

Генетичний спектр порушень розвитку статі у дітей в Україні



Є. В. Глоба¹, Н. Б. Зелінська¹, Ю. О. Щербак²,
Н. Л. Погадаєва², І. Ю. Шевченко¹, О. О. Хорошая²,
Т. М. Бегутова², В. Б. Малашонок²

¹Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, Київ

²Національна дитяча спеціалізована лікарня «ОХМАТДИТ» МОЗ України, Київ

Порушення розвитку статі (ПРС) є групою патологічних станів, за яких існують розбіжності між хромосомною, гонадною та фенотиповою статтю [1]. Розвиток статі у людини є складним процесом, який контролюють генетичні та гормональні чинники. Завдяки ефективності новітніх методів генетичної діагностики збільшується кількість пацієнтів, у яких етіологію ПРС визначають після встановлення генетичної причини захворювання, проте певна частка хворих з ПРС все ще залишаються без генетично підтвердженого діагнозу. Генетичне тестування визнано ключовим елементом при обстеженні хворих з підозрою на ПРС [2]. Молекулярно-генетична діагностика дає розуміння щодо етіології захворювання і дає змогу проводити подальше медико-генетичне консультування щодо питань фертильності, клінічного менеджменту, ризику злоякісної трансформації гонад, інформації про ризик народження ще однієї дитини з подібною патологією тощо. Першою ланкою генетичного обстеження в осіб з ПРС є каріотипування із залученням за необхідності методу флюоресцентної гібридизації *in situ* (FiSH-метод). Детальний аналіз хромосом за допомогою методу порівняльної геномної гібридизації (array-based comparative genomic hybridization — aCGH) дає змогу ідентифікувати мікроделеції або мікродуплікації, які неможливо визначити за допомогою стандартного каріотипування. Традиційним методом молекулярно-генетичного обстеження осіб з ПРС вважають секвенування за

Сангером [4]. Найчастішою мутацією при обстеженні 46,XY-осіб з ПРС, зареєстрованих у чоловічій статі, вважають мутацію в гені андрогенового рецептора (AR), яку виявляють приблизно у 30 % пацієнтів із синдромом часткової нечутливості до андрогенів (PAIS). Наступними за частотою у цих осіб вважають мутації в генах SRY та NR5A1 [3, 4]. Мутації в генах MAMLD1, HSD17B3, SRD5A2 та DAX1 займають меншу частку (5—10 %). Натомість у понад 80 % осіб із 46,XY ПРС, зареєстрованих у жіночій статі, виявляють мутації в гені AR [3]. В осіб із 46,XX ПРС найчастіше причиною захворювання є вроджена дисфункція кори надниркових залоз (ВДКНЗ) та, відповідно, мутація в гені CYP21A2 [5]. У-Х-транслокація SRY спричиняє майже 90 % випадків 46,XX тестикулярного або овотестикулярного ПРС [6].

Розуміння генетичних причин ПРС та застосування такого поетапного підходу в генетичній діагностиці дає змогу виявити причину захворювання в 64 % випадків [7, 8]. Встановлення генів-винуватців, мутації в яких призводять до ПРС, дає змогу складати панелі таргетного секвенування наступного покоління (tNGS). Так, згідно з даними інтернаціонального дослідження при залученні tNGS в осіб з ПРС найчастіше виявляли мутації в генах AR, NR5A1, SRD5A2, ZFPM2, HSD17B3 та DHH [9].

Натомість, застосування повного екзомного секвенування (Whole Exome Sequencing — WES) дає змогу не тільки проаналізувати значно більшу кількість

Глоба Євгенія Вікторівна, к. мед. н, пров. наук. співробітник відділу дитячої ендокринології. 01021, м. Київ, Кловський узвіз, 13-А. E-mail: ie.globo@i.ua. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7885-8195>;
Зелінська Наталія Борисівна, д. мед. н., зав. відділу дитячої ендокринології. 01021, м. Київ, Кловський узвіз, 13-А. Тел. (044) 254-34-68. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9000-8940>;
Шевченко Ірина Юріївна, к. мед. н., ст. наук. співробітник відділу дитячої ендокринології. 01021, м. Київ, Кловський узвіз, 13-А. Тел. (044) 254-34-68. E-mail: ish31@i.ua; Щербак Юлія Олександрівна, к. мед. н., генетик НДСЛ «ОХМАТДИТ», м. Київ, вул. Чорновола 28/1; Погадаєва Н. Л., к. мед. н., зав. ендокринологічним відділенням НДСЛ «ОХМАТДИТ», м. Київ, вул. Чорновола 28/1, Тел. (044) 236-69-05. Хорошая О. О., Т. М. Бегутова, В. Б. Малашонок — лікарі-ендокринологи ендокринологічного відділення НДСЛ «ОХМАТДИТ», м. Київ, вул. Чорновола 28/1, Тел. (044) 236-69-05

генів, а й виявити нові гени, що раніше не були описані як причина ПРС. WES — це метод секвенування білок-кодуючих ділянок (екзонів) геному людини, результати якого порівнюються з контрольними базами даних для виявлення можливих варіантів, що є причинами захворювання [10]. Наразі відкрито вже понад 60 генів, що спричиняють ПРС, і їхній список постійно оновлюється [9, 11]. На сьогодні WES вважають одним з найефективніших методів діагностики ПРС [8]. При цьому однією з найбільших проблем WES є інтерпретація та звітність генетичних варіантів, у тому числі невизначених (variant of uncertain significance — VUS), або випадкових чи вторинних знахідок, що не пов'язані з первинним станом.

Мета роботи — визначити клінічні та молекулярно-генетичні особливості ПРС у дітей в Україні.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Створення бази (реєстру) даних дітей з ПРС було започатковано в 2000 р. в Спеціалізованому медико-генетичному центрі Національної дитячої спеціалізованої лікарні ОХМАТДИТ МОЗ України, а з 2016 р. її об'єднано з базою даних хворих Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України. Її було створено завдяки скеруванню до цих установ пацієнтів лікарями-генетиками, дитячими ендокринологами, гінекологами, іншими фахівцями, а також самостійним зверненням пацієнтів, проте вона охоплює не всіх дітей з ПРС в Україні. Критерієм включення пацієнтів до бази даних була неправильна чи невизначена будова зовнішніх геніталій та/або невідповідність гонадної статі хромосомній. Хворих розділяли на групи відповідно до класифікації ПРС [1]. Нами проведено ретроспективний аналіз 106 медичних карт пацієнтів з ПРС за період з 2000 по 2019 р. та проаналізовано їхні клінічні дані, анамнез, результати гормональних, генетичних, функціональних та інструментальних обстежень.

Усім пацієнтам (від народження до 18 років) проводили цитогенетичне (каріотипування за стандартною методикою) та, за необхідності, молекулярно-цитогенетичне дослідження (FiSH-метод). FiSH виконували в обраній групі пацієнтів із 46,XY та із 46,XX ПРС в лабораторії Інституту Пастера, Франція (n = 49) з використанням WES.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Обстежено 106 пацієнтів з ПРС, серед яких хромосомне ПРС діагностували у 17,0 % (n = 18), 46,XY

ПРС — у 68,9 % (n = 73), 46,XX ПРС — у 14,1 % (n = 15) (рис. 1).

Слід зазначити, що в групі 46,XY ПРС 60 % дітей були зареєстровані в жіночій статі, проте в групі 46,XX ПРС 57,1 % дітей виховувались в чоловічій громадянській статі (рис. 2).

Генетичне тестування в групі 46,XY та 46,XX ПРС було проведено у 49 (55,6 %) пацієнтів. Генетична етіологія ПРС підтверджена у 23 (47 %) з них. У досліджуваній селективній вибірці найбільш частими були мутації в гені *AR* (n = 6) та *NR5A1* (n = 4) (43,5 %) (таблиця, рис. 3б). У 15 (30,6 %) пацієнтів виявлені VUS-варіанти, що не дало змоги встановити мутацію даного гена як причину ПРС, а у 3 (6,1 %) осіб з клінічними проявами ПРС були знайдені патогенні мутації в генах, що спричиняють спадкові синдроми (є причиною розвитку інших захворювань), не пов'язані з ПРС (рис. 3а).

Група із 46,XY ПРС

Мутації в гені *AR*

Серед шести пацієнтів з мутаціями в гені *AR* п'ятеро були зареєстровані в жіночій статі, оскільки вони мали жіночий фенотип внаслідок повної нечутливості до андрогенів (Complete androgen insensitivity syndrome — CAIS) (чотирьом з них проведено гонадектомію у віці від 6 до 15 років), і лише один хворий — в чоловічій статі. Хлопчик з мутацією *AR* p.Q799E народився з промежиною гіпоспадією, гіпоплазією статевого члена, лівобічною паховою килюю та набряком яєчок, в нього був діагностований синдром часткової нечутливості до андрогенів (partial androgen insensitivity syndrome — PAIS). Проведене гормональне дослідження виявило нормальний рівень АМГ та знижений рівень вільного тестостерону, який нормалізувався після проведення 3-денної проби з хоріонічним гонадотропіном. Подальше місцеве лікування препаратами тестостерону на ділянку статевого члена сприяло нормалізації його розміру відповідно до віку.

Мутації в гені *NR5A1*

Серед 4 пацієнтів з мутаціями в гені *NR5A1* c.244+1G>T двох було зареєстровано в чоловічій статі та двох — в жіночій. Двоє хлопчиків-близнюків при народженні мали двобічний крипторхізм, промежину гіпоспадію та мікропенію [12]. Із сімейного анамнезу відомо, що по батьківській лінії (а саме в батька і дідуся) при народженні було виявлено аналогічні ознаки ПРС, проведено пластику зовнішніх статевих органів у декілька етапів. Народження хлопчиків-близнюків

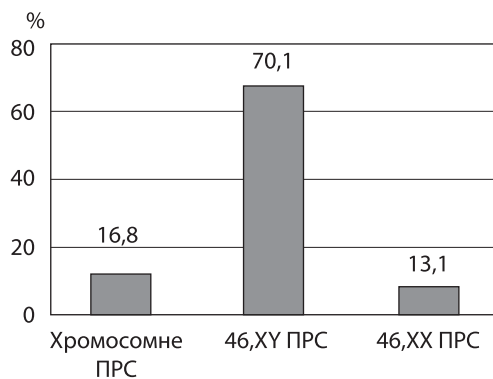


Рис. 1. Структура ПРС в Україні (за даними Реєстру)

стало можливим лише завдяки застосуванню у їхніх батьків допоміжних репродуктивних технологій (а саме екстракорпорального запліднення).

У дівчинки з *NR5A1* p.G38D з народження виявлено кліторомегалію та урогенітальний синус. У віці 1,5 міс. встановлено діагноз ВДКНЗ з призначенням лікування препаратами глюкокортикоїдів, яке відмінили після уточнення діагнозу у віці 4 років [13]. Під час профілактичного огляду в 9 років у дитини виявлено ознаки помірного первинного гіпокортицизму (рівень АКТГ 122 пг/мл (норма 6—55), кортизолу в добовій сечі — 42,4 мкг/добу при нормі 58—403 мкг/добу).

Інша пацієнтка з *NR5A1* p.C73Y при народженні мала зовнішні статеві органи проміжного типу, урогенітальний синус, кліторомегалію та розташування гонад в пахових каналах.

Мутації в гені *AMHR2*

У фенотипового хлопчика з гіпоспадією і відсутністю яєчок в калитці у віці 1 року проведено ревізію

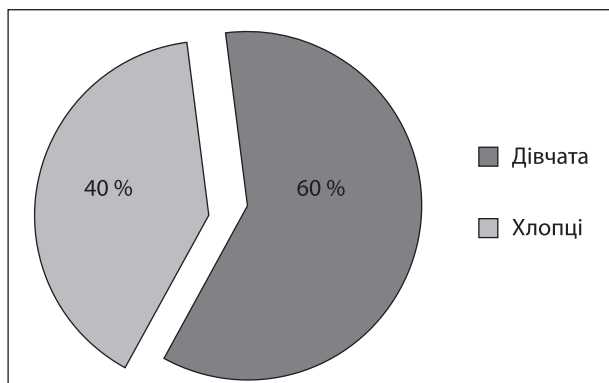
правого пахового каналу (з приводу пахової кири) [14]. При подальшому обстеженні діагностовано нормальний чоловічий каріотип (46,XY), за даними ультразвукового дослідження (УЗД) органів малого тазу (ОМТ) виявлено матку і гонади в черевній порожнині. За даними сімейного анамнезу старший брат хлопчика мав паховий крипторхізм та гіпоспадію. Проведене WES виявило компаундну мутацію в гені *AMHR2* p.R463H/p.R471N у пробанда та його брата, де варіант *AMHR2* p.R471N був успадкований від матері, а *AMHR2* p.R463H — від батька. Подальше обстеження сибса пробанда у 15 років виявило у нього наявність матки за даними УЗД ОМТ і МРТ ОМТ.

Мутації в гені *HSD17B3*

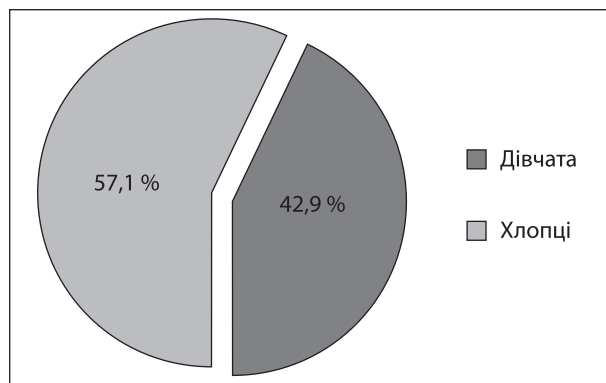
Обидва пацієнти із 46,XY ПРС з *HSD17B3* були зареєстровані в жіночій статі. З огляду на наявність двобічних пахових кил дівчинку з мутацією *HSD17B3* p.E215D/c.277+4A>T у 8 міс проконсультував уролог, проведено хірургічну пластику без необхідного додаткового обстеження. В 10 років відзначено рецидив пахових кил, подальше обстеження за допомогою УЗД виявило відсутність матки і розташування гонад у пахових каналах. Дівчинка з варіантом *HSD17B3* p.M47V/p.V243fs при народженні мала зовнішні статеві органи проміжного типу (скротолабіальні складки, промежинна гіпоспадія, урогенітальний синус) та розташування гонад в скротолабіальних складках.

Мутації в гені *MYRF*

Серед двох пацієнтів з мутацією в гені *MYRF* один був зареєстрований у чоловічій статі, а другий — в жіночій. Хлопчик з *MYRF* p.N105D при народженні мав зовнішні статеві органи проміжного типу, проме-



а). Хворі з 46,XY ПРС



б). Хворі з 46,XX ПРС

Рис. 2. Розподіл за зареєстрованою громадянською статтю хворих із ПРС 46,XY і 46,XX ($p > 0,05$)

Таблиця

Генетична характеристика патогенних/ймовірно патогенних мутацій у пацієнтів із 46,XY та із 46,XX ПРС

| Ген | Мутації, що були причинами ПРС |
|-----------------|--|
| AR (n = 6) | p.I836S, p.N706S, p.H886L, p.Q799E, гемізігота p.N706S, гемізігота c.2607+2T>G |
| NR5A1 (n = 4) | c.244+1G>T (n=2), p.C73Y, p. G38D |
| AMHR2 (n = 2) | p.R463H/ p.R471H |
| HSD17B3 (n = 2) | p.E215D/c.277+4A>T, p.M47V/ p.V243fs |
| MYRF (n = 2) | p.N105D, c.2572+1G>A |
| SRD5A2 (n = 1) | p.Y91H/ p.G13R |
| DHX37 (n = 1) | p.R674Q |
| WT1 (n = 1) | p.S255L |
| CBX2 (n = 1) | p.R135Q |
| GATA4 (n = 1) | p.G12R |
| KAL1 (n = 1) | Гемізігота c.856+3C>T |
| CYP19A1 (n = 1) | p.R457X/ p.L353fs |
| | Мутації, що не були причинами ПРС |
| WDR11 (n = 1) | p.A435T |
| CACNA1A (n = 1) | p.I219V |
| GLI2 (n = 1) | p.E1577K |

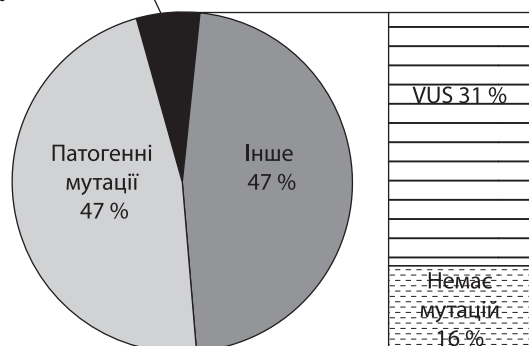
жинну гіпоспадію та двобічний крипторхізм (ліво-бічний паховий та правобічний абдомінальний). Йому було встановлено попередній діагноз «синдром тестикулярної регресії». Біопсія яєчок підтвердила наявність тканини яєчок з вираженим склерозом стромы і атрофією каналців. Батьки дівчинки з MYRFc.2572+1G>A вперше звернулися до ендокринолога у віці пацієнтки 14 років зі скаргами на первинну аменорею та відсутність вторинних статевих ознак. Проведене обстеження виявило первинний

гіпогонадізм, гірсутизм, кліторомегалію, за даними УЗД ОМТ — наявність матки та гонад розміром близько 3 см у черевній порожнині. В обох пацієнтів була відсутня будь-яка екстрагенітальна патологія, окрім гіперметропії високого ступеня у дівчинки. Гонадектомія їй була проведена у віці 26 років.

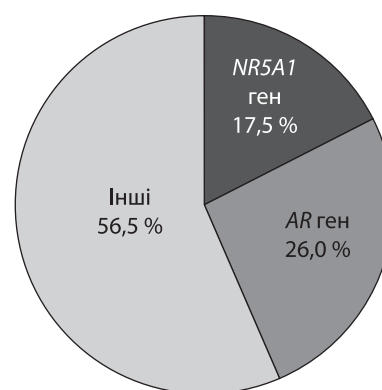
Мутація в гені SRD5A2

Дівчинку з мутацією SRD5A2 p.Y91H/p.G13R вперше проконсультував ендокринолог у віці 14 років

Патогенні мутації,
що не є причиною ПРС
6 %



а). Розподіл генетичних причин ПРС у хворих із 46,XY та із 46,XX



б). Структура патогенних мутацій у хворих із 46,XY та із 46,XX ПРС

Рис. 3. Результати молекулярно-генетичного тестування осіб із 46,XY та із 46,XX ПРС за даними Реєстру

з приводу первинної аменореї, кліторомегалії та відсутності вторинних статевих ознак. За даними УЗД пахових каналів виявлено наявність гонад, з приводу чого було проведено гонадектомію.

Мутація в гені DDX37

Дівчинку з *de novo* мутацією *DDX37* p.R674Q у віці 3 років оглянув хірург з огляду на наявність пахових кил. Подальше обстеження виявило в неї наявність первинного гіпогонадізму (ФСГ 90,9 мМО/мл), уrogenітального синусу та гонад, що були розташовані в черевній порожнині. Гонадектомію проведено у віці 4 років.

Мутація в гені WT1

Дівчинку з мутацією *WT1* p.S255L вперше обстежили у 12 років з приводу первинної аменореї та відсутності вторинних статевих ознак [2]. Проведене УЗД пахових каналів виявило наявність гонад, і в 12 років їй провели гонадектомію. За даними УЗД патології нирок не виявлено. Згідно з результатами генетичного дослідження встановлено, що мутація успадкована від матері, в якій відсутні ураження нирок і клінічні ознаки ПРС [15].

Мутація в гені CBX2

Дівчинку з *CBX2* p.R135Q зі скаргами на первинну аменорею, надлишкову масу тіла та відсутність вторинних статевих ознак вперше обстежив ендокринолог у 13 років [12]. Проведене гормональне обстеження виявило первинний гіпогонадізм, а УЗД ОМТ і черевної порожнини підтвердило наявність гонад у черевній порожнині. Гонадектомію виконано у 14 років. За даними генетичного дослідження мутація була успадкована від батька, в якого були відсутні клінічні прояви патології.

Мутація в гені GATA4

Дівчинку вперше обстежив ендокринолог у 3 роки з приводу затримки росту. Проведений каріотип виявив мінімальний мозаїцизм (93,3 % ядер з локусом Yq12) (46,XY. nuc ish Xp 11.1- q.11.1 (DXZ1*1), Yq12 (DYZ1-) [25]/ Xp 11.1- q.11.1 (DXZ1*1), Yq12 (DYZ1*1) [375]). За даними обстеження у дитини визначено первинний гіпогонадізм, а за результатами УЗД ОМТ і черевної порожнини — наявність матки та гонад у черевній порожнині. Гонадектомія проведена у віці 4 років з огляду на значну затримку росту (понад (-) 2SD) і необхідність в терапії препаратами соматотропіну, яка у разі збереження пато-

логічних гонад могла би спричинити їхню злоякісну трансформацію. WES підтвердило мутацію *GATA4* p.G12R, що була успадкована від здорової матері. За даними ехографії серця (ехоКГ) патології у матері і дитини не виявлено.

Мутація в гені KAL 1

Дитину з гемізиготною мутацією *KAL1* c.856+3C>T оглянув генетик в пологовому будинку з приводу невизначеної статі (зовнішні статеві органи проміжного типу, скрото-лабіальні складки, уrogenітальний синус, промежинна гіпоспадія). За даними УЗД права гонада була розташована в скрото-лабіальній складці, ліва — в паховому каналі. Проведені каріотипування і молекулярно-генетичне обстеження дали змогу виключити мутації в гені *AR*, а гормональне обстеження виявило нормогонадотропний гіпогонадізм. Рішенням консиліуму мультидисциплінарної команди фахівців дитина була зареєстрована у чоловічій громадянській статі у віці 4 міс.

У трьох пацієнтів із 46,XY ПРС, яким було проведено WES, виявлено патогенні мутації, які не були причиною їхнього стану. Зокрема у хлопчика із 46,XY ПРС та мутацією *CACNA1A* p.I219V, який з народження мав двобічний крипторхізм, калиткову гіпоспадію та подвоєння лівої нирки, в 6 та 7 років була проведена гонадектомія з приводу овотестикулярного ПРС. Патогістологічний висновок підтвердив діагноз герміногенної пухлини, з приводу якої проведено хіміотерапію, після якої в дитини розвинулася епілепсія. Мутація в гені *CACNA1A* призводить до розвитку епізодичної атаксії типу 2 (EA2), прогресивної спинномозкової атаксії (SCA6) та епілепсії [16], але не є причиною ПРС.

Дівчинку із 46,XY ПРС та мутаціями *GLI2* p.E1577K консультував ендокринолог з приводу низькорослості у віці 12 років. Додаткове обстеження виявило первинний гіпогонадізм, відсутність матки і гонад, гіпоплазію піхви. Дитина мала інші вроджені вади розвитку (коарктацію аорти (за даними ехоКГ), розщелину м'якого піднебіння) та фаціальні дизморфії. Мутація в гені *GLI2* є причиною синдрому Куллера—Джонса, що характеризується гіпопітuitarизмом з розвитком низькорослості, затримкою розвитку, полідактилією та фаціальними дизморфіями [17], але не є причиною ПРС.

Іншу фенотипову дівчинку із 46,XY ПРС оглянув ендокринолог у 14 років з приводу первинної аменореї. За результатами обстежень у віці 15 років було запідозрено гонадобластому, виконано гона-

дектомію. Патогістологічне дослідження підтвердило діагноз гонадобластоми з переважанням герміногенного компонента семіноми. За даними генетичного дослідження виявлено мутацію в гені *WDR11* р.А435Т, яку пов'язують з гіпогонадотропним гіпогонадізмом та синдромом Каллмана [18], але в нашому випадку цей ген не був причиною стану дитини.

Група із 46,XX ПРС

В групі із 46,XX ПРС 8 пацієнтів було зареєстровано в чоловічій громадянській статі, 7 — в жіночій (див. рис. 26). Молекулярно-цитогенетичне дослідження у 3 з 8 хлопчиків виявило Y-X-транслокацію локусу *SRY* (ish Xp11.1-q11.1(CEP(X)x2),Yp11.3(SRY+)), що пояснює причину їхнього стану.

WES було проведено одному хлопчику і трьом дівчатам із 46,XX ПРС.

У фенотипового хлопчика із 46,XX, *SRY* була виявлена *de novo* синонімічна мутація в гені *WT1* р.Т474Т. Хоча цю мутацію класифікували як *VUS*, вона може бути відповідальною за розвиток цього фенотипу, але для доказу даного припущення необхідні подальші функціональні дослідження, щоб з'ясувати, чи порушує вона сплайсинг, призводячи до зміни 10-го екзону.

Мутація в гені *CYP19A1*

В однієї з трьох дівчат із 46,XX ПРС було діагностовано рідкісну патогенну мутацію *CYP19A1*. Ця пацієнтка при народженні мала невизначену будову зовнішніх статевих органів і була зареєстрована у чоловічій громадянській статі. Після отримання результату каріотипу (46,XX, *SRY*-) у віці 8 міс дитині змінили стать на жіночу. У віці 1 року діагностовано флюороколюпоз, який мав самовільний оборотний розвиток. За даними повторного гормонального обстеження, проведеного у віці 5 років, підтверджено первинний гіпогонадізм (ФСГ 22 мМО/мл), у 10 років дитині проведено хірургічну пластику урогенітального синуса. Також було визначено зростання показників ФСГ (до 34,4 мМО/мл). Проведене у дитини і батьків WES підтвердило мутацію в гені *CYP19A1* р.Р457Х/ р.Л353fs, що була успадкована від батьків, носіїв даного гена.

Розлади дії андрогенів зумовлені повною або частковою нечутливістю (резистентністю) до них внаслідок мутацій в *AR* і мають X-зчеплене успадкування [19]. Фенотипово розлади біосинтезу та дія андрогенів відрізняються від таких при інших формах 46,XY ПРС наявністю сліпого піхвового мішка та

відсутністю мюллерових структур завдяки нормальної детермінації яєчок, а отже, і нормальному продукуванню АМГ [20]. Мутація в гені *AR* призводить до розвитку синдрому нечутливості до андрогенів (*CAIS* і *PAIS*), а також спінальної і бульбарної м'язової атрофії Кеннеді та раку передміхурової залози [19]. Клінічні варіанти синдрому нечутливості до андрогенів мають широку варіативність: від нормального чоловічого фенотипу з ізольованим безпліддям до геніталій невизначеної будови і формування повністю жіночого фенотипу (*CAIS*) [21]. *CAIS*, який раніше називали синдромом тестикулярної фемінізації, характеризується однобічними або (нерідко) двобічними паховими килами у дівчат в препубертатний період та первинною аменореєю в період статевого дозрівання [22]. Характерні риси *CAIS* охоплюють нормальний жіночий фенотип, нормальний розвиток молочних залоз, відсутнє або незначне оволосіння на лобку та в пахових ділянках, відсутність матки та яєчників, а також наявність короткої піхви зі сліпим кінцем [23]. У підлітковому віці для *CAIS* характерні надлишок ароматизації андрогенів в естрогени та відсутність фізіологічної дії андрогенів внаслідок дисфункції андрогенних рецепторів, що спричиняє розвиток вторинних жіночих статевих ознак [19]. У нашому випадку серед шести пацієнтів з фенотипом *CAIS* п'ять були зареєстровані в жіночій громадянській статі, чотирьом з них проведено гонадектомію, в однієї дитини в 15 років патогістологічне дослідження гонад підтвердило наявність семіноми.

Важливим геном, що бере участь у ранньому розвитку гонад, є *SF1* (стероїдний фактор 1), також відомий як *NR5A1*, що розташований на 9q33 хромосомі, є членом сімейства рецепторів ядерних гормонів, експресується в урогенітальному тракті, гіпоталамусі, передній долі гіпофіза і надниркових залозах [24]. Він кодує фактор ядерної транскрипції, що регулює експресію ряду генів, які беруть участь у статевому розвитку. У людини гетерозиготні мутації в *NR5A1* виявляються в 10—15 % випадків серед осіб із 46,XY ПРС та призводять до недостатності надниркових залоз, ушкодження гонад, крипторхізму, мікропенії та чоловічого безпліддя [25]. Пацієнти із 46,XY з патогенними гетерозиготними мутаціями *NR5A1* можуть мати широкий діапазон фенотипів — від ізольованого чоловічого безпліддя [26] до легкої недостатності вірилізації з гіпоспадією та/або крипторхізмом або до тяжкої недостатності вірилізації та геніталій невизначеного типу. Гонадальний фенотип колива-

ється від нормального чоловічого до дизгенетичного та анорхії [27]. В нашому випадку двоє хворих було зареєстровано в чоловічій статі і двоє — в жіночій. Двоє братів-близнюків мали помірну недостатність вірилізації з розвитком двобічного крипторхізму, промежнинної гіпоспадії та мікропенії. Двоє інших пацієнтів з тяжкою недостатністю андрогенізації були зареєстровані в жіночій статі, одній з яких встановлено хибний діагноз ВДКНЗ, відповідно до якого вона отримувала лікування препаратами глюкокортикоїдів до 4 років. Обом дівчаткам дано рекомендації щодо контролю гормональної функції надниркових залоз з огляду на можливість розвитку надниркової недостатності в більш пізньому віці [28], та у однієї з них (з *NR5A1* p.G38D) під час постійного профілактичного лабораторного моніторингу в 9 років було встановлено діагноз первинного гіпокортицизму.

Синдром персистенції мюллерових проток (СПМП) є рідкісним і характеризується відсутністю регресії дериватів мюллерових проток (матки і фаллопієвих труб) в осіб чоловічої статі та успадковується за аутосомно-рецесивним типом [29]. За етіологією розрізняють два типи СПМП: перший пов'язаний з мутаціями в гені АМГ (*AMH*; 19p13.3), а другий — з мутаціями в гені рецептора типу 2 АМГ (*AMHR2*; 12q13). За даними літератури наявність мутацій в *AMH* та *AMHR2* підтверджено у 88 % пацієнтів із СПМП, з них найбільш частим вважають перший тип (в 60 % випадків) [30]. У нашому випадку компаундна мутація в гені *AMHR2* p.R463H/p.R471H була виявлена у пробанда віком 9 років з двобічним крипторхізмом та гіпоспадією при народженні, а надалі — і в його брата. У даному випадку нетиповою рисою СПМП була наявність в обох братів гіпоспадії, яка не була раніше описана [30], але потенційно може бути компонентом цього синдрому.

Дефіцит 5 α -редуктази типу 2 — це аутосомно-рецесивний розлад, що характеризується різними варіантами фенотипу при народженні — від нормального жіночого до чоловічого з неоднозначними геніталіями або ізольованим безпліддям [31]. Цей ферментативний дефіцит призводить до порушення перетворення тестостерону в більш біологічно активний дигідротестостерон (ДГТ) — андроген, що необхідний для нормального розвитку зовнішніх статевих органів у плода чоловічої статі. Пацієнтів з патологічними мутаціями в *SRD5A2* зазвичай реєструють в жіночій статі при народженні і виховують як дівчаток, хоча вони мають яєчка і похідні вольфових

проток. Однак у період статевого дозрівання виникає вірилізація, і одним з інформативних діагностичних біохімічних маркерів є дослідження співвідношення тестостерон/дигідротестостерон після проби з хоріонічним гонадотропіном. Проте лише молекулярно-генетичне обстеження спроможне верифікувати діагноз, оскільки клінічні симптоми і гормональні маркери не завжди специфічні. В нашому випадку дитина при народженні мала розвиток зовнішніх геніталій за жіночим типом, і встановити діагноз стало можливим лише в підлітковому віці.

Мієлін-регуляторний фактор (*MYRF*) відіграє значну роль у регулюванні формування та підтримці мієлінізації в центральній нервовій системі як під час розвитку, так і в дорослому віці [32, 33]. Нещодавно проведені дослідження показали, що *de novo* мутації гена *MYRF* асоційовані з вродженою діафрагмальною килою, серцевими аномаліями, зокрема синдромом Шімітара, уrogenітальними аномаліями та енцефалопатією [34—38]. Один з двох наших пацієнтів з мутацією *MYRF* p.N105D був зареєстрований в чоловічій статі і не мав екстрагенітальних проявів, у той час як інша — фенотипова дівчинка з *MYRF* c.2572+1G>A, що вперше звернулася до ендокринолога у віці 14 років з приводу первинної аменореї, мала тяжку гіперметропію та амбліопію обох очей. Патологія очей, а саме синдромальна нанофтальмія є нещодавно описаним новим клінічним проявом гена *MYRF* [39]. Значна гіперметропія у нашому випадку була наслідком нанофтальму, і є новим компонентом синдромального ПРС в осіб з мутацією *MYRF*, що, зокрема, призводить до порушення мієлінізації оптичного нерва, втрати пігменту в ретинальному пігментному епітелії та стоншення судинної оболонки ока; отже, загалом *MYRF* відіграє також важливу роль і в розвитку ока [39].

Дефіцит ферменту 17 β -гідроксистероїддегідрогенази типу 3 (17 β HSD-3) є рідкісною причиною 46,XY ПРС, який часто неправильно діагностують [40]. Цей фермент наявний майже виключно в яєчках і конвертує Δ 4-андростендіон у тестостерон. У будь-якої фенотипової дівчинки з паховою килою, незначною кліторомегалією або уrogenітальним синусом існує підозра щодо дефіциту 17 β HSD-3 [40]. Якщо діагноз не встановлено в дитячому віці, у пацієнтів в підлітковому віці формуються значна вірилізація та первинна аменорея. Дефіцит 17 β HSD-3 є найпоширенішим дефектом біосинтезу тестостерону в осіб із 46,XY ПРС [20, 41]. Мутації гена *HSD17B3* в осіб із

46,XY ПРС мають широкий спектр змін зовнішніх статевих органів, починаючи від переважно жіночих або неоднозначних до переважно чоловічих з мікропенією та гіпоспадією [42]. Найчастіше у таких пацієнтів відзначають жіночі зовнішні геніталії зі зрощенням статевих губ та піхвою зі сліпим кінцем, кліторомегалією чи без неї [41]. В нашому випадку одна пацієнтка з *HSD17B3* р.М47V/р.V243fs мала невизначені геніталії при народженні, промежину гіпоспадію та урогенітальний синус і гонади, розташовані в пахових каналах. В іншій пацієнтки з мутацією *HSD17B3* р.E215D/с.277+4A>T з паховими килами, що з'явилися у віці 8 міс, діагноз було встановлено лише в 10 років під час проведення повторної герніографії та УЗД пахових каналів.

DEAH-бокс білка *DHX37* кодує РНК-геліказу і є частотою причиною несиндромної 46,XY-дизгенезії гонад, а також синдрому тестикулярної регресії, оскільки він відіграє вирішальну роль не лише в ранній детермінації яєчка людини, а й у підтримці тканин яєчок під час ранньої фази їхнього розвитку [43]. Цей ген контролює низку клітинних процесів, що охоплюють зміну вторинної структури РНК за рахунок ініціації трансляції, ядерного та мітохондріального сплайсингу, зборки рибосом та сплайсосом. Слід зазначити, що серед нашої когорти, окрім пацієнтки з патогенною *de novo* мутацією *DHX37* р. R674Q, ще одну мутацію *DHX37* р.G1030E було виявлено у хлопчика із синдромом тестикулярної регресії, але її значущість розцінили як *VUS*, що потребує подальших досліджень.

Ген *WT1*, розташований на хромосомі 11p13, є важливим для розвитку сечостатевого тракту, де він регулює експресію *SRY*, відіграє ключову роль разом із *SF1* у виробленні антимюллерового гормону в клітинах Сертолі та бере участь в розвитку нирок і гонад [24]. Гетерозиготні мутації та мутації сплайс-сайту *WT1* асоціюють із синдромом Denys—Drash (OMIM 194080) та синдромом Фрейзера (OMIM 136680). В нашому випадку на момент обстеження дитина з *WT1* мала гонадальний дизгенез, але не мала ураження нирок. Її мати з мутацією *WT1* не мала специфічних клінічних проявів. Нами були дані рекомендації щодо подальшого активного спостереження з проведенням УЗД нирок дитини та її матері.

Гени *GATA4* та *ZFPM2* (також відомі як *FOG2*) кодують фактори транскрипції і є критичними для розвитку яєчок. Відкриття родинної гетерозиготної місенс-мутації в *GATA4*, що призвело до розвитку 46,XY ПРС і також було пов'язано з вродженою вадою серця, підкреслило принципову роль *GATA4* в розвитку

і гонад, і серця [44]. В нашому випадку дитина мала гонадальний дизгенез, але не мала ураження серця, а її мати, носій *GATA4*, не мала ані ураження серця, ані ознак ПРС. Як і у разі мутації *WT1*, один і той самий ген має різні фенотипові прояви навіть у членів однієї родини, можливо, внаслідок неповної пенетрантності гена, варіативної чутливості генів партнера та олігогенних механізмів [45].

Chromobox2 (*CBX2*) модулює гістонові мітки ДНК, які змінюють експресію поряд розташованих генів в інших процесах розвитку, а саме *SF1/NR5A1*. Нині зафіксовано єдиний випадок компаундної мутації в гені *CBX2*, який пов'язують з дефектом епігенетичної регуляції [46]. Мутацію *CBX2* р.R135Q, виявлену в нашому випадку, не було ідентифіковано в жодній із загальнодоступних баз даних Single Nucleotide Polymorphism (SNP). Мутація в цьому гені доведена як причина ПРС у великої кількості моделей тварин, але деякі дослідники не підтвердили роль цього гена як причину захворювання у людей [47]. Однак наші дані свідчать про те, що мутації гена *CBX2* у людини можуть бути новою причиною недостатності яєчників, а також 46,XY дизгенезії гонад [48], хоча роль цього гена і знайденої мутації потребує подальшого вивчення.

Мутації в гені *KAL1* (*ANOS1*) є причиною синдрому Каллмана, що має X-зчеплений тип успадкування [49]. Клінічними проявами цього синдрому є гіпогонадо-тропний гіпогонадізм з аносмією або гіпоосмією. В його основі лежить порушення імпульсної секреції гонадоліберину в гіпоталамусі. Часто спостерігається двобічний крипторхізм [50]. Симптомокомплекс синдрому Каллмана також може включати дальтонізм, птоз, розщеплення губи і/або піднебіння, ністагм, полідактилію, зниження слуху, бімануальний синкінез, вади розвитку нирок, порушення розвитку зубів та безпліддя. Іншими генами, що залучені в розвиток цього синдрому, є *FGFR1*, *FGF8*, *PROKR2* та *PROK2* [51]. В нашому випадку дитина мала невизначені геніталії при народженні, нормогонадотропний гіпогонадізм і до 4 міс. не була зареєстрована в жодній статі, що досить нетипово для мутації гена *KAL1*.

Мутації в гені *CYP19A1* спричиняє дефіцит ароматази, що є рідкісним аутосомно-рецесивним захворюванням. Цей фермент конвертує андрогени в естрогени в гонадах та позагонадних тканинах. У плода з мутацією гена *CYP19A1*, що має дефіцит ароматази, в плаценті не відбувається конвертації дигідроандростерону сульфату (DHEA-S) в естрогени, тому він перетворюється на тестостерон, що призводить до вірилізації і плода, і вагітної [52]. На сьогодні в світі

відомо лише близько 40 випадків дефіциту ароматази [52]. В нашому випадку мутація в гені *CYP19A1* p.R457X/p.L353fs призвела до вірилізації у дитини (а саме до розвитку кліторомегалії і формування уrogenітального синуса). У дівчат з цією мутацією описують в неонатальний період підвищені рівні ФСГ і ЛГ та знижений вміст естрадіолу, а також формування великих кіст яєчників. Ці пацієнтки також мають схильність до розвитку остеопорозу, гіперглікемії та інсулінорезистентності, а в підлітковому віці у них формується первинна аменорея з гіпергонадотропним гіпогонадізмом [53]. В нашому випадку дитина не мала кіст яєчників, а підвищення рівнів ФСГ і ЛГ відбулось не в ранньому, а лише з 5-річного віку. В період вагітності мати дитини не мала симптомів вірилізації, однак в неї спостерігалась загроза переривання вагітності в терміні 28 тиж.

Отже, в нашому випадку серед 49 дітей, яким провели генетичне дослідження, патогенні мутації були виявлені в 47 % випадків, мутації неясної значущості — в 30,6 %. У 6,1 % пацієнтів виявлені мутації не були причиною ПРС, а у 16,3 % хворих WES не виявило жодної генетичної причини їхнього захворювання. Слід зазначити, що майже всі пацієнти мали неспецифічні клінічні ознаки ПРС (наприклад, проміжну будову зовнішніх статевих органів, кліторомегалію, уrogenітальний синус, гіпоспадію, пахові киля, крипторхізм тощо) із неспецифічними змінами гормональних маркерів, що в більшості випадків не дає змоги запідозрити мутацію в певному гені лише на підставі клініко-гормональних характеристик. Тобто лише застосування WES дало можливість виявити генетичну причину захворювання в 46,9 % дітей із 46,Y та із 46,XX ПРС. При цьому пацієнти, у яких не було виявлено патогенних мутацій, також мали неспецифічні клініко-гормональні характеристики, подібні до таких у пацієнтів з мутаціями, отже, причину їхнього захворювання в майбутньому ще належить визначити. Можливо, деяким пацієнтам слід радити проведення aCGH, а також повне геномне секвенування (WGS) як метод подальшої поглибленої діагностики.

Також слід зазначити, що наші пацієнти з мутаціями, що зазвичай описані як причини синдромального ПРС (а саме *WT1*, *GATA4* і *MYRF*), не мали жодних інших класичних проявів, окрім власне ПРС, за винятком дівчинки з мутацією *MYRF* c.2572+1G>A з гіперметропією.

Розуміння генетичної причини ПРС є вкрай важливим для прогнозування ризику злоякісної трансформації гонад, оскільки у таких пацієнтів підвищений ризик розвитку злоякісних пухлин із гермінативних клітин порівняно із загальною популяцією

[54]. Так, найвищий ризик злоякісного переродження існує в осіб з гонадальним дизгенезом і неповним розвитком яєчка (30—50 %) і навпаки, він нижчий (до 1—15 %) в осіб із 46,XY ПРС з порушенням синтезу чи дії андрогенів, в яких розвиток яєчок не змінений [55—58]. Додатковим чинником ризику злоякісності є абдомінальне або пахове розташування яєчок [59]. В нашому випадку пацієнти мали такі гени, що відповідають за розвиток гонад, а саме *NR5A1*, *CBX2*, *WT1*, *GATA4*. Отже, згідно з консенсусом [1] їм рекомендована гонадектомія одразу після встановлення генетичного діагнозу, в той час як у дітей, які зареєстровані в жіночій статі, з порушенням синтезу і дії андрогенів (а саме *AR*, *HSD17B3*, *SRD5A2*) гонадектомія може бути проведена в більш пізньому віці (перед початком пубертатного періоду). Найнижчий ризик розвитку злоякісних пухлин гонад (< 5 %) існує у випадку ovotestis і CAIS [1], хоча в нашому випадку у дитини з CAIS і мутацією *AR* p.N706S сертоліома була зареєстрована у віці 15 років, а у хлопчика з овотестикулярним ПРС та *SACNA1A* герміногенна пухлина з'явилася у 6 років. Це підкреслює факт, що майже кожна дитина з ПРС перебуває в групі ризику щодо розвитку злоякісних пухлин гонад у будь-якому віці. В літературі є різні дані відносно ризику малігнізації гонад: так, результати нещодавно проведених досліджень за участі пацієнтів з нечутливістю до андрогенів показали дещо нижчий ризик розвитку гермінативних пухлин яєчок (приблизно у 5 %) [55], розвиток неоплазії гермінативних клітин *in situ* у 14 % пацієнтів та рідкісну злоякісну трансформацію [54, 60]. Інші дослідники повідомляють, що злоякісні новоутворення були виявлені у 3,5 % серед усіх пацієнтів із CAIS, яким не проведено гонадектомію до 25 років, та вже у 33 % з тих, хто не пройшов гонадектомію до 50 років [54, 60].

Вкрай чутливим є також питання реєстрації статі пацієнта за наявності геніталій невизначеного типу. За підтвердженої генетичної природи захворювання великі бази даних пацієнтів і накопичений світовий досвід з виявлення аналогічних мутацій можуть допомогти мультидисциплінарній команді в прийнятті рішення щодо реєстрації статі. Якщо патогенна мутація не була підтверджена, залишається відкритим питання щодо поради вибору статі пацієнту, тактики його клінічного ведення, термінів гонадектомії тощо. В нашому випадку найчастішою мутацією серед осіб із 46,XY ПРС, зареєстрованих в чоловічій статі, була мутація *NR5A1* у хлопців-близнюків та

AMHR2 у сибсів, у той час як у пацієнтів, зареєстрованих в жіночій статі, — мутація в гені AR (18,5 %), що загалом відрізняється від даних інших авторів [3, 4]. Згідно з міжнародним консенсусом [1] реєстрація в жіночій статі рекомендована пацієнтам із 46,XX з ВДКНЗ, пацієнтам з CAIS та із 46,XY пацієнтам з дефіцитом рецептора ЛГ. Реєстрація в чоловічій статі рекомендована пацієнтам з дефіцитом 5 α -редуктази, оскільки 60 % з них пізніше ідентифікують себе як чоловіки, а також у випадку дефіциту 17 β -HSD3 через те, що понад 50 % пацієнтів пізніше усвідомлюють себе в чоловічій статі. В нашому випадку, на жаль, всі пацієнти із 46,XY ПРС з патогенними мутаціями в генах *HSD17B3* та *SRD5A2* були зареєстровані в жіночій статі. Загалом вважають, що у випадках, коли важко оцінити всі наявні дані щодо того, в якій статі реєструвати пацієнта, ключовим є потенційна якість статевого життя, оскільки наявні докази свідчать про те, що на анатомія геніталій впливає не так сильно, як інші менш відчутні, але вагомні чинники, пов'язані з міжособистісними стосунками [54].

ВИСНОВКИ

1. Серед дітей із 46,XY та із 46,XX ПРС генетична діагностика виявила патогенні мутації у 46,9 %, мутації неясної значущості — у 30,6 %. У 6,1% пацієнтів виявлені мутації не були причиною ПРС, а у 16,3 % хворих WES не виявило жодної генетичної причини їхнього захворювання.

2. За даними Реєстру найбільшою групою ПРС у дітей в Україні (68,9 %) є 46,XY ПРС, а найбільш частотою генетичною причиною ПРС у них (26 %) — мутації в гені андрогенового рецептора (AR).

3. Більшість дітей (60 %) із 46,XY ПРС виховуються в жіночій громадянській статі, 57,1 % осіб із 46,XX ПРС — у чоловічій.

4. Всім пацієнтам із 46,XY ПРС та із 46,XX ПРС показане проведення генетичного обстеження, зокрема шляхом WES, для верифікації клінічного діагнозу, обґрунтування тактики лікування і подальшого спостереження.

Автори статті висловлюють подяку за проведення генетичної діагностики Kenneth McElreavey (Інститут генетики людини ім. Луї Пастера, Франція), В. В. Кураковій, Ш. А. Кульбалаєвій (цитогенетична лабораторія Національної дитячої лікарні ОХМАТДИТ МОЗ України), за гінекологічне обстеження і оперативне лікування хворих — І. В. Гаврилович, І. В. Бачинській (відділення дитячої та підліткової

гінекології Національної дитячої спеціалізованої лікарні ОХМАТДИТ МОЗ України).

Джерела фінансування. Дослідження проведене в рамках теми НДР закладу (з номером держреєстрації 0117U003036). Автори не отримували гонорар за написання рукопису від комерційних організацій чи інших зацікавлених сторін.

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів при написанні статті.

Етичні аспекти. Всі процедури, які виконуються в дослідженнях із залученням пацієнтів, відповідали етичним стандартам щодо клінічної практики і Гельсінській Декларації (1964 р.) з поправками. Дослідження було схвалене Комітетом з етики УНПЦХ, ТEOIT МОЗ України. Дорослі пацієнти та батьки пацієнтів дитячого віку підписували форми інформованої згоди, в яких вони погодилися на лікування та всі необхідні діагностичні процедури, а також згоду на публікування результатів дослідження в спеціалізованих виданнях.

Внесок кожного автора: ідея, дизайн, написання статті — Є. В. Глоба; ідея, дизайн, редагування статті — Н. Б. Зелінська; обстеження хворих, збір та обробка даних, аналіз, інтерпретація та редагування статті — Ю. О. Щербак; клінічне обстеження хворих — Н. Л. Погадаєва, І. Ю. Шевченко, О. О. Хорошая, Т. М. Безутова, В. Б. Малашонок.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Lee PA, Houk P, Ahmed FS et al. Consensus Statement on Management of Intersex Disorders. *Pediatrics*. 2006;118(2):488-500.
2. Kyriakou A, Lucas-Herald A, McGowan R et al. Disorders of sex development: advances in genetic diagnosis and challenges in management. *Advances in Genomics and Genetics*. 2015;5:165-177.
3. Kalfa N, Fukami M, Philibert P et al. Screening of MAMLD1 mutations in 70 children with 46,XY DSD: identification and functional analysis of two new mutations. *PLoS One*. 2012;7(3): e32505.
4. Ahmed SF, Cheng A, Dovey L et al. Phenotypic features, androgen receptor binding, and mutational analysis in 278 clinical cases reported as androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(2):658-665.
5. White PC, Speiser PW. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev*. 2000;21(3):245-291.
6. Wu QY, Li N, Zhai JS et al. Clinical, molecular and cytogenetic analysis of 46,XX testicular disorder of sex development with SRY-positive. *BMC Urol*. 2014;14:1-5.

7. Laino L, Majore S, Preziosi N et al. Disorders of sex development: a genetic study of patients in a multi-disciplinary clinic. *Endocr Connect*. 2014;3(4):180-192.
8. Ruth M Baxter, Vilain E. Translational Genetics for Diagnosis of Human Disorders of Sex Development. *Annu Rev. Genomics. Hum Genet*. 2013;14:371-392.
9. Eggers S, Sadedin S, Jocelyn A et al. Disorders of sex development: insights from targeted gene sequencing of a large international patient cohort. Eggers et al. *Genome Biology*. 2016;17:243.
10. Singleton AB. Exome sequencing: A transformative technology. *Lancet Neurol*. 2011;10:942-946.
11. Hiort O, Birnbaum W, Marshall. et al. Management of disorders of sex development. *Nat. Endocrinol*. 2014;10:520-9.
12. Щербак ЮО, Глоба ЄВ, Зелінська НБ, Шевченко ІЮ. Порушення розвитку яєчок у осіб з 46,XY-гонадальним дизгенезом. Клін ендокринолог та ендокринна хірургія. 2018;63:15-21.
13. Щербак ЮО. Клінічна презентація 46,XY-порушення розвитку статі: дизгенезія гонад». *Укр журн дитячої ендокринології*. 2016;3:44-49.
14. Глоба ЄВ, Зелінська НБ, Шевченко ІЮ, Сірик НГ. Синдром персистенції мюллерових каналів: огляд літератури та власні дані. Клін. ендокринолог. та ендокринна хірургія. 2019;2(66):77-82. doi: <http://doi.org/10.30978/CEES-2019-2-77>.
15. Щербак ЮО. 46,XY-порушення статевого диференціювання, зумовлене мутацією в гені WT1». *Укр журн дитячої ендокринології*. 2017;4:85-89.
16. Damaj Lena, Lupien-Meilleur Alexis, Lortie Anne et al. CACNA1A haploinsufficiency causes cognitive impairment, autism and epileptic encephalopathy with mild cerebellar symptoms. *Eu. . Hu. Genet*. 2015;23(11):1505-1512.
17. Bertolacini CDP, Ribeiro-Bicudo LA, Petrin A et al. Clinical findings in patients with GLI2 mutations-phenotypic variability. *Cli. Genet*. 2012;81:70-75.
18. Kim HG, Ahn JW, Kurth I et al. WDR11 a WD protein that interacts with transcription factor EMX1, is mutated in idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann syndrome. *Am J Hum Genet*. 2010;87(4):465-79.
19. Hughes IA, Davies JD, MacDougall J et al. Androgen insensitivity syndrome. *Lancet*. 2012;380:1419-1428.
20. Bertelloni S, Federico G, Hiort O. 17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase-3 deficiency: genetics, clinical findings, diagnosis and molecular biology. *Ital J Pediatr*. 2004;30:32-38.
21. Brinkmann AO. Molecular basis of androgen insensitivity. *Mol Cell Endocrinol*. 2001;179:105-109.
22. Decaestecker K, Philibert P, De Baere E et al. A novel mutation c.118delA in exon 1 of the androgen receptor gene resulting in complete androgen insensitivity syndrome within a large family. *Fertil Steril*. 2008;89(1260):3-7.
23. Raicu F, Giuliani R, Gatta V et al. Novel mutation in the ligand-binding domain of the androgen receptor gene (I790p) associated with complete androgen insensitivity syndrome. *Asian J Androl*. 2008;10:687-691.
24. Preeti Paliwal, Anshul Sharma, Shweta Birla et al. Identification of novel SRY mutations and SF1 (NR5A1) changes in patients with pure gonadal dysgenesis and 46,XY karyotype. *Molecular. Human Reproduction*. 2011;17(6):372-378.
25. Bashamboo A, Ferraz-de-Souza B, Lourenco D et al. Male infertility associated with mutations in NR5A1 encoding steroidogenic factor 1. *Am J Hum Genet*. 2010;87:505-512.
26. Philibert P, Zenaty D, Lin L et al. Mutational analysis of steroidogenic factor 1 (NR5a1) in 24 boys with bilateral anorchia. A French. collaborative study. *Hum Reprod*. 2007;22:3255-3261.
27. Röpke A, Tewes A-C, Gromoll J et al. Comprehensive sequence analysis of the NR5A1 gene encoding steroidogenic factor 1 in a large group of infertile males. *Eur J Hum Genet*. 2013. doi:10.1038/ejhg. 2012. 290.
28. David Rodriguez-Buritica. Overview of genetics of disorders of sexual development. *Curr Opin Pediatr*. 2015;27:675-684.
29. Belville C, Josso N, Picard J-Y. Persistence of Mullerian Derivates in Males. *Am J Med Genet. (Semin Med Genet)*. 1999;89:218-223.
30. Picard JY, Cate RL, Racine C, Josso N. The Persistent Müllerian Duct Syndrome. An Update Based Upon a Personal Experience of 157 Cases. *Sex Dev*. 2017;11:109-125.
31. Sinnecker GH, Hiort O, Dibbelt L et al. Phenotypic classification of male pseudohermaphroditism due to steroid 5 alpha-reductase 2 deficiency. *Am J Med. Genet*. 1996;63:223-30.
32. Xiao L, Ohayon D, McKenzie IA et al. Rapid production of new oligodendrocytes is required in the earliest stages of motor-skill learning. *Nat Neurosci*. 2016;19:1210-1217.
33. Duncan GJ, Plemel JR, Assinck P et al. Myelin regulatory factor drives remyelination in multiple sclerosis. *Acta Neuropathol*. 2017;134:403-422.
34. Hamanaka K, Takata A, Uchiyama Y et al. MYRF haploinsufficiency causes 46,XY and 46,XX disorders of sex development: Bioinformatics consideration. *Human molecular genetics*. 2019;28(14):2319-2329.
35. Pinz H, Pyle LC, Li D et al. De novo variants in Myelin regulatory factor (MYRF) as candidates of a new syndrome of cardiac and urogenital anomalies. *Am J Med Genet. A*. 2018:969-972.

36. Chitayat D, Shannon P, Uster T et al. An Additional Individual with a De Novo Variant in Myelin Regulatory Factor (MYRF) with Cardiac and Urogenital Anomalies: Further Proof of Causality: Comments on the article by Pinz et al. *Am J Med Genet A*. 2018;2041-2043.
37. Kurahashi H, Azuma Y, Masuda A et al. MYRF is associated with encephalopathy with reversible myelin vacuolization. *Ann Neurol*. 2018;83:98-106.
38. Qi H, Yu L, Zhou X et al. De novo variants in congenital diaphragmatic hernia identify MYRF as a new syndrome and reveal genetic overlaps with other developmental disorders. *PLoS Genet*. 2018;14:e1007822 10.1371/journal.pgen.1007822.
39. Garnai SJ, Brinkmeier ML, Emery B et al. Variants in myelin regulatory factor (MYRF) cause autosomal dominant and syndromic nanophthalmos in humans and retinal degeneration in mice. *PLoS Genet*. 2019;15(5):e1008130.
40. George Minu M, New Maria I, Ten Svetlana et al. The Clinical and Molecular Heterogeneity of 17 β HSD-3 Enzyme Deficiency. *Horm Res Paediatr*. 2010;74:229-240.
41. Mendonca BB, Inacio M, Arnhold IJ et al. Male pseudohermaphroditism due to 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 3 deficiency. Diagnosis, psychological evaluation, and management. *Medicine Baltimore*. 2000;79:299-309.
42. Boehmer AL, Brinkmann AO, Sandkuijl LA et al. 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase-3 deficiency: diagnosis, phenotypic variability, population genetics, and worldwide distribution of ancient and de novo mutations. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:4713-4721.
43. McElreavey K, Jorgensen A, Eozenou C et al. Pathogenic variants in the DEAH-box RNA helicase DHX37 are a frequent cause of 46,XY gonadal dysgenesis and 46,XY testicular regression syndrome. *Genet Med*. 2019. Jul 24. doi: 10.1038/s41436-019-0606-y.
44. Lourenco D et al. Loss-of-function mutation in GATA4 causes anomalies of human testicular development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108:1597-1602.
45. Idoia Martinez de LaPiscina, Carmen de Mingo, Stefan Riedl et al. GATA4 Variants in Individuals With a 46,XY Disorder of Sex Development (DSD) May or May Not Be Associated With Cardiac Defects Depending on Second Hits in Other DSD Genes. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2018;9:142.
46. Biason-Lauber A, Konrad D, Meyer M et al. Ovaries and female phenotype in a girl with 46,XY karyotype and mutations in the CBX2 gene. *Am J Hum Genet*. 2009;84:658-663.
47. Norling Ameli, Lind en Hirschberg Angelica, Iwarsson Erik, Wedell Anna, Barbaro Michela. CBX2 gene analysis in patients with 46,XY and 46,XX gonadal disorders of sex development. *Fertility and Sterility*. 2013;99(3).
48. Merel T, Eozenou C, Van Maldergem L et al. Mutations in CBX 2 associated with gonadal anomalies in 46,XY and 46,XX individuals. Abstracts for 58th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology (ESPE). Vienna, Austria, September 19-21, 2019.
49. Del Castillo I, Cohen-Salmon M, Blanchard S et al. Structure of the X-linked Kallmann syndrome gene and its homologous pseudogene on the Y chromosome. *Nat Genet*. 1992;2(305):10.
50. De Castro Fernando, Seal Ruth, Maggi Roberto. ANOS1: a unified nomenclature for Kallmann syndrome 1 gene (KAL1) and anosmin-1. *Briefings in Functional Genomics*. 2017;16,(Issue 4):205-210.
51. Dodé Catherine and Hardelin Jean-Pierre. Kallmann syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2009;17(2):139-146.
52. Dursun Fatma, Ceylaner Serdar. A Novel Homozygous CYP19A1 Gene Mutation: Aromatase Deficiency Mimicking Congenital Adrenal Hyperplasia in an Infant without Obvious Maternal Virilisation. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2019;11(2):196-201.
53. Belgorosky A, Guercio G, Pepe C et al. Genetic and clinical spectrum of aromatase deficiency in infancy, childhood and adolescence. *Horm Res*. 2009;72:321-330.
54. Lee PA, Nordenstrom A, Houk CP et al. Global disorders of sex development update since 2006: perceptions, approach and care. *Horm Res Paediatr*. 2016;85:158.
55. Cools M, Drop SL, Wolffenbuttel KP et al. Germ cell tumors in the intersex gonad: old paths, new directions, moving frontiers. *Endocr Rev*. 2006;27(5):468-484.
56. Berra M, Liao LM, Creighton SM, Conway GS. Long-term health issues of women with XY karyotype. *Maturitas*. 2010;65(2):172-178.
57. Sakai N, Yamada T, Asao T, Baba M et al. Bilateral testicular tumors in androgen insensitivity syndrome. *Int J Urol*. 2000;7(10):390-392.
58. Schober J, Nordenström A, Hoebeke P et al. Disorders of sex development: summaries of long-term outcome studies. *J Pediatr. Urol*. 2012;8(6):616-623.
59. Lip SZ, Murchison LE, Cullis PS et al. A meta-analysis of the risk of boys with isolated cryptorchidism developing testicular cancer in later life. *Arch Dis Child*. 2013;98(1):20-26.
60. Cools M, Wolffenbuttel KP, Hersmus R et al. Malignant testicular germ cell tumors in postpubertal individuals with androgen insensitivity: prevalence, pathology and relevance of single nucleotide polymorphism-based susceptibility profiling. *Hum Reprod*. 2017;32(25):61-73.

РЕЗЮМЕ

Генетичний спектр порушень розвитку статі у дітей в Україні

**Є. В. Глоба¹, Н. Б. Зелінська¹, Ю. О. Щербак²,
Н. Л. Погадаєва², І. Ю. Шевченко¹, О. О. Хорошая²,
Т. М. Безутова², В. Б. Малашонок²**

¹Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, Київ

²Національна дитяча спеціалізована лікарня «ОХМАТДИТ» МОЗ України, Київ

Порушення розвитку статі (ПРС) — це група патологічних станів, при яких існують розбіжності між хромосомною, гонадною та фенотиповою статтю.

Мета роботи — визначити клінічні та молекулярно-генетичні особливості ПРС у дітей в Україні.

Матеріали та методи. Проведено ретроспективний аналіз 106 медичних карт пацієнтів з ПРС за період з 2000 по 2019 р. та проаналізовано їхні клінічні дані, анамнез, результати гормональних, генетичних, функціональних та інструментальних обстежень. Усім пацієнтам (від народження до 18 років) проводили цитогенетичне (каріотипування за стандартною методикою) та, за необхідності, молекулярно-цитогенетичне дослідження (FiSH-метод). Молекулярно-генетичне дослідження виконували в обраній групі пацієнтів із 46,XY та із 46,XX ПРС (n = 49) з повним екзомним секвенуванням (WES).

Результати та обговорення. Серед 106 обстежених хромосомне ПРС діагностоване у 17,0 % (n = 18), ПРС із 46,XY — у 68,9 % (n = 73), ПРС із 46,XX — у 14,1 % пацієнтів (n = 15). Більшість дітей (60 %) із 46,XY ПРС виховуються в жіночій громадянській статі, 57,1 % із 46,XX ПРС — в чоловічій. Серед дітей із 46,XY та із 46,XX ПРС генетична діагностика (WES) виявила патогенні мутації в 46,9 % випадку, мутації неясної значущості — в 30,6 %. У 6,1 % пацієнтів ці мутації не були причиною ПРС, а у 16,3 % WES не виявило жодної генетичної причини їхнього захворювання. За даними Реєстру найбільшою групою ПРС у дітей в Україні (68,9 %) є 46,XY ПРС, а найбільш частою генетичною причиною ПРС у них (26 %) — мутації в гені андрогенового рецептора (AR).

Висновки. Всім пацієнтам із 46,XY ПРС та із 46,XX ПРС показане проведення генетичного обстеження, зокрема шляхом WES, для верифікації клінічного діагнозу, обґрунтування тактики лікування і подальшого спостереження.

Ключові слова: 46,XY та 46,XX порушення статевого диференціювання, гени, каріотип, повне екзомне секвенування.

РЕЗЮМЕ

Генетический спектр нарушений развития пола у детей в Украине

**Е. В. Глоба¹, Н. Б. Зелинская¹, Ю. А. Щербак²,
Н. Л. Погадаева², И. Ю. Шевченко¹,
О. А. Хорошая², Т. Н. Безутова², В. Б. Малашонок²**

¹Украинский научно-практический центр эндокринной хирургии, трансплантации эндокринных органов и тканей МЗ Украины, Киев

²Национальная детская специализированная больница ОХМАТДИТ МЗ Украины, Киев

Нарушение развития пола (НРП) — группа патологических состояний, при которых существуют расхождения между хромосомным, гонадным и фенотипическим полом.

Цель работы — изучить клинические и молекулярно-генетические особенности НРП у детей в Украине.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ 106 медицинских карт пациентов с НРП за период с 2000 по 2019 г. и проанализированы их клинические данные, анамнез, результаты гормональных, генетических, функциональных и инструментальных обследований. Всем пациентам (с рождения и до 18 лет) проводили цитогенетическое (каротипирование по стандартной методике) и, при необходимости, молекулярно-генетическое исследование (FiSH-метод). Молекулярно-генетическое исследование выполняли в выбранной группе пациентов с 46,XY и 46, XX НРП (n = 49) с использованием полного экзомного секвенирования (WES).

Результаты и обсуждение. Среди 106 обследованных хромосомное НРП диагностировали у 17,0 % (n = 18), 46,XY НРП — у 68,9 % (n = 73), 46,XX НРП — у 14,1 % пациентов (n = 15). Большинство детей (60 %) с 46,XY НРП воспитываются в женском гражданском поле, а 57,1 % с 46,XX НРП — в мужском. Среди детей с 46,XY и 46,XX НРП WES выявила патогенные мутации в 46,9 % случаев, мутации неясной значимости — в 30,6 %. У 6,1 % пациентов обнаруженные мутации не были причиной НРП, а у 16,3 % по данным WES не выявили никакой генетической причины их заболевания. По данным Реестра наибольшей группой НРП у детей в Украине (68,9 %) является 46,XY НРП, а наиболее частой гене-

тической причиной НРП (26 %) — мутации в гене андрогенового рецептора (AR).

Выводы. Всем пациентам с 46,XY и 46,XX НРП показано проведение генетического обследования, в частности с помощью WES, для верификации клинического диагноза, обоснования тактики лечения и дальнейшего наблюдения.

Ключевые слова: 46,XY и 46,XX нарушения половой дифференцировки, гены, кариотип, полное экзомное секвенирование.

SUMMARY

Genetic spectrum of disorders of sex development in children in Ukraine

E. V. Globa¹, N. B. Zelinska¹, Y. O. Shcherbak², N. L. Pogadayeva², I. Y. Shevchenko¹, O. O. Horoshaya², T. M. Begytova², V. B. Malashonok²

¹ Ukrainian Scientific and Practical Center of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv

² National Children's Specialized Hospital OHMATDYT of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv

Disorders of sex development (DSD) is a group of pathological conditions where there is a discrepancy between the chromosomal, gonadal and phenotypic sex.

Objective — to investigate the clinical and molecular genetic characteristics of DSD in children in Ukraine.

Materials and methods. We carried out a retrospective analysis of 106 medical records of patients with DSD during period from 2000 to 2019 and analyzed the results

of clinical data, medical history, hormonal, genetic, functional and instrumental investigations. All patients (from birth to 18 years old) underwent cytogenetic (karyotyping according to the standard methods) and, if necessary, molecular genetic studies (FISH method). Molecular genetic testing was performed in a selected group of patients with 46,XY and 46,XX DSD (n = 49) using whole exome sequencing (WES).

Results and discussion. Among the examined 106 patients with DSD, chromosomal DSD was diagnosed in 17.0 % (n = 18) of patients, 46,XY DSD — in 68.9 % (n = 73) and 46,XX DSD — in 14.1 % (n = 15) cases. The majority of children (60 %) out of 46,XY DSD cohort are brought up in a female civilian sex, and 57.1 % of patients out of 46,XX DSD cohort — as males. Among children with 46,XY, and 46,XX DSD genetic testing (WES) found pathogenic mutations in 46.9 % of cases, variants of unknown significance — in 30.6 % of cases, in 6.1 % of patients the identified mutations were not the cause of DSD, and in 16.3 % of patients WES didn't find the genetic cause of their disease. According to the data of the Registry, the largest group of DSD in Ukrainian children (68.9 %) is 46,XY DSD, and the most common genetic cause of DSD in them (26 %) are mutations in the androgen receptor gene.

Conclusions. All patients with 46,XY and 46,XX DSD require genetic testing (in particular WES) to verify the clinical diagnosis, justify treatment tactics and further observation.

Key words: 46,XY and 46,XX disorders of sex development, genes, karyotype, whole exome sequencing.

Дата надходження до редакції 24.10.2019 р.