

Результаты таргетного секвенирования генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* у молодых женщин с гиперпролактинемией неопухолевого генеза

Е.В. Шахтшнейдер^{1,2}, Д.Е. Иваношчук^{1,2}, С.М. Воевода^{1,2}, О.Д. Рымар²

¹ *ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН*

630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

² *НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН*
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

Резюме

Цель работы – изучить спектр вариантов в генах *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* у женщин репродуктивного возраста с гиперпролактинемией неопухолевого генеза. **Материал и методы.** У женщин с гиперпролактинемией неопухолевого генеза ($n = 15$) выполнено таргетное высокопроизводительное секвенирование генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR*. Таргетная панель генов включала кодирующие области и прилегающие сайты сплайсинга. **Результаты.** При анализе генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* определен ряд редких и распространенных вариантов. В гене *PRL* выявлен распространенный вариант rs1205955 (MAF A = 0,279). Для гена *PRLR* выявлены редкий вариант rs185353023 в 3'UTR (MAF A/C = 0,003) и 12 распространенных вариантов. Для гена *PRLHR* определены 10 распространенных вариантов. Максимальное количество вариантов было локализовано в области 3'UTR и интронах. **Заключение.** Впервые в России выполнено таргетное высокопроизводительное секвенирование генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR*, по результатам которого не выявлено очевидных патологических вариантов в изучаемых генах у женщин с увеличением содержания пролактина неопухолевого генеза. Обнаруженный полиморфизм в данных генах дает возможность дальнейшего изучения его ассоциации с нарушениями функции пролактинового звена гормональной регуляции.

Ключевые слова: генетика человека, пролактин, секвенирование нового поколения, ген пролактина (*PRL*), ген рецептора пролактина (*PRLR*), ген рецептора пролактин-рилизинг-гормона (*PRLHR*).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках госзадания рег. № 122031700094-5 «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению».

Автор для переписки: Воевода С.М., e-mail: sm.voevoda@mail.ru

Для цитирования: Шахтшнейдер Е.В., Иваношчук Д.Е., Воевода С.М., Рымар О.Д. Результаты таргетного секвенирования генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* у молодых женщин с гиперпролактинемией неопухолевого генеза. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022;42(4):79–86. doi: 10.18699/SSMJ20220407

Results of targeted sequencing of the *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* genes in young women with non-tumor hyperprolactinemia

E.V. Shakhtshneider^{1,2}, D.E. Ivanoshchuk^{1,2}, S.M. Voevoda^{1,2}, O.D. Rymar²

¹ *Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS*

630090, Novosibirsk, Akademik Lavrentiev ave., 10

² *Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics SB RAS*
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1

Abstract

Aim. To study the spectrum of variants in the *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* genes in women of reproductive age with non-tumor hyperprolactinemia. **Material and methods.** In women with non-tumor hyperprolactinemia ($n = 15$), targeted high-throughput sequencing of the *PRL*, *PRLR*, and *PRLHR* genes was performed. The target panel of genes included coding regions and adjacent splicing sites. **Results.** When analyzing the *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* genes, a number of rare and common variants were identified. The common variant rs1205955 was found in the *PRL* gene (MAF A = 0.279). For the *PRLR* gene, a rare variant rs185353023 was identified in the 3'UTR (MAF A/C = 0.003) and 12 common variants. For the *PRLHR* gene, 10 common variants have been identified. The maximum number of variants was localized in the 3'UTR region and introns. **Conclusions.** For the first time in Russia, targeted high-throughput sequencing of the *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* genes was performed, the results of which did not reveal obvious pathological variants in the studied genes in women with high prolactin content of non-tumor origin. The discovered polymorphism in these genes makes it possible to further study its association with impaired function of the prolactin link of hormonal regulation.

Key words. human genetics, prolactin, next generation sequencing, *PRL* gene, *PRL* receptor gene, prolactin-releasing hormone receptor gene.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The work was carried out within the framework of task No. 122031700094-5 "Epidemiological monitoring of the state of public health and the study of molecular genetics and molecular biological mechanisms for the development of common therapeutic diseases in Siberia to improve approaches to their diagnosis, prevention and treatment".

Correspondence author: Voevoda S.M., e-mail: sm.voevoda@mail.ru

Citation: Shakhtshneider E.V., Ivanoshchuk D.E., Voevoda S.M., Rymar O.D. Results of targeted sequencing of the *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* genes in young women with non-tumor hyperprolactinemia. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(4):79–86. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220407

Введение

Известно, что секреция пролактина находится под сложным нейроэндокринным контролем, в котором участвуют различные по своей природе факторы: нейромедиаторы, гормоны периферических эндокринных желез. В большей мере пролактин секретируется клетками гипофиза – лактотрофами. Дофамин, вырабатываемый в гипоталамусе и поступающий в гипофиз по портальному кровеносному гипоталамо-гипофизарному тракту, тормозит секрецию путем связывания с D2-рецепторами лактотрофов [1, 2]. Синдром гиперпролактинемии – это симптомокомплекс, основным клиническим проявлением которого является нарушение функции репродуктивной системы. Значительная доля его случаев ассоциирована не с наличием пролактиномы, а с другими причинами. Гиперпролактинемия может сопровождать различные гипоталамо-гипофизарные заболевания, другие эндокринопатии, соматогенные и нервно-психические нарушения. Повышение уровня пролактина может быть спровоцировано приемом определенных лекарственных средств [3]. В настоящее время активно изучается генетическая составляющая нарушений секреции и метаболизма различных гормонов человека [4–6]. В литературе представлены результаты поиска мутаций в генах, участвующих в секреции и регуляции пролактина, которые основываются на конкретных клинических случаях

[7–10]. Исследовательских работ по изучению вариантов в генах пролактина (*PRL*), рецептора пролактина (*PRLR*), рецептора пролактин-рилизинг-гормона (*PRLHR*), участвующих в секреции и регуляции гормона у женщин с гиперпролактинемией неопухолевого генеза, нами не обнаружено.

Цель работы – изучить спектр вариантов генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* у женщин репродуктивного возраста с гиперпролактинемией неопухолевого генеза.

Материал и методы

Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН (НИИТГПМ – филиал ИЦиГ СО РАН), протокол № 10 от 25.02.2014. Все обследованные подписали информированное согласие. В исследование была включена репрезентативная выборка из 400 женщин 25–44 лет. Критерии исключения из исследования: беременность, грудное вскармливание, наличие аденомы гипофиза, декомпенсированное течение заболеваний печени.

Антропометрическое обследование включало в себя измерение окружности талии (ОТ), выполненное с точностью до 0,1 см с использованием неупругой ленты на расстоянии между нижним ребром и гребнем подвздошной кости в горизон-

тальной плоскости, стоя с равномерно распределенным весом на обеих ногах. Массу тела определяли без верхней одежды и обуви на стандартных рычажных весах, прошедших метрологический контроль (точность измерения составляла 0,1 кг). ИМТ рассчитывали по формуле:

$$\text{ИМТ} = M/L^2,$$

где *M* – масса тела в килограммах; *L* – рост человека, измеренный в метрах и возведенный в квадрат. Артериальное давление (АД) измерялось три раза на правой руке в положении сидя с помощью цифрового монитора артериального давления (Omron Corporation, Япония). Интервал между показаниями составлял 2 минуты. В анализ включался средний результат трех измерений.

Кровь из локтевой вены забирали вакутейнером натошак с 12-часовым перерывом после приема пищи в состоянии психоэмоционального спокойствия. После центрифугирования сыворотку хранили в низкотемпературной камере (–70 °С). Лабораторные методы исследования включали в себя биохимический анализ крови: определение уровня общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), глюкозы плазмы натошак (ГПН), общего и прямого билирубина, пролактина и тиреотропного гормона (ТТГ), активности АЛАТ, АсАТ, щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП). Гормональное и биохимическое исследование крови выполнено в лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний НИИТГПМ – филиала ИЦиГ СО РАН, имеющей стандартизацию по внутреннему и внешнему федеральному контролю качества.

Содержание пролактина и ТТГ определяли методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем Thyrotropin (TSH) и Prolactin Hormone (PRL) соответственно (Monobind Inc., США) на анализаторе Multiscan EX (Финляндия), содержание ОХС, ХС ЛПВП, ТГ, ГПН – энзиматическим методом на автоматическом анализаторе KonelabPrime 30i (Thermo Fisher Scientific, Финляндия) с использованием коммерческих наборов Konelab. Концентрацию ХС ЛПНП рассчитывали по формуле Фридвальда:

$$\text{ХС ЛПНП (мг/дл)} = \text{ОХС} - \text{ХС ЛПВП} - \text{ТГ}/5.$$

Перерасчет уровня липидов, глюкозы в ммоль/л выполняли по формулам:

$$\text{ТГ (мг/дл)} \times 0,011;$$

$$\text{ОХС, ХС ЛПВП, ГПН (мг/дл)} \times 0,025,$$

глюкозы сыворотки крови в ГПН – по формуле:

$$\text{ГПН (ммоль/л)} = -0,137 + 1,047 \times$$

$$\times \text{глюкоза сыворотки (ммоль/л)}.$$

Активность АЛАТ, АсАТ, ГГТП, ЩФ определяли кинетическим методом, рекомендованным

IFCC2 с использованием наборов Thermo Fisher Scientific на биохимическом анализаторе Konelab Prime 30i. Обследованные были разделены на четыре квартиля (Q1, Q2, Q3 и Q4) в соответствии с содержанием пролактина в сыворотке крови, за референсный диапазон принимали величину, указанную в инструкции к использованному набору (1,2–19,5 нг/мл).

Таргетное высокопроизводительное секвенирование генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* проведено с использованием набора NimbleGen SeqCap Target Enrichment (Roche, Швейцария) на секвенаторе MiSeq (Illumina, США) в лаборатории «Сектор изучения моногенных форм распространенных заболеваний человека ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН». Таргетная панель включала кодирующие области и прилегающие сайты сплайсинга трех генов: *PRL*, *PRLR*, *PRLHR*. Для выделения ДНК из крови использовали метод фенол-хлороформной экстракции [11]. Качество извлеченной ДНК оценено с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, США). Использована высокомолекулярная ДНК в количестве 1 мкг для каждого пациента, ОП 260/280 не менее 1,8. Анализ данных секвенирования включал картирование данных на геном человека версии GRCh38 с помощью программы Burrow–Wheeler Alignment tool (BWA v. 0.7.17) (<http://bio-bwa.sourceforge.net/>). Поиск полиморфизмов проведен в пакете GATK с использованием процедуры локального перекартирования коротких инсерций/делаций и рекалибровки качества чтений. Возможные функциональные эффекты вариантов оценивались в базе данных dbNSFP (<https://sites.google.com/site/jpopgen/dbNSFP>), объединялись данные из инструментов прогнозирования *in silico* (SIFT (<http://sift.jcvi.org/>), Polyphen2 v. 2.2.5 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/dokuwiki/about>), MutationTaster2 (<http://www.mutationtaster.org/>), PROVEAN (<http://provean.jcvi.org/index.php>) и др.).

Интерпретация данных, полученных методом секвенирования, проведена в соответствии с рекомендациями Американского колледжа медицинской генетики и геномики [12]. Данные выявленных вариантов в исследуемых генах проанализированы с использованием ресурсов Pubmed, HGMD [13], ClinVar [14], LOVD, также оценивали частоту распространенности в базах данных gnomAD (<https://gnomad.broadinstitute.org/>). Редкие варианты были подтверждены прямым автоматическим секвенированием по Сэнгеру на секвенаторе ABI 3500 (Thermo Fisher Scientific, США). Дизайн праймеров для выбранных SNV (a single-nucleotide variant) выполнен в программе

Primer-Blast (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). Продукты ПЦР секвенировали с помощью набора BigDye Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Последовательности анализировали с использованием программного обеспечения Chromas (<http://technelysium.com.au/wp/>) и Vector NTI Advance (Thermo Fisher Scientific, США).

Характер распределения непрерывных показателей оценивался с помощью гистограммы распределения признака, а также тестом Колмогорова–Смирнова. При нормальном распределении количественного признака результаты представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое значение, SD – стандартное отклонение, при распределении, отличном от нормального, – в виде $Me [Q25; Q75]$, где Me – медиана, $Q25$ и $Q75$ – соответственно 25-й и 75-й процентиля; сравнение двух независимых групп по количественным признакам произведено с помощью соответственно t -критерия Стьюдента и критерия Манна–Уитни. При сравнении трех и более независимых групп использовался критерий Краскела–Уоллиса. Для описания качественных признаков данные представлены как абсолютные (n) и относительные (%) величины. Долевое различие признаков вычислялось с помощью критерия χ^2 Пирсона. С применением многофакторного логистического регрессионного анализа проведен расчет отношения шансов (ОШ) наличия гипер-

пролактинемии. Различия рассматривали как статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты

При квартильном анализе уровня ПРЛ всей репрезентативной выборки женщин значения медианы содержания пролактина в Q4 22,9 [19,6; 28,1] нг/мл – умеренно высокий уровень, Q4 гиперпролактинемии – высокий уровень (41,3 [34,7; 45,8] нг/мл). Для молекулярно-генетического анализа из Q4 гиперпролактинемии с медианой 41,3 [34,7; 45,8] нг/мл с помощью метода случайных чисел были отобраны 15 женщин, что составило 20,2 % от числа женщин с гиперпролактинемией; их клинико-лабораторная характеристика представлена в табл. 1.

При анализе генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* был определен ряд редких и распространенных вариантов. В гене *PRL* выявлен распространенный вариант rs1205955 (MAF A = 0,279). Для гена *PRLR* определены редкий вариант rs185353023 в 3'UTR (MAF A/C = 0,003) и 12 распространенных вариантов, для гена *PRLR* – 10 распространенных вариантов (табл. 2). Максимальное количество вариантов локализовано в области 3'UTR и в интронах.

Обсуждение

У человека ген пролактина (*PRL*) имеет размер 10 кб, находится на 6-й хромосоме и состоит из 5 экзонов и 4 интронов. Его транскрипция регулируется двумя независимыми промоторами. Проксимальный участок промотора напрямую отвечает за специфическую гипофизарную экспрессию, дистальный – за внегипофизарную экспрессию ДНК [15]. Внегипофизарный промотор регулирует транскрипцию пролактина в лимфоцитах, его полиморфизм ассоциирован с повышением риска аутоиммунных заболеваний [16]. Пролактин человека содержит 914 пар нуклеотидов, из них 681 пара открыта для кодирования гормона-предшественника, состоящего из 227 аминокислот. В результате процессинга – дальнейшего превращения прогормона – образуется пролактин, состоящий из 199 аминокислот и содержащий 4 длинные α -спирали. В настоящем исследовании у женщин с гиперпролактинемией неопухолевого генеза при таргетном высокопроизводительном секвенировании не выявлено патогенетически значимых структурных изменений в экзонах и прилегающих сайтах сплайсинга гена *PRL*.

В исследовании S.A. Ivanova et al. функциональный полиморфизм –1149 G/T (rs1341239) в гене *PRL* был генотипирован с мультиплексным удлинением праймера в сочетании с масс-

Таблица 1. Характеристика женщин с высоким уровнем пролактина

Table 1. Characteristics of women with high levels of prolactin

Показатель	Величина
Возраст, лет	37,6 ± 7,5
Содержание пролактина, нг/мл	43,1 [39,4; 50,8]
Активность ТТГ, мЕ/мл	1,8 [0,5; 3,5]
ОТ, см	80,0 [77,6; 98,5]
ИМТ, кг/м ²	26,2 [22,3; 34,8]
Систолическое АД, мм рт. ст.	120,9 ± 14,5
Диастолическое АД, мм рт. ст.	76,0 ± 10,3
Активность АлАТ, Ед/л	14,0 [14,0; 15,0]
Активность АсАТ, Ед/л	20,0 [16,0; 22,0]
Активность ГГТП, Ед/л	31,0 [19,0; 42,0]
Активность ЩФ, Ед/л	141,0 ± 43,2
Содержание ГПН, ммоль/л	5,3 [5,2; 5,7]
Содержание ХС ЛПВП, ммоль/л	1,4 [1,1; 1,5]
Содержание ОХС, ммоль/л	4,9 ± 1,0
Содержание ТГ, ммоль/л	1,3 [0,8; 1,9]
Содержание ХС ЛПНП, ммоль/л	3,5 ± 0,9

Таблица 2. Результаты таргетного высокопроизводительного секвенирования ДНК женщин с высоким уровнем пролактина

Table 2. Results of targeted high-throughput DNA sequencing of women with high prolactin levels

SNP	Локализация	Intron Variant	Частота (1000G)	Клиническая значимость
rs1205955	chr6:22292747 (GRCh38.p13)	NM_000948.6:c.205-102T>G	A = 0,2602	Нет данных
rs146973753	chr5:35056614 (GRCh38.p13)	NC_000005.9:g.35056719C>T	T = 0,0080	Нет данных
rs11376531	chr5:35058561-35058563 (GRCh38.p13)	NC_000005.9:g.35058667dup	AAA = 0,0000	Нет данных
rs2047741	chr5:35152953 (GRCh38.p13)	NC_000005.9:g.35153055G>A	G = 0,2270	Нет данных
rs5867271	chr5:35195645-35195646 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35195645_35195646insC	- = 0,2045	Нет данных
rs3978089	chr4:131734572 (GRCh38.p13)	NC_000004.11:g.132655727T>A	Нет данных	Нет данных
rs202073248	chr5:35062571-35062576 (GRCh38.p13)	NC_000005.9:g.35062678del	- = 0,0357	Нет данных
rs1010119	chr5:35063015 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35063015T>C	C = 0,1040	Нет данных
rs1057829	chr5:35064358 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35064358G>C	C = 0,1046	Нет данных
rs73091139	chr5:35064637 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35064637C>T	T = 0,1046	Нет данных
rs3797212	chr5:35064637 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35135374C>T	T = 0,1046	Нет данных
rs112461	chr5:35063190 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35063190A>T	T = 0,2149	Нет данных
rs2047741	chr5:35152953 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35152953G>A	G = 0,2270	Нет данных
rs75935441	chr10:118590592 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118590592T>A	C = 0,0248	Нет данных
rs10787849	chr4:131734572 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118590767T>A	Нет данных	Нет данных
rs74264539	chr10:118592136 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118592136del	Нет данных	Нет данных
rs1711868	chr10:118592136 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118592136G>A	G = 0,0411	Нет данных
rs117647802	chr10:118592363 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118592363A>G	G = 0,0234	Нет данных
rs116062593	chr10:118594387 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118594387C>A	A = 0,0142	Нет данных
rs1613448	chr10:118594398 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118594398T>A	T = 0,0220	Нет данных
rs41300243	chr10:118594498 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118594498T>A	G = 0,0142	Нет данных
rs11078774	chr17:9004361 (GRCh38.p13)	NC_000017.11:g.9004361G>T	T = 0,3051	Нет данных
rs2292767	chr10:118590524 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118590524C>T	T = 0,2167	Нет данных

спектрометрией MALDI-TOF у 443 пациентов с шизофренией и 126 здоровых людей, проживающих в сибирском регионе. Частоты генотипов и аллелей сравнивали между группами с помощью теста χ^2 и моделей логистической регрессии с поправкой на ковариаты. Частота генотипов и аллелей у больных шизофренией не отличалась от таковой в контроле. При сравнении больных шизофренией с наличием и отсутствием гиперпролактинемии у первых выявлена достоверно более высокая частота аллеля G ($\chi^2 = 7,25$; $p = 0,007$; ОШ = 1,44 [1,10–1,89]) и, соответственно, носительства генотипа GG ($\chi^2 = 9,49$; $p = 0,009$). Эта связь оставалась значимой после корректировки оценок по таким ковариатам, как пол, возраст, продолжительность заболевания и дозы эквивалентов хлорпромазина. Авторы делают заключение, что данное исследование выявило достоверную связь между полиморфным вариантом rs1341239 и развитием гиперпролактинемии у больных шизофренией. Концентрация пролактина в сыворотке пациентов с шизофренией, получавших антипсихотические препараты, может свидетельствовать об активности гена, который регулирует экстрагипофизарную продукцию ПРЛ, который, как полагают, играет роль в иммунной системе [17].

Ген рецептора пролактина (*PRLR*) человека локализован в 5-й хромосоме, он состоит из 11 экзонов. Экзон 1, 2 и часть экзона 3 составляют 5'-нетранслируемую область (5'-UTR), остальные являются кодирующими. У человека в 5'-UTR есть пять вариантов альтернативных первых экзонов, для которых характерна тканеспецифичная экспрессия. Независимо от того, какой из первых экзонов активен, происходит сплайсинг с некодирующим экзоном 2. Экспрессия гена рецептора пролактина находится под контролем множества промоторов, каждый из которых контролирует свой специфичный первый экзон. Обнаружено три промотора, с которых может идти транскрипция альтернативных первых экзонов (PI, PII, PIII). Промотор PI экспрессируется в гонадах и зависит от активации транскрипционного фактора SF 1 (steroidogenic factor 1). PII специфичен для печени и активируется под действием HNF4. PIII экспрессируется во всех тканях, чувствительных к пролактину, и активируется C/EBP β и SP1 [18, 19]. Кроме того, показано, что рецептор эстрогенов ER α стимулирует экспрессию гена рецептора пролактина за счет формирования комплекса с C/EBP β /SP1 и активации промотора PIII [20]. Экспрессия транскриптов гена рецепторов ПРЛ стимулируется эстрадиолом, что показано на культуре клеток рака молочной железы [21].

В литературе описан семейный случай развития неопухоловой гиперпролактинемии у трех сестер, у которых имелись нарушения репродуктивной функции: олигоменорея, бесплодие. После проведенного анализа авторы показали, что данная гиперпролактинемия обусловлена гетерозиготной мутацией в гене *PRLR*, что привело к замене гистидина на аргинин в кодоне 188 (His188Arg). Эта замена нарушила высокоаффинный лиганд-связывающий интерфейс рецептора пролактина, что привело к потере нижестоящей передачи сигналов Janus kinase 2 (JAK2) и активатора транскрипции 5 (STAT5). Указанный случай семейной гиперпролактинемии связан с мутацией в *PRLR*, приводящей к отсутствию чувствительности к пролактину [22]. Также описан случай идиопатической гиперпролактинемии у женщины 35 лет с полным отсутствием лактации после родов. В ходе молекулярно-генетического исследования определено, что у нее имеются несколько вариантов потери функции *PRLR*, наличие которых, тем не менее, не приводит к нарушению фертильности [23].

Пролактин-рилизинг-гормон принадлежит к большому семейству нейропептидов RF-амидов с сохраненной структурой Arg-Phe-амида на С-конце. Гормон играет основную роль в регуляции потребления пищи и расхода энергии. Его рецептор является членом семейства GPCR. *PRLHR* экспрессируется в нескольких частях мозга, в первую очередь в ретикулярном таламическом ядре, перивентрикулярном, паравентрикулярном и дорсомедиальном ядре гипоталамуса и передней доле гипофиза. *PRLHR* связывает два эндогенных лиганда – пролактин-высвобождающие пептиды длиной 20 и 31 аминокислот (PrRP-20 и PrRP-31), где пептид длиной 20 аминокислот является усеченной версией более длинного [24, 25]. Сообщалось, что пролактин-рилизинг-гормон вызывает высвобождение пролактина из культивируемых клеток гипофиза крысы, но позже другие исследования показали, что основная его роль заключается в регуляции потребления пищи [26]. Гормон является мощным анорексигенным нейропептидом, снижающим потребление пищи и улучшающим энергетический обмен. Кроме того, он регулирует другие физиологические функции – репродуктивную и стресса, и обладает нейропротекторными свойствами [27]. В настоящем исследовании у женщин с гиперпролактинемией неопухолового генеза (41,3 [34, 7; 45, 8] нг/мл) при таргетном высокопроизводительном секвенировании не выявлено патогенетически значимых структурных изменений в экзонах и прилегающих сайтах сплайсинга генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR*.

Заключение

Впервые в России выполнено таргетное высокопроизводительное секвенирование генов PRL, PRLR, PRLHR, по результатам которого не выявлено редких патогенетически значимых вариантов в изучаемых генах у женщин с высоким содержанием пролактина неопухолевого генеза. Полиморфизм в данных генах требует дальнейшего изучения.

Список литературы / References

1. Bernard V., Young J., Binart N. Prolactin – a pleiotropic factor in health and disease. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2019;15(6):356. doi: 10.1038/s41574-019-0194-6
2. Bernard V., Young J., Chanson P., Binart N. New insights in prolactin: pathological implications. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2015;11(5):265–275. doi: 10.1038/nrendo.2015.36
3. Мельниченко Г.А., Дзеранова Л.К., Пигарова Е.А., Воротникова С.Ю., Рожинская Л.Я., Дедов И.И. Федеральные клинические рекомендации по клинике, диагностике, дифференциальной диагностике и методам лечения гиперпролактинемии. *Пробл. эндокринологии.* 2013;59(6):19–26.
Mel'nichenko G.A., Dzeranova L.K., Pigarova E.A., Vorotnikova S.Yu., Rozhinskaya L.Ya., Dedov I.I. Federal clinical guidelines on the clinic, diagnosis, differential diagnosis and treatment of hyperprolactinemia. *Problemy endocrinologii = Problems of Endocrinology.* 2013;59(6):19–26. [In Russian].
4. Рымар О.Д., Микитинская А.К., Максимов В.Н., Мустафина С.В. Роль генетических факторов в этиологии аутоиммунных заболеваний щитовидной железы. *Сиб. мед. ж. (Томск).* 2011; 26(4-2):35–40.
Rymar O.D., Mikitinskaya A.K., Maksimov V.N., Mustafina S.V. The role of the genetic factors in the etiology of autoimmune thyroid disease. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Tomsk) = Siberian Medical Journal (Tomsk).* 2011;26(4-2):35–40. [In Russian].
5. Никитин Ю.П., Рымар О.Д., Максимов В.Н., Симонова Г.И., Мустафина С.В., Щербаклова Л.В., Занкина М.А., Чернова Н.Н., Воевода М.И. Связь полиморфизма C1858T гена PTPN22 с аутоиммунным тиреоидитом с исходом в гипотиреоз в популяции Новосибирска. *Клин. и эксперим. тиреоидол.* 2009;5(1):47–52.
Nikitin Yu.P., Rymar O.D., Maksimov V.N., Simonova G.I., Mustafina S.V., Shcherbakova L.V., Zankina M.A., Chernova N.N., Voevoda M.I. Association of PTPN22 haplotypes with hashimoto's thyroiditis in population of Novosibirsk. *Klinicheskaya i eksperimental'naya tireoidologiya = Clinical and Experimental Thyroidology.* 2009;5(1):47–52. [In Russian].
6. Воевода М.И., Иванова А.А., Шахтшнейдер Е.В., Овсянникова А.К., Михайлова С.В., Астракова К.С., Воевода С.М., Рымар О.Д. Молекулярная генетика MODY. *Терапевт. арх.* 2016;88(4):117–124. doi: 10.17116/terarkh2016884117-124
Voevoda M.I., Ivanova A.A., Shahtshnejder E.V., Ovsyannikova A.K., Mihailova S.V., Astrakova K.S., Voevoda S.M., Rymar O.D. Molecular genetics of maturity-onset diabetes of the young. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive.* 2016;88(4):117–124. [In Russian]. doi: 10.17116/terarkh2016884117-124
7. Birla S., Khadgawat R., Jyotsna V.P., Jain V., Garg M.K., Bhalla A.S., Sharma A. Identification of novel PROP1 and POU1F1 mutations in patients with combined pituitary hormone deficiency. *Horm. Metab. Res.* 2016;48(12):822–827. doi: 10.1055/s-0042-117112
8. Reynaud R., Gueydan M., Saveanu A., Vallette-Kasic S., Enjalbert A., Brue T., Barlier A. Genetic screening of combined pituitary hormone deficiency: experience in 195 patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006;91(9):3329–3336. doi: 10.1210/jc.2005-2173
9. Rainbow L.A., Rees S.A., Shaikh M.G., Shaw N.J., Cole T., Barrett T.G., Kirk J.M. Mutation analysis of POU1F1, PROP-1 and HESX-1 show low frequency of mutations in children with sporadic forms of combined pituitary hormone deficiency and septo-optic dysplasia. *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 2005;62(2):163–168. doi: 10.1111/j.1365-2265.2004.02189.x
10. Carlomagno Y., Salerno M., Vivenza D., Capalbo D., Godi M., Mellone S., Tiradani L., Corneli G., Momigliano-Richiardi P., Bona G., Giordano M. A novel recessive splicing mutation in the POU1F1 gene causing combined pituitary hormone deficiency. *J. Endocrinol. Invest.* 2009;32(8):653–658. doi: 10.1007/bf03345736
11. Sambrook J., Russell D.W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform. *CSH Protoc.* 2006;2006(1):pdb.prot4455. doi: 10.1101/pdb.prot4455
12. Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J., Grody W.W., Hegde M., Lyon E., ... ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.* 2015;17(5):405–424. doi: 10.1038/gim.2015.30
13. Stenson P.D., Ball E.V., Mort M.E., Phillips A.D., Shiel J.A., Thomas N.S., Abeyasinghe S.S., Krawczak M., Cooper D.N. Human gene mutation database (HGMD®): 2003 update. *Human Mutation.* 2003;21(6): 577–581. doi: 10.1002/HUMU.10212
14. Landrum M.J., Lee J.M., Benson M., Brown G.R., Chao C., Chitipiralla S., Gu B., Hart J., Hoffman D., Jang W., ... Maglott D.R. ClinVar: improving access to variant interpretations and support

- ing evidence. *Nucleic. Acids. Res.* 2018;46(D1):1062–1067. doi: 10.1093/nar/gkx1153
15. Ben-Jonathan N., LaPensee C.R., LaPensee E.W. What can we learn from rodents about prolactin in humans? *Endocr. Rev.* 2008;29(1):1–41. doi: 10.1210/er.2007-0017
16. Hernández-Bello J., Palafox-Sanchez C.A., García-Arellano S., Reyes-Castillo Z., Pereira-Suárez A.L., Parra-Rojas I., Navarro-Zarza J.E., de la Cruz-Mosso U., Torres-Carrillo N.M., Muñoz-Valle J.F. Association of extrapituitary prolactin promoter polymorphism with disease susceptibility and anti-RNP antibodies in Mexican patients with systemic lupus erythematosus. *Arch. Med. Sci.* 2018;14(5):1025–1032. doi: 10.5114/aoms.2016.62138
17. Ivanova S.A., Osmanova D.Z., Boiko A.S., Pozhidaev I.V., Freidin M.B., Fedorenko O.Y., Semke A.V., Bokhan N.A., Kornetova E.G., Rakhmazova L.D., Wilffert B., Loonen A.J. Schizophyr Prolactin gene polymorphism (–1149 G/T) is associated with hyperprolactinemia in patients with schizophrenia treated with antipsychotics. *Schizophr. Res.* 2017;182:110–114. doi: 10.1016/j.schres.2016.10.029
18. Abramicheva P.A., Smirnova O.V. Prolactin receptor isoforms as the basis of tissue-specific action of prolactin in the norm and pathology. *Biochemistry. Mosc.* 2019;84(4):329–345. doi: 10.1134/S0006297919040011
19. Hu Z., Zhuang L., Meng J., Tsai-Morris C., Dufau M.L. Complex 5' genomic structure of the human prolactin receptor: multiple alternative exons 1 and promoter utilization. *Endocrinology.* 2002;143(6):2139–2142.
20. Chang S., Copperman A.B. New insights into human prolactin pathophysiology: genomics and beyond. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2019;31(4):207–211. doi: 10.1097/GCO.0000000000000545
21. Kavarthapu R., Dufau M.L. Essential role of endogenous prolactin and CDK7 in estrogen-induced upregulation of the prolactin receptor in breast cancer cells. *Oncotarget.* 2017;8(16):27353–27363. doi: 10.18632/oncotarget.16040
22. Newey P.J., Gorvin C.M., Cleland S.J., Willberg C.B., Bridge M., Azharuddin M., Drummond R.S., van der Merwe P.A., Klenerman P., Bountra C., Thakker R.V. Mutant prolactin receptor and familial hyperprolactinemia. *N. Engl. J. Med.* 2013;369(21):2012–2020. doi: 10.1056/NEJMoa1307557
23. Kobayashi T., Usui H., Tanaka H., Shozu M. Variant Prolactin receptor in agalactia and hyperprolactinemia. *N. Engl. J. Med.* 2018;379(23):2230–2236. doi: 10.1056/NEJMoa1805171
24. Abe T., Koga N., Tomita M., Tonoike T., Kushima M., Takahashi K., Sano Y., Taniyama M. Cellular localization of prolactin-releasing peptide receptors in the human pituitary. *Acta Neuropathologica.* 2003;106(5):495–500. doi: 10.1007/s00401-003-0753-7
25. Tachibana T., Sakamoto T. Functions of two distinct “prolactin-releasing peptides” evolved from a common ancestral gene. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2014;5:170. doi: 10.3389/fendo.2014.00170
26. Gu W., Geddes B.J., Zhang C.P., Foley K.P., Stricker-Krongrad A. The prolactin-releasing peptide receptor (GPR10) regulates body weight homeostasis in mice. *J. Mol. Neurosci.* 2004;22(1–2):93–103. doi: 10.1385/JMN:22:1-2:93
27. Grattan D.R. 60 years of neuroendocrinology: The hypothalamo-prolactin axis. *J. Endocrinol.* 2015;226(2):101–122. doi: 10.1530/JOE-15-0213

Сведения об авторах:

Елена Владимировна Шахтшнейдер, к.м.н., ORCID: 0000-0001-6108-1025, e-mail: 2117409@mail.ru
Динара Евгеньевна Иваношук, ORCID: 0000-0002-0403-545X, e-mail: dinara2084@mail.ru
Светлана Михайловна Воевода, ORCID: 0000-0002-2908-002X, e-mail: sm.voevoda@mail.ru
Оксана Дмитриевна Рымар, д.м.н., ORCID: 0000-0003-4095-0169, e-mail: orymar23@gmail.com

Information about the authors:

Elena V. Shakhtshneider, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-6108-1025, e-mail: 2117409@mail.ru
Dinara E. Ivanoshchuk, ORCID: 0000-0002-0403-545X, e-mail: dinara2084@mail.ru
Svetlana M. Voevoda, ORCID: 0000-0002-2908-002X, e-mail: sm.voevoda@mail.ru
Oksana D. Rymar, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4095-0169, e-mail: orymar23@gmail.com

Поступила в редакцию 06.06.2022
После доработки 27.06.2022
Принята к публикации 11.07.2022

Received 06.06.2022
Revision received 27.06.2022
Accepted 11.07.2022