; 92,0]). Микропения имеет место у трети пациентов - 32,2% (95% ДИ [20,9; 45,3]). Сочетание двустороннего крипторхизма и микропении отмечается у 12,9% (95% ДИ [5,7; 23,8]), гипоспадия - у 3,2% мальчиков с ВИГГ.
2. Нерепродуктивный фенотип у детей с ВИГГ имеется у 38,9% пациентов (95% ДИ [28,0; 57,7]): чаще всего это нарушения слуха - 20,0% (95% ДИ [7,7; 38,5]), патология сердечно-сосудистой системы – 16,6% (95% ДИ [5,6; 34,7]) и дефекты средней линии - 16,6% (95% ДИ [5,6; 34,7]), реже – ихтиоз, синдромальная патология (CHARGE-синдром, синдром Ваарденбурга), пороки развития почек, конечностей и зубов.
3. В 57% (95% ДИ [45,3; 68,3]) случаев у детей с ВИГГ выявлены вариантные замены в генах, ассоциированных с развитием заболевания. Патогенные и вероятно патогенные молекулярно-генетические изменения имелись у 31% детей (95% ДИ [19,9; 41,3]). Чаще всего патогенные вариантные замены встречались в генах *GNRHR* (26,3%, 95% ДИ [9,2; 51,2]), *ANOS1* (21,0%, 95% ДИ [6,1; 45,6]) и *FGFR1* (15,8%, 95% ДИ [3,3; 39,6]), реже в генах *FGF8*, *SEMA3A*, *CHD7*, *PROKR2*, *SOX10*. У девочек самыми частыми патогенными вариантами, приводящими к развитию заболевания, являлись изменения в гене *GNRHR* (50%, 95% ДИ [6,7; 93,2]).
4. Жалобы на нарушения обоняния имелись у 36,3% (95% ДИ [25,7; 48,1]) детей с ВИГГ. Результаты ольфактометрического теста совпадают с жалобами на нарушения обоняния в 79,6% случаев 95% ДИ [64,7%; 90,2%]).

Гипоплазия или аплазия обонятельных луковиц по данным МРТ является диагностическим признаком ВИГГ и обнаруживается у 97,1% (95% ДИ [84,6; 99,9]) пациентов. Размеры обонятельных луковиц не ассоциированы с формой ВИГГ.

5. Терапия препаратами ХГч и рФСГ в качестве инициации пубертата привела к прогрессии полового развития у 66,6% мальчиков (95% ДИ [38,3; 88,2%]) и достоверному повышению уровня тестостерона ($p < 0,001$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При сочетании ВИГГ с ихтиозом рекомендовано проводить хромосомный микроматричный анализ для диагностики протяженных делеций X-хромосомы.
2. С целью оценки обонятельной функции пациентам с ВИГГ рекомендовано проводить ольфактометрическое исследование вне зависимости от наличия жалоб на нарушения обоняния.
3. Магнитно-резонансная томография позволяет диагностировать одно- или двустороннее снижение размеров обонятельных луковиц вплоть до их полной аплазии.
4. Всем мальчикам с ВИГГ на фоне терапии эфирами тестостерона рекомендовано контролировать уровень ЛГ и оценивать объем яичек. При увеличении тестикул и/или повышении ЛГ рекомендована отмена препаратов тестостерона с целью своевременной диагностики реверсивной формы заболевания.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГнРГ – гонадотропин-рилизинг гормон

ВИГГ – врожденный изолированный гипогонадотропный гипогонадизм

СК – синдром Кальмана

нВИГГ – нормосмический врожденный изолированный гипогонадотропный гипогонадизм

МГИ – молекулярно-генетические исследования

ВЗ – вариантная замена

АД – аутосомно-доминантный

АР – аутосомно-рецессивный

П – патогенный

ВП – вероятно патогенный

ВД – вероятно доброкачественный

НКЗ – неизвестной клинической значимости

ЛГ – лютеинизирующий гормон

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ХГч – хорионический гонадотропин человека

АМГ – антимюллеров гормон

SDS – число стандартных отклонений от среднего

ДИ – доверительный интервал

ССС – сердечно-сосудистая система

ХМА – хромосомный микроматричный анализ

MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) – метод мультиплексной амплификации лигированных зондов

ОЛ – обонятельная луковица

Н.п. – нуклеотидная последовательность

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] U. Boehm *et al.*, “Expert consensus document: European Consensus Statement on congenital hypogonadotropic hypogonadism-pathogenesis, diagnosis and treatment,” *Nat Rev Endocrinol*, vol. 11, no. 9, pp. 547–564, 2015, doi: 10.1038/nrendo.2015.112.
- [2] Ankur Modi and Veronica Piziak, “Charge Syndrome: Unusual Cause of Hypogonadism Leading to Osteoporosis,” *J Endocr Soc*, vol. 4, pp. A28–A29, 2020.
- [3] J. Young *et al.*, “Clinical Management of Congenital Hypogonadotropic Hypogonadism,” *Endocr Rev*, vol. 40, pp. 669–710, 2019, doi: 10.1210/er.2018-00116.
- [4] C. Wang, S. Wang, H. Xie, and S. Yang, “Clinical and imaging characteristics of 4H syndrome: A case report,” *CNS Neurosci Ther*, vol. 28, no. 3, p. 458, Mar. 2022, doi: 10.1111/CNS.13790.
- [5] A. H. Duittoz *et al.*, “Development of the gonadotropin-releasing hormone system,” *Journal of Neuroendocrinology*, vol. 34, no. 5. John Wiley and Sons Inc, May 01, 2022. doi: 10.1111/jne.13087.
- [6] А. Н. Шандин and А. Н. Тюльпаков, “Генетика изолированного гипогонадотропного гипогонадизма,” *Проблемы Эндокринологии*, vol. 54, no. 2, pp. 27–35, 2008.
- [7] E.-M. Laitinen, “Kallmann Syndrome : Clinical and molecular genetic features in Finland; Academic dissertation, 94 pages,” Helsinki, 2012.
- [8] K. Skorupskaite, J. T. George, and R. A. Anderson, “The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease,” *Hum Reprod Update*, vol. 20, no. 4, pp. 485–500, 2014, doi: 10.1093/humupd/dmu009.
- [9] M. I. Yarmolinskaya, N. F. Ganbarli, and E. K. Ailamazian, “Role of Kisspeptine in Regulation of Reproductive Function,” *Journal of obstetrics and woman disease*, vol. 65, no. 6, pp. 4–18, Dec. 2016, doi: 10.17816/jowd6564-18.
- [10] Ю. А. Панков, “Кисспептин и лептин в регуляции фертильности,” *Молекулярная биология*, vol. 49, no. 5, pp. 707–715, 2015, doi: 10.7868/S0026898415050134.
- [11] A. H. Duittoz *et al.*, “Development of the gonadotropin-releasing hormone system,” *Journal of Neuroendocrinology*, vol. 34, no. 5. John Wiley and Sons Inc, May 01, 2022. doi: 10.1111/jne.13087.
- [12] Б. Ю. Александрович, М. С. Янович, Б. Л. Михайлович, Д. М. Анатольевна, and Г. Э. Дмитриевич, “Агонисты гонадотропин рилизинг-гормона при патологии эндометрия,” *Журнал акушерства и женских болезней*, vol. LVII,

no. 4, 2008.

- [13] Бабичев В.Н., “Организация и функционирование нейроэндокринной системы,” *Проблемы эндокринологии*, vol. 59, no. 1, pp. 62–69, 2013.
- [14] J. A. McBride and R. M. Coward, “Recovery of spermatogenesis following testosterone replacement therapy or anabolic-androgenic steroid use,” *Asian J Androl*, vol. 18, no. 3, p. 373, May 2016, doi: 10.4103/1008-682X.173938.
- [15] Zitzmann M, B. Hm, and Kliesch S, “Gonadotropin Treatment in Male Infertility,” *J. Reproduktionsmed. Endokrinol*, vol. 10, pp. 23–28, 2013, Accessed: Jun. 06, 2022. [Online]. Available: www.kup.at/repromedizin
- [16] R. Grinspon and M. Urrutia, “Male Central Hypogonadism in Paediatrics – the Relevance of Follicle-stimulating Hormone and Sertoli Cell Markers,” *European Endocrinology*, 14(2), 67 , 2018.
- [17] Древаль А.В., “Репродуктивная эндокринология,” *ГЭОТАР-МЕДИА 2019*, p. 240 стр.
- [18] L. Lanciotti, M. Cofini, A. Leonardi, L. Penta, and S. Esposito, “Up-To-Date Review About Minipuberty and Overview on Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis Activation in Fetal and Neonatal Life,” *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 9, no. JUL, p. 410, Jul. 2018, doi: 10.3389/FENDO.2018.00410.
- [19] J. C. Marshall *et al.*, “Gonadotropin-Releasing Hormone Pulses: Regulators of Gonadotropin Synthesis and Ovulatory Cycles,” *Recent Prog Horm Res*, vol. 47, pp. 155–189, 1991, doi: 10.3139/B978-0-12-571147-0.50009-3.
- [20] T. Saengkaew and S. R. Howard, “Genetics of pubertal delay,” *Clinical Endocrinology*, vol. 97, no. 4. John Wiley and Sons Inc, pp. 473–482, Oct. 01, 2022. doi: 10.1111/cen.14606.
- [21] B. Cangiano, D. S. Swee, R. Quinton, and M. Bonomi, “Genetics of congenital hypogonadotropic hypogonadism: peculiarities and phenotype of an oligogenic disease,” *Hum Genet*, vol. 140, no. 1, pp. 77–111, Jan. 2021, doi: 10.1007/S00439-020-02147-1.
- [22] A. K. Topaloglu and I. Turan, “Genetic Etiology of Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism,” *Endocrines 2022, Vol. 3, Pages 1-15*, vol. 3, no. 1, pp. 1–15, Dec. 2021, doi: 10.3390/ENDOCRINES3010001.
- [23] Локтионова А.И., “Персонализированная диагностика центрального гипогонадизма у женщин,” *Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук*, p. 104, 2021.
- [24] H. Zaghouni, I. Slim, N. Zina, N. Mallat, H. Tajouri, and C. Kraiem, “Kallmann syndrome: MRI findings,” *Indian J Endocrinol Metab*, vol. 17, no. 7, p. 142, 2013, doi: 10.4103/2230-8210.119536.

- [25] ROGÉRIO SILICANI RIBEIRO and JULIO ABUCHAM, “Síndrome de Kallmann: Uma Revisão Histórica, Clínica e Molecular,” *Arq Bras Endocrinol Metab*, vol. 52, no. 1, pp. 8–17, 2008.
- [26] S. M. Cadman, S. H. Kim, Y. Hu, D. González-Martínez, and P. M. Bouloux, “Molecular pathogenesis of Kallmann’s syndrome,” *Hormone Research*, vol. 67, no. 5, pp. 231–242, Apr. 2007. doi: 10.1159/000098156.
- [27] S. B. Seminara, M. Beranova, L. M. B. Oliveira, K. A. Martin, W. F. Crowley, and J. E. Hall, “Successful Use of Pulsatile Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) for Ovulation Induction and Pregnancy in a Patient with GnRH Receptor Mutations 1,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 85, no. 2, pp. 556–562, Feb. 2000, doi: 10.1210/jcem.85.2.6357.
- [28] A. K. Fathi, S. Hu, X. Fu, S. Huang, Y. Liang, and X. Luo, “Molecular defects of the GNRH receptor gene in Chinese patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and the severity of hypogonadism,” *Int J Pediatr Endocrinol*, vol. 2013, p. O25, 2013, doi: 10.1186/1687-9856-2013-S1-O25.
- [29] N. Smith and R. Quinton, “Kallmann Syndrome,” *Br Med J*, vol. 345, p. e6971, Jun. 2012, doi: 10.1136/bmj.e6971.
- [30] C. Dodé *et al.*, “Loss-of-function mutations in FGFR1 cause autosomal dominant Kallmann syndrome,” *Nat Genet*, vol. 33, no. 4, pp. 463–465, Apr. 2003, doi: 10.1038/NG1122.
- [31] H. Nowakowski and W. Lenz, “Genetic aspects in male hypogonadism,” *Recent Prog Horm Res*, 1961;17:53-95.
- [32] R. S. Sparkes, R. W. Simpson, and C. A. Paulsen, “Familial Hypogonadotropic Hypogonadism With Anosmia,” *Arch Intern Med*, vol. 121, no. 6, pp. 534–538, Jun. 1968, doi: 10.1001/ARCHINTE.1968.03640060048009.
- [33] J. D. Wegenke *et al.*, “Familial Kallmann syndrome with unilateral renal aplasia,” *Clin Genet*, vol. 7, no. 5, pp. 368–381, May 1975, doi: 10.1111/J.1399-0004.1975.TB00344.X.
- [34] T. D. R Hockaday and M. Lecturer in Medicine, “Hypogonadism and life-long anosmia,” *Postgrad Med J*, vol. 42, no. 491, pp. 572–574, Sep. 1966, doi: 10.1136/PGMJ.42.491.572.
- [35] G. R. Merriam, I. Z. Beitins, and H. H. Bode, “Father-to-Son Transmission of Hypogonadism With Anosmia Kallmann’s Syndrome,” *Am J Dis Child*, vol. 131, pp. 1216–1219, 1977, [Online]. Available: <http://archpedi.jamanetwork.com/>
- [36] C. I. Gonçalves, F. Fonseca, T. Borges, F. Cunha, and M. C. Lemos, “Expanding the genetic spectrum of ANOS1 mutations in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism,” *Human Reproduction*, vol. 32, no. 3, pp. 704–711, Mar. 2017, doi: 10.1093/humrep/dew354.

- [37] K. Y. Cha. M. H. Lee, S. H. Lee, J. H. Han, S. W. Cho, W. H. Lee, “Are KAL-1 Gene Mutations Found in Female Patients with Kallmann’s Syndrome or Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism? M.,” *Fertil Steril*, vol. 74, no. 3, pp. 250–251, 2001.
- [38] B. R. Versiani *et al.*, “Clinical assessment and molecular analysis of GnRHR and KAL1 genes in males with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism,” *Clin Endocrinol (Oxf)*, vol. 66, no. 2, pp. 173–179, Feb. 2007, doi: 10.1111/j.1365-2265.2006.02702.x.
- [39] G. Maya-Nuñez, J. C. Zenteno, A. Ulloa-Aguirre, S. Kofman-Alfaro, and J. P. Mendez, “A reccurent missense mutation in the KAL gene in patients with X-linked Kallmann’s syndrome,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 83, no. 5, pp. 1650–1653, 1998, doi: 10.1210/jc.83.5.1650.
- [40] L. M. B. Oliveira *et al.*, “The Importance of Autosomal Genes in Kallmann Syndrome: Genotype-Phenotype Correlations and Neuroendocrine Characteristics,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 86, no. 4, pp. 1532–1538, Apr. 2001, doi: 10.1210/JCEM.86.4.7420.
- [41] B. Bhagavath *et al.*, “Clinical and molecular characterization of a large sample of patients with hypogonadotropic hypogonadism,” *Fertil Steril*, vol. 85, no. 3, pp. 706–713, 2006, doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.08.044.
- [42] N. D. Shaw *et al.*, “Expanding the phenotype and genotype of female GnRH deficiency,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 96, no. 3, pp. 566–576, 2011, doi: 10.1210/jc.2010-2292.
- [43] B. Franco, S. Guioli, and A. Pragliola, “A gene deleted in Kallmann’s syndrome shares homology with neural cell adgesion and axonal path-finding molecules,” *Nature*, vol. 353, pp. 529–536, 1991.
- [44] N. Sato, T. Hasegawa, N. Hori, M. Fukami, Y. Yoshimura, and T. Ogata, “Gonadotrophin therapy in Kallmann syndrome caused by heterozygous mutations of the gene for fibroblast growth factor receptor 1: Report of three families: Case report,” *Human Reproduction*, vol. 20, no. 8, pp. 2173–2178, 2005, doi: 10.1093/humrep/dei052.
- [45] N. Sato, T. Hasegawa, N. Hori, M. Fukami, Y. Yoshimura, and T. Ogata, “Gonadotrophin therapy in Kallmann syndrome caused by heterozygous mutations of the gene for fibroblast growth factor receptor 1: report of three families:Case report,” *Human Reproduction*, vol. 20, no. 8, pp. 2173–2178, Aug. 2005, doi: 10.1093/HUMREP/DEI052.
- [46] V. S. R. Danda *et al.*, “Exploring the Genetic Diversity of Isolated Hypogonadotropic Hypogonadism and Its Phenotypic Spectrum: A Case Series,” *J Reprod Infertil*, vol. 22, no. 1, p. 38, Dec. 2020, doi: 10.18502/jri.v22i1.4994.
- [47] C. Gonçalves *et al.*, “Novel FGFR1 mutations in Kallmann syndrome and

normosmic idiopathic hypogonadotropic hypogonadism: evidence for the involvement of an alternatively spliced isoform,” *Fertil Steril*, vol. 104, no. 5, pp. 1261-1267.e1, Nov. 2015, doi: 10.1016/J.FERTNSTERT.2015.07.1142.

- [48] T. Varimo *et al.*, “Childhood growth in boys with congenital hypogonadotropic hypogonadism,” *Pediatr Res*, vol. 79, no. 5, pp. 705–709, 2016, doi: 10.1038/pr.2015.278.
- [49] L. Guimaraes *et al.*, “New genetic findings in a large cohort of congenital hypogonadotropic hypogonadism,” *Eur J Endocrinol*, vol. 181, pp. 103–119, 2019.
- [50] Y. Wang, M. Qin, L. Fan, and C. Gong, “Correlation Analysis of Genotypes and Phenotypes in Chinese Male Pediatric Patients With Congenital Hypogonadotropic Hypogonadism,” *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 13, p. 846801, May 2022, doi: 10.3389/FENDO.2022.846801/BIBTEX.
- [51] S. Li *et al.*, “Clinical characteristics and spermatogenesis in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism caused by FGFR1 mutations,” *Int J Endocrinol*, vol. 2020, 2020, doi: 10.1155/2020/8873532.
- [52] B. Bhagavath *et al.*, “The prevalence of gonadotropin-releasing hormone receptor mutations in a large cohort of patients with hypogonadotropic hypogonadism,” *Fertil Steril*, vol. 84, no. 4, pp. 951–957, Oct. 2005, doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.04.029.
- [53] Z. Qin *et al.*, “Clinical and Genetic Analysis of CHD7 Expands the Genotype and Phenotype of CHARGE Syndrome,” *Front Genet*, vol. 11, p. 592, Jun. 2020, doi: 10.3389/fgene.2020.00592.
- [54] C. I. Gonçalves *et al.*, “High frequency of CHD7 mutations in congenital hypogonadotropic hypogonadism,” *Sci Rep* 9, 1597 (2019), doi: 10.1038/s41598-018-38178-y.
- [55] N. A. Nadkarni and S. S. Deshmukh, “Mirror movements,” *Annals of Indian Academy of Neurology*, vol. 15, no. 1, pp. 13–14, Jan. 2012. doi: 10.4103/0972-2327.93268.
- [56] F. A. Costa-Barbosa *et al.*, “Prioritizing Genetic Testing in Patients With Kallmann Syndrome Using Clinical Phenotypes,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 98, no. 5, pp. E943–E953, May 2013, doi: 10.1210/jc.2012-4116.
- [57] C. Villanueva *et al.*, “Congenital hypogonadotropic hypogonadism with split hand/foot malformation: a clinical entity with a high frequency of FGFR1 mutations,” *Genet Med*, vol. 17, no. 8, p. 651, Aug. 2015, doi: 10.1038/GIM.2014.166.
- [58] K. Ohtaka *et al.*, “FGFR1 Analyses in Four Patients with Hypogonadotropic Hypogonadism with Split-Hand/Foot Malformation: Implications for the Promoter Region,” *Hum Mutat*, vol. 38, no. 5, pp. 503–506, 2017, doi: 10.1002/humu.23178.

- [59] I. Bailleul-Forestier, C. Gros, D. Zenaty, S. Bennaceur, J. Leger, and N. de Roux, “Dental agenesis in Kallmann syndrome individuals with FGFR1 mutations,” *Int J Paediatr Dent*, vol. 20, no. 4, pp. 305–312, Jul. 2010, doi: 10.1111/J.1365-263X.2010.01056.X.
- [60] Е. Б. Фролова, В. М. Петров, Е. В. Васильев, Н. А. Макрецкая, О. В. Пилипенко, and А. Н. Тюльпаков, “Синдром Кальмана у монозиготных близнецов как изолированное проявление дефекта гена SOX10,” *Проблемы Эндокринологии*, vol. 67, no. 5, pp. 43–47, Sep. 2021, doi: 10.14341/PROBL12789-9988.
- [61] R. A. Rojas *et al.*, “Phenotypic continuum between Waardenburg syndrome and idiopathic hypogonadotropic hypogonadism in humans with SOX10 variants”, doi: 10.1038/s41436-020-01051-3.
- [62] F. Brioude *et al.*, “Non-syndromic congenital hypogonadotropic hypogonadism: Clinical presentation and genotype-phenotype relationships,” *Eur J Endocrinol*, vol. 162, no. 5, pp. 835–851, 2010, doi: 10.1530/EJE-10-0083.
- [63] Hao *et al.*, “Gonadotropin treatment for male partial congenital hypogonadotropic hypogonadism in Chinese patients,” *Asian J Androl*, vol. 22, pp. 390–395, 2020.
- [64] M. Beranova *et al.*, “Prevalence, Phenotypic Spectrum, and Modes of Inheritance of Gonadotropin-Releasing Hormone Receptor Mutations in Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 86, no. 4, pp. 1580–1588, 2001, [Online]. Available: <https://academic.oup.com/jcem/article-abstract/86/4/1580/2848388>
- [65] N. Pitteloud *et al.*, “The Role of Prior Pubertal Development, Biochemical Markers of Testicular Maturation, and Genetics in Elucidating the Phenotypic Heterogeneity of Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism,” *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 87(1):152–160, 2002.
- [66] J. Young *et al.*, “Clinical Management of Congenital Hypogonadotropic Hypogonadism,” *Endocrine Reviews*, Volume 40, Issue 2, April 2019, Pages 669–710, doi: 10.1210/er.2018-00116.
- [67] T. Raivio *et al.*, “Impaired fibroblast growth factor receptor 1 signaling as a cause of normosmic idiopathic hypogonadotropic hypogonadism,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 94, no. 11, pp. 4380–4390, 2009, doi: 10.1210/jc.2009-0179.
- [68] N. Pitteloud, J. S. Acierno, A. U. Meysing, A. A. Dwyer, F. J. Hayes, and W. F. Crowley, “Reversible kallmann syndrome, delayed puberty, and isolated anosmia occurring in a single family with a mutation in the fibroblast growth factor receptor 1 gene,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 90, no. 3, pp. 1317–1322, Mar. 2005, doi: 10.1210/jc.2004-1361.
- [69] L. Fadiga *et al.*, “A Novel FGFR1 Missense Mutation in a Portuguese Family with

- Congenital Hypogonadotropic Hypogonadism,” *Int J Mol Sci*, vol. 23, no. 8, p. 4423, Apr. 2022, doi: 10.3390/ijms23084423.
- [70] A. C. Millar, H. Faghfoury, and J. M. Bieniek, “Genetics of hypogonadotropic hypogonadism,” *Translational Andrology and Urology*, vol. 10, no. 3. AME Publishing Company, pp. 1401–1409, Mar. 01, 2021. doi: 10.21037/tau.2020.03.33.
 - [71] S. Marcos *et al.*, “The prevalence of CHD7 missense versus truncating mutations is higher in patients with Kallmann syndrome than in typical CHARGE patients,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 99, no. 10, pp. E2138–E2143, Oct. 2014, doi: 10.1210/jc.2014-2110.
 - [72] J. M. Graham, B. Rosner, E. Dykens, and J. Visootsak, “Behavioral features of CHARGE syndrome (Hall-Hittner syndrome) comparison with Down syndrome, Prader-Willi syndrome, and Williams syndrome,” *Am J Med Genet*, vol. 133 A, no. 3, pp. 240–247, Mar. 2005, doi: 10.1002/ajmg.a.30543.
 - [73] C. Xu *et al.*, “Evaluating CHARGE syndrome in congenital hypogonadotropic hypogonadism patients harboring CHD7 variants,” *Genetics in Medicine*, vol. 20, no. 8, pp. 872–881, Aug. 2018, doi: 10.1038/gim.2017.197.
 - [74] D. Sanlaville and A. Verloes, “CHARGE syndrome: an update,” *European Journal of Human Genetics 2007 15:4*, vol. 15, no. 4, pp. 389–399, Feb. 2007, doi: 10.1038/sj.ejhg.5201778.
 - [75] M. Aramaki *et al.*, “Phenotypic spectrum of CHARGE syndrome with CHD7 mutations,” *Journal of Pediatrics*, vol. 148, no. 3, pp. 410–414, Mar. 2006, doi: 10.1016/j.jpeds.2005.10.044.
 - [76] C. L. Hale, A. N. Niederriter, G. E. Green, D. M. Martin, and D. M. Martin, “Atypical phenotypes associated with pathogenic CHD7 variants and a proposal for broadening CHARGE syndrome clinical diagnostic criteria HHS Public Access,” *Am J Med Genet A*, vol. 170, no. 2, pp. 344–354, 2016, doi: 10.1002/ajmg.a.37435.
 - [77] A. Verloes, “Updated diagnostic criteria for CHARGE syndrome: A proposal,” *American Journal of Medical Genetics*, vol. 133 A, no. 3. Am J Med Genet A, pp. 306–308, Mar. 15, 2005. doi: 10.1002/ajmg.a.30559.
 - [78] J. Kirk, “The CHARGE Information Pack for Practitioners. CHARGE syndrome: major and minor medical diagnostic criteria plus later onset features,” p. 3, 2013, [Online]. Available: www.sense.org.uk
 - [79] D. Beneduzzi *et al.*, “Role of gonadotropin-releasing hormone receptor mutations in patients with a wide spectrum of pubertal delay,” *Fertil Steril*, vol. 102, no. 3, 2014, doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.05.044.
 - [80] G. Y. Bedecarrats, K. D. Linher, and U. B. Kaiser, “Two common naturally occurring mutations in the human gonadotropin-releasing hormone (GnRH)

receptor have differential effects on gonadotropin gene expression and on GnRH-mediated signal transduction,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 88, no. 2, pp. 834–843, Feb. 2003, doi: 10.1210/jc.2002-020806.

- [81] N. de Roux *et al.*, “A Family with Hypogonadotropic Hypogonadism and Mutations in the Gonadotropin-Releasing Hormone Receptor,” *New England Journal of Medicine*, vol. 337, no. 22, pp. 1597–1603, Nov. 1997, doi: 10.1056/nejm199711273372205.
- [82] Н.А. Макрецкая *et al.*, “Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика случаев изолированного гипогонадотропного гипогонадизма, обусловленного дефектами рецептора гонадотропин-рилизинг- гормона,” *Проблемы эндокринологии*, vol. 67, no. 3, pp. 62–67, 2021, doi: 10.14341/probl12746.
- [83] D. Dewailly, A. Boucher, C. Decanter, J. P. Lagarde, R. Counis, and M.-L. Kottler, “Spontaneous pregnancy in a patient who was homozygous for the Q106R mutation in the gonadotropin-releasing hormone receptor gene,” *Fertil Steril*, vol. 77, no. 6, pp. 1288–1291, 2002.
- [84] J. Tornberg *et al.*, “Heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 1, a gene involved in extracellular sugar modifications, is mutated in patients with idiopathic hypogonadotrophic hypogonadism,” *PNAS*, vol. 108, no. 28, pp. 11524–11529, 2011, doi: 10.1073/pnas.1102284108.
- [85] E. Baruffini *et al.*, “Novel Microdeletion in the X Chromosome Leads to Kallmann Syndrome, Ichthyosis, Obesity, and Strabismus,” *Front Genet*, vol. 11, no. 596, pp. 1–10, 2020, doi: 10.3389/fgene.2020.00596.
- [86] L. Kent *et al.*, “X-linked ichthyosis (steroid sulfatase deficiency) is associated with increased risk of attention deficit hyperactivity disorder, autism and social communication deficits,” *J Med Genet*, vol. 45, no. 8, pp. 519–524, Aug. 2008, doi: 10.1136/JMG.2008.057729.
- [87] J. L. Hand, C. K. Runke, and J. C. Hodge, “The phenotype spectrum of X-linked ichthyosis identified by chromosomal microarray,” *J Am Acad Dermatol*, vol. 72, no. 4, pp. 617–627, Apr. 2015, doi: 10.1016/j.jaad.2014.12.020.
- [88] T. Hummel, H. Pietsch, and G. Kobal, “Kallmann’s syndrome and chemosensory evoked potentials,” *Eur Arch Otorhinolaryngol*, vol. 248, no. 5, pp. 311–312, Jul. 1991, doi: 10.1007/BF00176762.
- [89] T. Hummel, “Assessment of intranasal trigeminal function,” *Int J Psychophysiol*, vol. 36, no. 2, pp. 147–155, May 2000, doi: 10.1016/S0167-8760(99)00108-7.
- [90] M. Alnæs and K. O. Melle, “Kallmann syndrome,” *Tidsskrift for Den norske legeforening*, vol. 139, no. 17, Nov. 2019, doi: 10.4045/TIDSSKR.19.0370.
- [91] M. R. Sapronova, O. P. Trikman, N. A. Shnayder, and D. v Pohabov, “The

- multimodal evoked potentials and diagnostics of not motor symptoms of Parkinson disease,” *Вестник Клинической больницы №51*, vol. 4, no. 1, pp. 33–37, 2013.
- [92] V. Jagtap *et al.*, “An objective olfactory evaluation and its correlation with magnetic resonance imaging findings in asian indian patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism,” *Endocrine Practice*, vol. 19, no. 4, pp. 669–674, Jul. 2013, doi: 10.4158/EP13008.OR.
- [93] G. Ottaviano *et al.*, “Sniffin’ Sticks and olfactory system imaging in patients with Kallmann syndrome,” *Int Forum Allergy Rhinol*, vol. 5, no. 9, pp. 855–861, Sep. 2015, doi: 10.1002/ALR.21550.
- [94] H. R. Nehara and B. Sharma, “Correlation of Olfactory Phenotype by Indian Smell Identification Test and Quantitative MRI of Olfactory Apparatus in Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism,” *Indian J Endocrinol Metab*, vol. 23, no. 3, pp. 367–371, 2019, doi: 10.4103/ijem.IJEM_28_19.
- [95] Богданов В.В., Скляр М.А, and Завадский А.В, “Особенности культуральной адаптации обонятельного теста Sniffin’ Sticks для использования в русскоязычной среде,” *Российская ринология* 21(2), pp. 41–42, 2013. <https://www.mediasphera.ru/issues/rossijskaya-rinologiya/2013/2/downloads/ru/030869-5474201323> (accessed Feb. 03, 2023).
- [96] V. A. Schriever, E. Mori, W. Petters, C. Boerner, M. Smitka, and T. Hummel, “The “Sniffin” Kids” Test-A 14-Item Odor Identification Test for Children,” *PLoS ONE* 9(6): e101086. doi:10.1371/journal.pone.0101086, doi: 10.1371/journal.pone.0101086.
- [97] S. C. Hugh *et al.*, “Olfactory testing in children using objective tools: Comparison of Sniffin’ Sticks and University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT),” *Journal of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, vol. 44, no. March, pp. 1–5, Mar. 2015, doi: 10.1186/S40463-015-0061-Y/FIGURES/5.
- [98] D. T. Liu *et al.*, “Odor Mixtures in Identification Testing Using Sniffin’ Sticks: The SSomix test,” *Sci Rep* 10, 8155 (2020), doi: 10.1038/s41598-020-65028-7.
- [99] J. Gellrich, C. Stetzler, A. Oleszkiewicz, T. Hummel, and V. A. Schriever, “Olfactory threshold and odor discrimination ability in children-evaluation of a modified ‘Sniffin’ Sticks” test,” *Sci Rep*, vol. 7, no. 1928, pp. 1–6, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-01465-1.
- [100] B. Yu *et al.*, “The diagnostic value of the olfactory evaluation for congenital hypogonadotropic hypogonadism,” *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 0, p. 2236, Sep. 2022, doi: 10.3389/FENDO.2022.909623.
- [101] A. Molnár, S. Maihoub, P. Mavrogeni, M. Krasznai, L. Tamás, and H. Kraxner, “The Correlation between the Results of the Sniffin’ Sticks Test, Demographic Data, and Questionnaire of Olfactory Disorders in a Hungarian Population after a SARS-CoV-2 Infection,” *J Clin Med*, vol. 12, no. 3, p. 1041, Jan. 2023, doi:

10.3390/jcm12031041.

- [102] I. T. Heian *et al.*, “Measured and self-reported olfactory function in voluntary Norwegian adults,” *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, vol. 279, no. 3, pp. 4925–4933, 2022, doi: 10.1007/s00405-022-07298-7.
- [103] E. C. Lohrer *et al.*, “Children’s Personal Significance of Olfaction — the ChiPSO Questionnaire,” *Chemosens Percept*, vol. 15, no. 2, pp. 154–164, Oct. 2022, doi: 10.1007/S12078-022-09303-Z/FIGURES/1.
- [104] T. Hummel *et al.*, “Position paper on olfactory dysfunction,” *Rhinology*, vol. 54, no. 1, pp. 1–30, 2017, doi: 10.4193/Rhino16.248.
- [105] D. A. Leopold, M. David, E. Hornung, N. York, and J. E. Schwob, “Congenital lack of olfactory ability,” *Ann Otol Rhinal*, vol. 101, pp. 229–236, 1992.
- [106] I. Costa, B. Rodrigues, and L. Dias Sr, “Congenital Agenesis of the Olfactory Bulbs: What to Suspect?,” *Cureus 13(1)*, p. e12659, 2021, doi: 10.7759/cureus.12659.
- [107] A. Mishra, N. Mishra Shukla, V. Verma, and S. C. Mishra, “Olfaction in Primary Atrophic Rhinitis and Effect of Treatment,” *OTO Open*, vol. 4, no. 3, 2020, doi: 10.1177/2473974X20949503.
- [108] M. S. Chung, W. R. Choi, H. Y. Jeong, J. H. Lee, and J. H. Kim, “MR Imaging–Based Evaluations of Olfactory Bulb Atrophy in Patients with Olfactory Dysfunction,” *American Journal of Neuroradiology*, vol. 39, no. 3, pp. 532–537, Mar. 2018, doi: 10.3174/AJNR.A5491.
- [109] T. Hacquart *et al.*, “Reconsidering olfactory bulb magnetic resonance patterns in Kallmann syndrome,” *Ann Endocrinol (Paris)*, vol. 78, no. 5, pp. 455–461, Oct. 2017, doi: 10.1016/J.ANDO.2016.12.003.
- [110] M. Bortolotto Felipe Trentin *et al.*, “Reconsidering the olfactory and brain structures in Kallmann’s syndrome: New findings in the analysis of volumetry,” *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2022, doi: 10.1111/CEN.14868.
- [111] M. Koenigkam-Santos, A. C. Santos, B. R. Versiani, P. R. B. Diniz, J. E. Junior, and M. de Castro, “Quantitative magnetic resonance imaging evaluation of the olfactory system in Kallmann syndrome: correlation with a clinical smell test,” *Neuroendocrinology*, vol. 94, no. 3, pp. 209–217, Nov. 2011, doi: 10.1159/000328437.
- [112] M. Salihoglu *et al.*, “Retro- and orthonasal olfactory function in relation to olfactory bulb volume in patients with hypogonadotrophic hypogonadism,” *Braz J Otorhinolaryngol*, vol. 84, no. 5, pp. 630–637, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.bjorl.2017.07.009.
- [113] Naoko Sato *et al.*, “Clinical Assessment and Mutation Analysis of Kallmann Syndrome 1 (KAL1) and Fibroblast Growth Factor Receptor 1 (FGFR1, or KAL2)

in Five Families and 18 Sporadic Patients,” *J Clin Endocrinol Metab*, March 2004, 89(3):1079–1088, doi: 10.1210/jc.2003-030476.

- [114] C. Lazzaretti *et al.*, “Identification of Key Receptor Residues Discriminating Human Chorionic Gonadotropin (hCG)-and Luteinizing Hormone (LH)-Specific Signaling,” *International Journal of Molecular Sciences Article*, 2020, doi: 10.3390/ijms22010151.
- [115] S. Agarwal and P. Austin, “Effect of gonadotropin therapies in-adolescent males with hypogonadotropic hypogonadism: Meta-analysis,” *Arch Urol*, vol. 3, no. 10, pp. 100000–100010, 2020.
- [116] M. Zacharin, M. A. Sabin, V. v. Nair, and P. Dagabdhao, “Addition of recombinant follicle-stimulating hormone to human chorionic gonadotropin treatment in adolescents and young adults with hypogonadotropic hypogonadism promotes normal testicular growth and may promote early spermatogenesis,” *Fertil Steril*, vol. 98, no. 4, pp. 836–842, Oct. 2012, doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.06.022.
- [117] P. Y. Liu, H. W. Gordon Baker, V. Jayadev, M. Zacharin, A. J. Conway, and D. J. Handelsman, “Induction of Spermatogenesis and Fertility during Gonadotropin Treatment of Gonadotropin-Deficient Infertile Men: Predictors of Fertility Outcome,” *J Clin Endocrinol Metab* 94: 801– 808, 2009, doi: 10.1210/jc.2008-1648.
- [118] T. P. Kohn *et al.*, “Age and duration of testosterone therapy predict time to return of sperm count after human chorionic gonadotropin therapy,” *Fertil Steril*, vol. 107, no. 2, pp. 351-357.e1, Feb. 2017, doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.10.004.
- [119] M. Ortac *et al.*, “Evaluation of gonadotropin-replacement therapy in male patients with hypogonadotropic hypogonadism,” *Asian J Androl*, vol. 21, no. 6, pp. 623–627, Nov. 2019, doi: 10.4103/aja.aja_6_19.
- [120] B. O. Sahib, I. H. Hussein, N. T. Alibrahim, and A. A. Mansour, “Management Outcomes in Males With Hypogonadotropic Hypogonadism Treated With Gonadotropins,” *Cureus*, Feb. 2023, doi: 10.7759/cureus.35601.
- [121] R. Shah *et al.*, “Prior testosterone replacement therapy may impact spermatogenic response to combined gonadotropin therapy in severe congenital hypogonadotropic hypogonadism,” *Pituitary*, vol. 24, no. 3, pp. 326–333, Jun. 2021, doi: 10.1007/s11102-020-01111-6.
- [122] E. Matuszczak, A. Hermanowicz, M. Komarowska, and W. Debek, “Serum AMH in Physiology and Pathology of Male Gonads,” *Int J Endocrinol*, pp. 128907–6 pages, 2013, doi: 10.1155/2013/128907.
- [123] Л. Н. Павлович, А. А. Хамидович, Б. А. Юрьевна, and Б. С. Юрьевич, “Роль ингибина В в регуляции сперматогенеза и его клиническая значимость при мужском бесплодии,” *Урологические ведомости*, vol. 9, no. 1, pp. 39–45, May 2019, doi: 10.17816/UROVED12924-10241.

- [124] J. Rohayem, N. Sinthofen, E. Nieschlag, S. Kliesch, and M. Zitzmann, “Causes of hypogonadotropic hypogonadism predict response to gonadotropin substitution in adults,” *Andrology*, vol. 4, no. 1, pp. 87–94, Jan. 2016, doi: 10.1111/ANDR.12128.
- [125] Л. Б. Бржезинская, Г. Ф. Окминян, Е. В. Киселева, К. Д. Кокорева, Л. Н. Самсонова, and Э. П. Касаткина, “Новые технологии в лечении гипогонадизма в педиатрической практике,” *Эндокринология: Новости. Мнения. Обучение*, vol. 8, no. 4, pp. 67–71, 2019, doi: 10.24411/2304-9529-2019-14009.
- [126] S. Federici *et al.*, “Genetic and phenotypic differences between sexes in congenital hypogonadotropic hypogonadism (CHH): Large cohort analysis from a single tertiary centre,” *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 13, p. 3100, Dec. 2022, doi: 10.3389/FENDO.2022.965074/BIBTEX.
- [127] S. Dzemaili, J. Tiemensma, R. Quinton, N. Pitteloud, D. Morin, and A. A. Dwyer, “Beyond hormone replacement: quality of life in women with congenital hypogonadotropic hypogonadism,” *Endocr Connect*, vol. 6, no. 6, pp. 404–412, Aug. 2017, doi: 10.1530/EC-17-0095.
- [128] R. Quinton *et al.*, “Idiopathic gonadotrophin deficiency: genetic questions addressed through phenotypic characterization,” *Clin Endocrinol (Oxf)*, vol. 55, pp. 163–174, 2001.
- [129] H. Bry-Gauillard *et al.*, “Congenital hypogonadotropic hypogonadism in females: Clinical spectrum, evaluation and genetics,” *Ann Endocrinol (Paris)*, vol. 71, no. 3, pp. 158–162, May 2010, doi: 10.1016/J.ANDO.2010.02.024.
- [130] S. B. Seminara, F. J. Hayes, and W. F. Crowley, “Gonadotropin-Releasing Hormone Deficiency in the Human (Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism and Kallmann’s Syndrome): Pathophysiological and Genetic Considerations,” *Endocr Rev*, vol. 19, no. 5, pp. 521–539, 1998, [Online]. Available: <https://academic.oup.com/edrv/article/19/5/521/2530795>
- [131] Е.П. Хащенко, Н.А. Буралкина, and Е.В. Уварова, “Диагностическое значение определения уровня сывороточного антимюллерова гормона в периоде полового созревания у девочек,” *Репродуктивное здоровье детей и подростков*, vol. 1, pp. 41–49, 2014.
- [132] E. L. Anderson *et al.*, “Anti-Müllerian Hormone Is Not Associated with Cardiometabolic Risk Factors in Adolescent Females,” *PLoS One*, vol. 8, no. 5, May 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0064510.
- [133] П.С. БОГДАНОВА, М.А. КАРЕВА, И.С. ЯРОВАЯ, О.А. ЗЛОТНИКОВА, А.В. ИЛЬИН, and И.И. ДЕДОВ, “Антимюллеров гормон (АМГ) у девочек-подростков с гиперандрогенией,” *ПРОБЛЕМЫ ЭНДОКРИНОЛОГИИ*, 1, 2012, pp. 9–16.
- [134] A. Alemyar, A. L. L. F. van der Kooi, and J. S. E. Laven, “Anti-Müllerian hormone

and ovarian morphology in women with hypothalamic hypogonadism,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 105, no. 5, May 2020, doi: 10.1210/clinem/dgaa116.

- [135] З.К. Абдулкадырова, М.И. Ярмолинская, А.М. Гзгзян, Л.Х. Джемлиханова, and Е.И. Абашова, “Значение ингибина как маркера состояния репродуктивной системы. Часть 2. Клиническое значение ингибинов в репродуктивной медицине,” *Журнал акушерства и женских болезней*, vol. 68, no. 5, pp. 91–106, 2019, doi: 10.17816/JOWD68591-106.
- [136] H. Bry-Gauillard *et al.*, “Anti-Müllerian hormone and ovarian morphology in women with isolated hypogonadotropic hypogonadism/kallmann syndrome: Effects of recombinant human FSH,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 102, no. 4, pp. 1102–1111, Apr. 2017, doi: 10.1210/jc.2016-3799.
- [137] S. Luisi *et al.*, “Serum anti-Müllerian hormone, inhibin B, and total inhibin levels in women with hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa,” *Gynecological Endocrinology*, vol. 28, no. 1, pp. 34–38, Jan. 2012, doi: 10.3109/09513590.2011.579664.
- [138] G. Binder, R. Schweizer, P. Haber, G. Blumenstock, and R. Braun, “Accuracy of Endocrine Tests for Detecting Hypogonadotropic Hypogonadism in Girls,” *Journal of Pediatrics*, vol. 167, no. 3, pp. 674–678.e1, Sep. 2015, doi: 10.1016/j.jpeds.2015.05.039.
- [139] Gao, Du, Liu, and Liao, “Serum inhibin B for differentiating between congenital hypogonadotropic hypogonadism and constitutional delay of growth and puberty: a systematic review and meta-analysis,” *Endocrine*, vol. 72, no. 3, pp. 633–643, Jun. 2021, doi: 10.1007/S12020-020-02582-0.
- [140] A. Gach *et al.*, “New findings in oligogenic inheritance of congenital hypogonadotropic hypogonadism,” *Archives of Medical Science*, vol. 18, no. 2, pp. 353–364, 2022, doi: 10.5114/aoms.2020.98909.
- [141] J. H. Kim *et al.*, “Mutation spectrum and frequency of copy number variations of the ANOS1 gene in patients with Kallmann syndrome or normosmic isolated hypogonadotropic hypogonadism,” *Endocr Connect*, vol. 12, no. 5, May 2023, doi: 10.1530/EC-22-0413.
- [142] H. Valdes-Socin, M. Rubio Almanza, M. Tomé Fernández-Ladreda, F. G. Debray, V. Bours, and A. Beckers, “Reproduction, smell, and neurodevelopmental disorders: genetic defects in different hypogonadotropic hypogonadal syndromes,” *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 5, no. 109, pp. 1–8, 2014, doi: 10.3389/fendo.2014.00109.
- [143] S. Moon and Y.-T. Zhao, “Convergent biological pathways underlying the Kallmann syndrome-linked genes Hs6st1 and Fgfr1,” *Hum Mol Genet*, vol. 31, pp. 4207–4216, 2022, doi: 10.1093/hmg/ddac172.

- [144] Н.А. Зубкова *et al.*, “Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика 3 семейных случаев гонадотропинзависимого преждевременного полового развития, обусловленного мутациями в гене MKRN3,” *Проблемы эндокринологии*, vol. 67, no. 3, pp. 55–61, 2021, doi: 10.14341/probl12745.
- [145] M. Stamou *et al.*, “A Balanced Translocation in Kallmann Syndrome Implicates a Long Noncoding RNA, RMST, as a GnRH Neuronal Regulator,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 105, no. 3, Jan. 2020, doi: 10.1210/clinem/dgz011.
- [146] Giles S.H. Yeo and I. Sadaf Farooqi, “A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity,” *Nat Genet*, vol. 200, pp. 111–112, 1998.
- [147] I. A. Hainerová, H. Zamrazilová, D. Sedláčková, and V. Hainer, “Hypogonadotropic Hypogonadism in a Homozygous MC4R Mutation Carrier and the Effect of Sibutramine Treatment on Body Weight and Obesity-Related Health Risks,” *Obes Facts*, vol. 4, no. 4, p. 324, Aug. 2011, doi: 10.1159/000330763.
- [148] C. Zhou *et al.*, “Mutation profiles and clinical characteristics of Chinese males with isolated hypogonadotropic hypogonadism,” *Fertil Steril*, vol. 110, no. 3, pp. 486–495, 2018, doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.04.010.
- [149] H. Butz, G. Nyíró, · Petra, A. Kurucz, I. Likó, and · Attila Patócs, “Molecular genetic diagnostics of hypogonadotropic hypogonadism: from panel design towards result interpretation in clinical practice Congenital hypogonadotropic hypogonadism (CHH),” *Hum Genet*, vol. 140, pp. 113–134, 2021, doi: 10.1007/s00439-020-02148-0.
- [150] T. L. Dellovade, D. W. Pfaff, and M. Schwanzel-Fukuda, “The gonadotropin-releasing hormone system does not develop in small-eye (Sey) mouse phenotype,” *Developmental Brain Research*, vol. 107, no. 2, pp. 233–240, May 1998, doi: 10.1016/S0165-3806(98)00007-8.
- [151] H. L. Beom and H.-W. Yoo, “Noonan syndrome and RASopathies: Clinical features, diagnosis and management,” *Journal of Genetic Medicine*, vol. 16, pp. 1–9, 2019, doi: 10.5734/JGM.2019.16.1.1.
- [152] Jane Ross and Louis Shenkman, “Noonan’s syndrome and hypopituitarism,” *Am J Med Sci*, vol. 279, no. 1, pp. 47–52, 1980.
- [153] R. A. Rey, “Recent advancement in the treatment of boys and adolescents with hypogonadism,” *Ther Adv Endocrinol Metab*, vol. 13, pp. 1–17, Jan. 2022, doi: 10.1177/20420188211065660.
- [154] Y. S. Wong, Y. H. Tam, K. K. Y. Pang, and H. C. Yau, “Incidence and diagnoses of disorders of sex development in proximal hypospadias,” *J Pediatr Surg*, vol. 53, no. 12, pp. 2498–2501, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.jpedsurg.2018.08.010.

- [155] A. Springer, M. van den Heijkant, and S. Baumann, “Worldwide prevalence of hypospadias,” *J Pediatr Urol*, vol. 12, no. 3, pp. 152.e1-152.e7, Jun. 2016, doi: 10.1016/j.jpuro.2015.12.002.
- [156] K. L. Ayers *et al.*, “Variants in congenital hypogonadotrophic hypogonadism genes identified in an Indonesian cohort of 46,XY under-virilised boys,” *Hum Genomics*, vol. 11, no. 1, p. 1, Feb. 2017, doi: 10.1186/S40246-017-0098-2.
- [157] J. C. Zenteno, C. Venegas, E. Santiago, and S. Kofman-Alfaro, “Kallmann syndrome (hypogonadotropism-anosmia) and Klippel-Feil anomaly in the same patient,” *Clin Dysmorphol*, vol. 9, pp. 69–70, 2000.
- [158] J. Zlotogora, “Is there a relation between Klippel-Feil sequence and Kallmann syndrome?,” *Am J Med Genet*, vol. 55, no. 4, pp. 507–508, 1995, doi: 10.1002/AJMG.1320550424.
- [159] E.-M. Laitinen *et al.*, “Incidence, Phenotypic Features and Molecular Genetics of Kallmann Syndrome in Finland,” 2011. doi: 10.1186/1750-1172-6-41.
- [160] “Efficacy and Safety of Corifollitropin Alfa in Combination with Human Chorionic Gonadotropin for Initiation or Restoration of Puberty in Adolescent Males Aged 14 to < 18 Years with Hypogonadotropic Hypogonadism,” *Hormone Research in Paediatrics, FC8.6*, vol. 94, no. Suppl. 1, p. 56, 2021, doi: 10.1159/000518849.
- [161] H. S. Lee, Y. S. Shim, and J. S. Hwang, “Treatment of congenital hypogonadotropic hypogonadism in male patients,” *Annals of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, vol. 27, no. 3. Korean society of pediatric endocrinology, pp. 176–182, 2022. doi: 10.6065/apem.2244208.104.