

# СЛУЧАЙ ПРЕНАТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В СЕМЬЕ С СОЛЬТЕРЯЮЩЕЙ ФОРМОЙ ВРОЖДЕННОЙ ДИСФУНКЦИИ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ

Наталья Сергеевна Осиновская<sup>✉</sup>, Юлия Алмазовна Насыхова,

Наталья Игоревна Тапильская, Андрей Сергеевич Глотов

Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта,

Санкт-Петербург, Россия

**Аннотация.** Представлено описание случая пренатального молекулярно-генетического исследования на сроке 11 недель и 2 дней гестации в семье, имеющей пробанда с сольтеряющей формой врожденной дисфункции коры надпочечников.

Цель исследования: в рамках генетического консультирования при наличии возможного риска рождения ребенка с врожденной дисфункцией коры надпочечников – 25 %, провести молекулярное пренатальное исследование на основе идентифицированных патогенных вариантов в гене *CYP21A2* у пробанда.

Результаты: при молекулярно-генетическом анализе у плода выявлены патогенные варианты в гене *CYP21A2*: R357W (rs7769409) и Q319X (rs7755898) в гетерозиготном состоянии. При анализе семейного наследования патогенных вариантов сделано заключение о минимальном риске наличия у плода врожденной дисфункции коры надпочечников.

**Ключевые слова:** ВДКН, ген *CYP21A2*, пренатальное исследование, ПГТ-М

**Финансирование:** работа выполнена в рамках темы ПНИ № 1024062500021-3-3.2.2. «Создание инновационных подходов в области вспомогательных репродуктивных технологий человека с применением биобанкирования и импортозамещающих генетических, регенеративных и эмбриологических платформ».

**Шифр специальности:** 3.3.3. Патологическая физиология.

3.1.4. Акушерство и гинекология.

**Для цитирования:** Осиновская Н. С., Насыхова Ю. А., Тапильская Н. И., Глотов А. С. Случай пренатально-го исследования в семье с сольтеряющей формой врожденной дисфункции коры надпочечников // Вестник СурГУ. Медицина. 2025. Т. 18, № 4. С. 70–73. <https://doi.org/10.35266/2949-3447-2025-4-9>.

Original article

## PRENATAL STUDY IN FAMILY WITH SALT-WASTING FORM OF CONGENITAL ADRENAL HYPERPLASIA

Natalia S. Osinovskaya<sup>✉</sup>, Yulia A. Nasykhova,

Natalia I. Tapilskaya, Andrey S. Glотов

Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott, Saint Petersburg, Russia

**Abstract.** The article describes a case of prenatal molecular genetic testing performed at 11 weeks and 2 days of gestation in a family that includes a proband who has a salt-wasting form of congenital adrenal hyperplasia.

The authors aim to conduct a molecular prenatal study based on the proband's identified pathogenic variants in the gene *CYP21A2* as part of genetic counseling given the 25% potential risk of giving birth to a neonate with congenital adrenal hyperplasia.

As a result, the molecular genetic testing reveals the following pathogenic variants in the gene *CYP21A2*: R357W (rs7769409) and Q319X (rs7755898) in a heterozygous state. The analysis of pathogenic variant inheritance confirms that the risk of the fetus having congenital adrenal hyperplasia is minimal.

**Keywords:** САН, *CYP21A2* gene, prenatal testing, PGT-M

**Funding:** the article is prepared within the exploratory scientific research PNI No. 1024062500021-3-3.2.2. "Создание инновационных подходов в области вспомогательных репродуктивных технологий человека с применением биобанкирования и импортозамещающих генетических, регенеративных и эмбриологических платформ".

**Code:** 3.3.3. Pathophysiology.

3.1.4. Obstetrics and Gynaecology.

**For citation:** Osinovskaya N. S., Nasykhova Yu. A., Tapiskaya N. I., Glotov A. S. Prenatal study in family with salt-wasting form of congenital adrenal hyperplasia. *Vestnik SurGU. Meditsina.* 2025;18(4):70–73. <https://doi.org/10.35266/2949-3447-2025-4-9>.

## ВВЕДЕНИЕ

Врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН) является аutosомно-рецессивным заболеванием, возникающим в результате дефицита одного из ферментов, необходимых для синтеза кортизола в коре надпочечников. Более 90 % случаев ВДКН вызваны дефицитом фермента 21-гидроксилазы, который является наиболее частой причиной данной патологии. Классическая сольтеряющая (тяжелая) форма может проявляться в надпочечниковой недостаточности у обоих полов и часто сочетается с развитием вирилизации половых органов у девочек (46XX). Более 90 % мутаций, вызывающих дефицит 21-гидроксилазы, связаны с рекомбинацией между генами *CYP21A2* и *CYP21A1P*. Ген *CYP21A2* картирован внутри комплекса генов, кодирующих белки гистосовместимости, и включен в модуль RCCX, идентифицированный примерно в 75 % хромосом и включающий гены *STK19*-*C4A*-*CYP21A1P*-*TNXA*-*STK19B*-*C4B*-*CYP21A2*-*TNXB* [1, 2]. Активный ген *CYP21A2* и его псевдоген *CYP21A1P* идентичны на 98 %. Из-за высокой степени идентичности последовательностей большинство описанных патогенных вариантов последовательности, вызывающих дефицит 21-гидроксилазы, вероятно, являются следствием негомологичной рекомбинации или событий генной конверсии. В настоящее время известно более 200 мутаций [3]. Му-

тации в гене *CYP21A2* вызывают различную степень потери активности 21-гидроксилазы. Исследования *in vitro* показали, что мутации, приводящие к полной инактивации 21-гидроксилазы, обычно ассоциированы с сольтеряющей формой ВДКН. Мутации, снижающие активность фермента примерно на 2 %, ассоциированы с фенотипом простой вирильной формы ВДКН, тогда как мутации с остаточной активностью фермента в диапазоне от 20 до 60 % приводят к неклассической форме ВДКН. Многие пациенты являются компаунд-гетерозиготами, несущими различные мутации *CYP21A2* в каждом аллеле [4]. В этих случаях фенотип ВДКН определяется, в первую очередь, более легким дефектом гена, т. е. тяжесть заболевания коррелирует с остаточной активностью фермента.

Локус, несущий ген *CYP21A2*, имеет модульную структуру, каждый из модулей включает гены *STK19*, *C4*, *CYP21*, *TNX*. К «дикому» типу относится бимодулярная структура (рис. 1 А). Описан частый (1–2 %) аллель, встречающийся во многих популяциях [5], который состоит из трех модулей, с одним псевдогеном *CYP21A1P* и двумя копиями активного гена *CYP21A2*, одна из которых несет патогенный вариант «стоп-кодон» p.Gln319Ter (Q319X) (рис. 1 Б). Предполагается, что ген *CYP21A2*, не несущий мутации, компенсирует наличие интактного гена.

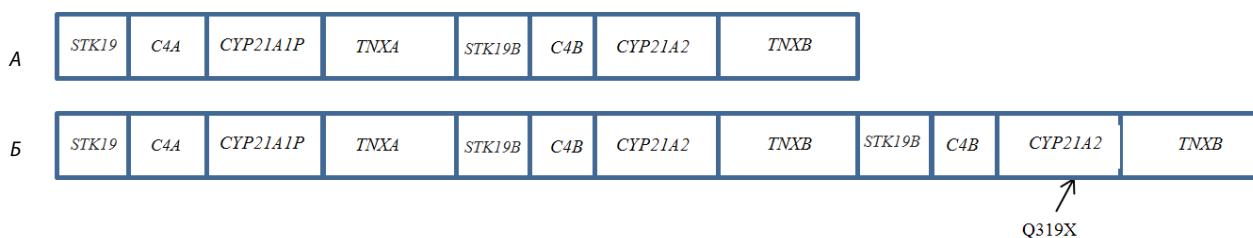


Рис. 1. Схематическое изображение 2-(А) и 3-(Б) модульной структуры локуса, включающего ген *CYP21A2*

Примечание: составлено авторами.

Патогенный вариант Q319X (rs7755898) является мутацией с образованием стоп-кодона и приводит к полной потере активности фермента, поэтому он ассоциирован с сольтеряющей формой заболевания. Проведение молекулярно-генетического анализа и выявление патогенных вариантов в гене *CYP21A2* позволяют уточнять форму заболевания, прогнозировать его течение, а также определять возможности проведения пренатальной диагностики и вероятность рождения ребенка с ВДКН. Пренатальную диагностику ВДКН проводят по желанию пациента, если оба родителя являются гетерозиготными носителями патогенных вариантов гена *CYP21A2* и часто уже имеют ребенка с данной патологией [6]. В таком случае высока вероятность (25 %) рождения ребенка с фенотипом ВДКН. В каждом конкретном случае решается вопрос о необходимости молекулярно-генетического обследова-

ния больного ребенка и родителей, а затем – плода. Выявление конкретных патогенных вариантов позволит в дальнейшем провести целенаправленное генетическое консультирование с возможной рекомендацией применения технологии ПГТ-М (применительно генетическое тестирование на моногенные заболевания).

В нашей работе мы приводим случай пренатального исследования в семье, имеющей ребенка с клинически установленной сольтеряющей формой ВДКН.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поступила беременная, 20 лет. 11 недель и 2 дня гестации. Имеет ребенка женского пола (46XX) с клинически установленной сольтеряющей формой недостаточности 21-гидроксилазы. 17 ОП (17 гидроксипрогестерон) – 179, 176 и позднее – 158 нг/мл. Присутствует вирилизация наружных гениталий.

Взяты образцы периферической крови у матери, отца и самого пробанда. При проведении процедуры хорионбиопсии для молекулярного пренатального исследования взяты ворсины хориона плода. Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) из ворсин хориона и лейкоцитов периферической крови выделена стандартным высаливанием, модифицированным по методу Миллера [7]. Для идентификации вариантов в гене *CYP21A2* использовали метод полимеразой цепной реакции (ПЦР), анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) и ПЦР в реальном времени.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При молекулярно-генетическом анализе у больного ребенка в гене *CYP21A2* идентифицирована мутация сплайсинга IVS2AS (rs6467, chr6-32039081 C>G) и патогенный вариант R357W (rs7769409, chr6-

32040535 C>T), ассоциированный с сольтеряющей формой ВДКН, в гетерозиготном состоянии. При анализе ДНК родителей пробанда у матери выявлена мутация R357W в гетерозиготном состоянии. Отец являлся гетерозиготным носителем мутации, приводящей к стоп-кодону Q319X (rs7755898, chr6-32040421 C>T) и мутации сплайсинга IVS2AS в гетерозиготном состоянии. Далее проведено определение количества копий гена *CYP21A2* методом ПЦР в реальном времени. У матери и пробанда идентифицировали по 2 копии гена, у отца – 3 копии гена. Для исключения ложноположительного или ложно-отрицательного результатов проведена косвенная диагностика на основе анализа полиморфизма гена *MicA*, который картирован в том же локусе, что и ген *CYP21A2*. У плода (46XX) идентифицированы мутации R357W, Q319X в гетерозиготном состоянии и 3 копии гена (таблица).

Таблица

### Результаты молекулярно-генетического исследования в семье Z

Участники исследования	rs7769409 (R357W)	rs6467 (IVS2AS)	rs7755898 (Q319X)	Копии <i>CYP21A2</i>	Аллеи гена <i>MicA</i>
Пробанд	+	+	-	2	6/6
Мать	+	-	-	2	6/6
Отец	-	+	+	3	5.1/6
Хорион	+	-	+	3	5.1/6

Примечание: составлено авторами.

Представленный клинический случай демонстрирует сложности интерпретации будущего фенотипа при наличии в структуре локуса, включающего ген *CYP21A2*, трехмодульной структуры RCCX. При проведении анализа полученных результатов и сравнении аллелей, полученных плодом от матери и отца, и аллелей, полученных пробандом от матери и отца, сделали заключение, что плод получил от отца иной аллель в отличие от пробанда. Таким образом, даже получив информацию, что плод является компаундной гетерозиготой по патогенным вариантам в гене *CYP21A2*, нельзя делать вывод о наличии у него фенотипа ВДКН. Так как у отца пробанда идентифицированы варианты IVS2AS и Q319X и определено 3 копии гена *CYP21A2*, мы говорим о том, что на одной из гомологичных хромосом 6 отец имеет аллель, включающий 3 модуля RCCX и вариант Q319X в гене *CYP21A2*, которых нет у пробанда. Пробанду он передал хромосому с мутацией IVS2AS и одну копию гена *CYP21A2*. Если бы это был единичный пациент, не имеющий больного ребенка, было бы сложно проследить расположение мутаций и копий гена относительно друг друга и провести правильную ассоциацию между генотипом и фенотипом. Зная, что отец клинически здоров, можно говорить о том, что аллель, несущий 3 модуля RCCX, является функционально активным, несмотря на входящую в этот модуль мутацию Q319X. Поэтому при сравнении генотипов плода и пробанда сделан вывод о непатогенности аллеля, полученного плодом от отца и несущего мутацию Q319X. Ранее в других работах было показано, что вариант Q319X существует в некоторых популяциях в результате эффекта основателя в одной из копий гена *CYP21A2*, где ген дуплицирован [8]. При наличии одной интактной копии *CYP21A2* этот аллель рассматривается как аллель дикого типа. Получение пло-

дом от отца аллеля, которого нет у пробанда, было дополнительно подтверждено косвенным анализом по полиморфизму в гене *MicA*. У плода были идентифицированы аллеи гена *MicA* с маркером 5.1/6, где маркер 5.1 он получил от отца, тогда как пробанд имел аллеи с маркером 6/6. Так как плод получил от матери патогенный вариант R357W, мы говорим о гетерозиготном носительстве у плода патогенного варианта. Однако в других случаях – при отсутствии полной молекулярной характеристики, доступности материала родителей пробанда и возможности определить количество копий гена – наличие Q319X может быть легко ошибочно интерпретировано как патогенный вариант, что приводит к ложноположительному результату. Поэтому определение количества копий гена *CYP21A2* наравне с идентификацией мутаций в гене *CYP21A2* и обязательное тестирование родителей имеет решающее значение для получения достоверных результатов при пренатальных исследованиях данного заболевания.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наблюдаемая в доложенном случае молекулярного пренатального исследования беременность закончилась срочными родами и рождением здорового (по фенотипу ВДКН) ребенка женского пола. В будущем, имея информацию о наличии сложного комплекса патогенных вариантов, в каждом конкретном случае можно будет предложить применение технологии ПГТ-М для оптимизации ведения беременности.

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

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

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Blanchong C. A., Zhou B., Rupert K. L. et al. Deficiencies of human complement component C4A and C4B and heterozygosity in length variants of RP-C4-CYP21-TNX (RCCX) modules in Caucasians. The load of RCCX genetic diversity on major histocompatibility complex-associated disease // *Journal of Experimental Medicine*. 2000. Vol. 191. P. 2183–2196.
- Koppens P. F., Hoogenboezem T., Halley D. J. et al. Family studies of the steroid 21-hydroxylase and complement C4 genes define 11 haplotypes in classical congenital adrenal hyperplasia in the Netherlands // *European Journal Pediatrics*. 1992. Vol. 151. P. 885–892.
- Merke D. P., Auchus R. J. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency // *The New England Journal of Medicine*. 2020. Vol. 383, no. 13. P. 1248–1261. <https://doi.org/10.1056/nejmra1909786>.
- Speiser P. W., White P. C. Congenital adrenal hyperplasia // *The New England Journal of Medicine*. 2003. Vol. 349. P. 776–788.
- Monlong J., Chen X., Barseghyan H. et al. Long-read sequencing resolves the clinically relevant CYP21A2 locus, supporting a new clinical test for Congenital Adrenal Hyperplasia // *Délot medRxiv*. 2025. <https://doi.org/10.1101/2025.02.07.25321404>.
- Карева М. А. Адреногенитальный синдром: современные аспекты диагностики и лечения // *Фарматека*. 2011. № 51–11. С. 34–39.
- Miller S. A., Dykes D. D., Polesky H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells // *Nucleic Acids Research*. 1988. Vol. 16, no. 3. P. 1215.
- Kleinle S., Lang R., Fischer G. F. et al. Duplications of the functional CYP21A2 gene are primarily restricted to Q318X alleles: Evidence for a founder effect // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009. Vol. 94, no. 10. P. 3954–3958.

## REFERENCES

- Blanchong C. A., Zhou B., Rupert K. L. et al. Deficiencies of human complement component C4A and C4B and heterozygosity in length variants of RP-C4-CYP21-TNX (RCCX) modules in Caucasians. The load of RCCX genetic diversity on major histocompatibility complex-associated disease. *Journal of Experimental Medicine*. 2000;191:2183–2196.
- Koppens P. F., Hoogenboezem T., Halley D. J. et al. Family studies of the steroid 21-hydroxylase and complement C4 genes define 11 haplotypes in classical congenital adrenal hyperplasia in the Netherlands. *European Journal Pediatrics*. 1992;151:885–892.
- Merke D. P., Auchus R. J. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *The New England Journal of Medicine*. 2020;383(13):1248–1261. <https://doi.org/10.1056/nejmra1909786>.
- Speiser P. W., White P. C. Congenital adrenal hyperplasia. *The New England Journal of Medicine*. 2003;349:776–788.
- Monlong J., Chen X., Barseghyan H. et al. Long-read sequencing resolves the clinically relevant CYP21A2 locus, supporting a new clinical test for Congenital Adrenal Hyperplasia. *Délot medRxiv*. 2025. <https://doi.org/10.1101/2025.02.07.25321404>.
- Kareva M. A. Адреногенитальный синдром: современные аспекты диагностики и лечения. *Pharmateca*. 2011;(s1–11):34–39. (In Russ.).
- Miller S. A., Dykes D. D., Polesky H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 1988;16(3):1215.
- Kleinle S., Lang R., Fischer G. F. et al. Duplications of the functional CYP21A2 gene are primarily restricted to Q318X alleles: Evidence for a founder effect. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(10):3954–3958.

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Н. С. Осиновская** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник;

<https://orcid.org/0000-0001-7831-9327>,  
natosinovskaya@mail.ru✉

**Ю. А. Насыкова** – кандидат биологических наук, руководитель;

<https://orcid.org/0000-0002-3543-4963>,  
yulnasa@gmail.com

**Н. И. Тапильская** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий;

<https://orcid.org/0000-0001-5309-0087>,  
tapnatalia@yandex.ru

**А. С. Глотов** – доктор биологических наук, заведующий;

<https://orcid.org/0000-0002-7465-4504>,  
anglotov@mail.ru

## ABOUT THE AUTHORS

**N. S. Osinovskaya** – Candidate of Sciences (Biology), Senior Researcher;

<https://orcid.org/0000-0001-7831-9327>,  
natosinovskaya@mail.ru✉

**Yu. A. Nasykhova** – Candidate of Sciences (Biology), Head;

<https://orcid.org/0000-0002-3543-4963>,  
yulnasa@gmail.com

**N. I. Tapilskaya** – Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Head;

<https://orcid.org/0000-0001-5309-0087>,  
tapnatalia@yandex.ru

**A. S. Glotov** – Doctor of Sciences (Biology), Head;

<https://orcid.org/0000-0002-7465-4504>,  
anglotov@mail.ru