

УДК: 616.64-007.17

DOI: [HTTPS://DOI.ORG/10.24026/1818-1384.4\(60\).2017.118775](https://doi.org/10.24026/1818-1384.4(60).2017.118775)

46,XY-ПОРУШЕННЯ СТАТЕВОГО ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ, ЗУМОВЛЕНЕ МУТАЦІЄЮ В ГЕНІ WT1



Ю.О. Щербак¹, Н.Б. Зелінська², Є.В. Глоба²,
І.Ю. Шевченко²

¹Спеціалізований медико-генетичний центр, Національна дитяча спеціалізована лікарня «ОХМАТДИТ», м. Київ;

²Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, м. Київ



ВСТУП

Порушення статевого диференціювання (ПСД) – гетерогенна група захворювань, що виникають внаслідок мутацій статевих хромосом, їх структурних перебудов, мутацій та делецій X- або Y-зчеплених генів, гоносомного мозаїцизму, химеризму [1, 2]. Консенсусом щодо ПСД затверджено зміни в термінології та виділено три групи інверсії статі – з хромосомними порушеннями, з нормальним чоловічим або нормальним жіночим каріотипом [3, 4]. Вивчення генетичної гетерогенності, ланок патогенезу, варіативності фенотипових проявів ПСД триває.

Відомо, що дисгенезія гонад при 46,XY-ПСД може бути синдромальною та несиндромальною. Несиндромальна дисгенезія – група станів, для якої характерні: відсутність клінічних даних щодо ураження інших органів та систем окрім репродуктивних, чоловіча хромосомна стаття (каріотип 46,XY), формування зовнішніх статевих органів за жіночим типом або за невизначеною статевою належністю, похідні Мюллерової протоки відсутні або є повністю сформована матка з матковими трубами, гонади можуть бути представлені у вигляді яєчок, овотестіс, дисгенетичних яєчок, недиференційованої тканини (streak) [5].

Синдромальні форми дисгенезії гонад характеризуються одночасним ПРС та ураженням інших органів і/або систем організму. Описані форми з ураженням скелету, нанізмом, когнітивною недостатністю, дисфункцією надниркових залоз, вродженими вадами розвитку [6-8, 11].

Одним з генів-винуватців ПСД є WT1 ген (Willms tumor gene), що локалізований на хромосомі 11p13 (рис. 1), який експресується на ранніх стадіях формування проміжної мезодерми ще до розвитку уrogenітальної системи [8-10].

Гермінальні гетерозиготні мутації WT1 гену спричиняють дефекти розвитку сечостатевої системи, які в частині випадків супроводжуються виникненням в дитячому віці нефробластоми (пухлини Вільмса). Порушення функції WT1 гену відповідає за 10-15% всіх пухлин Вільмса (інші випадки пов'язані зі змінами інших генів – WT2, WT3 та ін.). Ген WT1 поводить себе як класичний пухлинний супресор. Ген має складну регуляцію. Його мРНК зазнає альтернативного сплайсингу, редагування і має декілька альтернативних сайтів ініціації трансляції. В результаті утворюються 24 ізоформи білків WT1, багато з яких функціонує як транскрипційні фактори, що можуть спричинити як активацію, так й репресію транскрипції генів. Донорні сайти альтернативного сплайсингу в кінці 9-го екзону забезпечують інсерцію (+) або делецію (-) трьох амінокислот – лізину, треоніну і серину (так звана KTS-послідовність) – проміж третім і четвертим «цинковими пальцями» фактора транскрипції. На сьогодні ідентифікована лише одна специфічна мішень транскрипційної функції

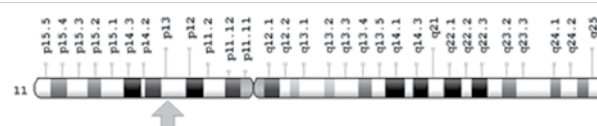


Рис. 1. Локалізація гену WT1 на короткому плечі хромосоми 11 (локус p13 відмічений стрілкою).

Щербак Юлія Олександрівна, к. мед. н., лікар-генетик спеціалізованого медико-генетичного центру; м. Київ, вул. Чорновола 28/1; E-mail: shcherbak@ukr.net. Зелінська Наталя Борисівна, д. мед. н., старший науковий співробітник, завідувач відділу дитячої ендокринології; E-mail: znb@ukr.net. ORCID: 0000-0002-9000-8940. Researcher ID: O-9213-2016. Глоба Євгенія Вікторівна, к. мед. н., провідний науковий співробітник відділу дитячої ендокринології. Шевченко Ірина Юріївна, к. мед. н., старший науковий співробітник відділу дитячої ендокринології; 01021 м. Київ, Кловський узвіз, 13-А.

WT1: деякі його продукти трансактивують ген амфірегуліна, представника родини EGF (факторів росту епідермісу), що регулює розмноження і диференціювання клітин. Зв'язуючись з рецептором EGF (EGF-R або протоонкоген ErbB1), амфірегулін в одних клітинах стимулює розмноження, в інших, наприклад, в ембріональних епітеліальних клітинах нирки, інгібує проліферацію й індукцію специфічного диференціювання. Окремі ізоформи протеїну WT1 зв'язуються з p53, що може спричинити зміну активності p53-респонсивних генів. Механізми канцерогенезу при порушеннях функції WT1 вивчені недостатньо [9].

Мутації в даному гені описані при синдромах Деніс-Дреш, WAGR, вродженому нефротичному синдромі, гострому мієлоїдному лейкозі, раку простати [11-13].

Синдром Деніс-Дреш (Denis-Drash syndrome; OMIM 194080). На сьогодні відомо понад 80 мутацій в гені WT1, що спричиняють синдром Деніс-Дреш, який характеризується гонадальним дисгенезом, нефропатією й розвитком нефробластоми. Мутації найчастіше зустрічаються у 8 і 9 екзонах, проте описані і в 4 екзоні. В 40% випадків синдрому спостерігається заміна амінокислоти аргініну на триптофан у положенні 394 (Arg349Trp або R349W).

Ниркові прояви при синдромі Деніс-Дреш характеризуються дифузним гломерулосклерозом, який розвивається з перших місяців життя та поступово спричиняє ниркову недостатність вже в дитинстві. В 90% випадків при синдромі спостерігається одно-/двобічна нефробластома. У пацієнтів з каріотипом 46,XY зовнішні статеві органи сформовані або за жіночим типом або неправильно – невизначеної статі. Гонади представлені дисгенетичними яєчками, що розташовані у пахових ділянках або інтраабдомінально. Пробанди з каріотипом 46,XX зазвичай мають правильно сформовані зовнішні геніталії за жіночим типом і клінічні прояви синдрому стосуються лише нирок (ізолюваний нефротичний синдром). Тип успадкування синдрому аутосомно-домінантний [12, 14-16].

Синдром WAGR (OMIM 149072). WAGR – акронім і включає такі клінічні ознаки: W – Wilms tumor – нефробластома (спостерігається у 50% випадків, зазвичай маніфестує у віці 1-5 років), A – aniridia – відсутність райдужної оболонки ока (може поєднуватись із макулярною гіоплазією, гіоплазією зорового нерва, катарактою, міопією, ністагмом, вродженою глаукомою), G – genitourinaria

problems – патологія сечостатевої системи, R- mental retardation – когнітивна недостатність [11, 17].

Причина розвитку синдрому – делеція в регіоні 11p13 і гемізіготність по гену WT1. Повнота клінічних проявів синдрому залежить від того, які саме гени відсутні внаслідок делеції. При втраті генів WT1 і PAX6 спостерігається типова клінічна картина. Ген PAX6 належить до родини генів PAX, що відіграють важливу роль у розвитку органів і тканин в ембріональному періоді. PAX протеїни є транскрипційними факторами, що контролюють активність інших генів. PAX6 протеїн активує гени, що задіяні в розвитку ока, мозку, підшлункової залози. При делеції регіону 11p13 також втрачається функція гену BDNF, який експресується в тканинах головного мозку. Втрата BDNF пов'язується з розвитком ожиріння, яке маніфестує вже в дитячому віці (інколи можна зустріти назву «синдром WAGRO», де O – obesity). Такі пацієнти також мають високий ризик наявності неврологічних проблем у вигляді інтелектуального дефіциту та аутизму [17-20].

Прояви патології сечостатевої системи залежать від статі: у хлопчиків – крипторхізм, різні форми гіпоспадії, у дівчат – дисгенезія яєчників, вади розвитку маткових труб і вагіни, підвищений ризик розвитку злоякісних новоутворень гонад. Необхідно також зазначити, що в 40% випадків у хворих із синдромом WAGR розвивається хронічна ниркова недостатність (в підлітковому віці) і хронічний панкреатит [11, 17].

Клінічний випадок

Нами було проведено обстеження дитини з розладом статеводиференціювання нез'ясованого генезу на попередніх етапах обстеження. Дитина П., 12 років, була вперше оглянута у відділенні дитячої гінекології, де знаходилась на обстеженні з приводу первинної аменореї. Народилась від четвертої неускладненої вагітності, перших вчасних пологів у здорових батьків, з масою тіла 3200 г, довжиною тіла 50 см. Враховуючи будову зовнішніх геніталій за жіночим типом, дитину було зареєстровано в жіночій статі. Під час огляду антропометричні показники відповідали віковим нормам, будова тіла пропорційна, без стигм дизембріогенезу. За результатами ультразвукового сканування органів малого тазу виявлено гіоплазію матки (матка у вигляді тяжа 8x18мм), відсутність гонад у типовому місці, натомість в пахових каналах з обох боків виявлено кістоподібні утворення 23x15мм. За результатами каріотипування з використанням FISH-

методу виявлена чоловіча хромосомна стать (46,XY. ishXp11.1-q11.1(DXZ1+),Yq12(DYZ1+)[100]). Сімейний анамнез зі слів батьків не обтяжений випадками вроджених вад розвитку, репродуктивних втрат та непліддя.

Результати визначення гормонів крові свідчили про гіпергонадотропний гіпогонадізм: лютеїнізувальний гормон 11,47 мМО/мл (вікова норма для хлопчиків 0,8-8,4), фолікулостимулювальний гормон 8,26 МО/л (вікова норма для хлопчиків 0,44-4,6 МО/л), вільний тестостерон допубертатний – 1,06 пг/мл (вікова норма для хлопчиків <1,7 пг/мл).

На підставі клінічних даних, лабораторних та інструментальних досліджень було встановлено попередній діагноз: Порушення статевого диференціювання, 46,XY. Неповна форма синдрому нечутливості до андрогенів (?). Враховуючи наявність Y хромосоми в каріотипі при жіночому фенотипі та ймовірний ризик злякисного переродження гонад [22], за рішенням мультидисциплінарного консиліуму, після отримання згоди батьків, дитині у віці 12 років проведено гонадектомію. За результатами гістологічного дослідження видалені гонади мали ознаки дисгенетичних гонад з порушенням дозрівання елементів строми статевого тяжу і диференціюванням за чоловічим та частково жіночим типом.

За допомогою секвенування нової генерації (next-generation sequencing – NGS), що було проведене у лабораторії відділу Генетики людини Інституту Луї Пастера (Франція), були виявлені патологічні мутації в WT1 гені (NM_000378: exon2: c.C764T: p.S255L; NM_001198551: exon2: c.C128T: p.S43L; NM_001198552: exon2: c.C128T: p.S43L; NM_024424: exon2: c.C764T: p.S255L; NM_024426: exon2: c.C764T: p.S255L), одна з яких успадкована від матері.

За результатами комплексу обстежень дитині встановлено діагноз: Порушення статевого диференціювання, 46,XY, зумовлене мутацією в гені WT1.

На даний час дитина отримує замісну гормональну терапію жіночими статевими гормонами під контролем дитячого ендокринолога, 1 раз на рік проходить профілактичне обстеження у нефролога.

ВИСНОВКИ

Автори роблять висновок, що діагностика 46,XY-дисгенезії гонад за клінічними ознаками не становить складності, враховуючи розбіжності між хромосомною, гонадною та генітальною статтю. Складність полягає в уточненні причини інверсії

статі та можливості підтвердження діагнозу за допомогою молекулярно-генетичних досліджень. Терміни проведення хірургічних втручань, а саме – гонадектомії і/або пластики геніталій – повинні визначатись для кожного пацієнта індивідуально мультидисциплінарною командою [21] в складі генетика, фахівців педіатричного профілю: ендокринолога, хірурга, гінеколога, уролога, психолога. Сучасні генетичні дослідження дозволяють верифікувати діагноз, а знання щодо хромосомних поломок або патологічних генних мутацій дає можливість провести медико-генетичне консультування родини з метою визначення повторних ризиків при подальшому народженні дітей, ризику злякисного переродження гонад у пробанда та імовірних ускладнень з боку інших органів та систем.

Автори статті висловлюють подяку лікарям відділення дитячої та підліткової гінекології Національної дитячої спеціалізованої лікарні «ОХМАТДИТ» МОЗ України – завідувачу к. мед. н. Гавриловій І.В., Бачинській І.В., а також завідувачу лабораторії відділу Генетики людини Інституту Л. Пастера (Франція) Kenneth McElreavey.

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

ЛІТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kurilo LF. [Chromosomal diseases of the reproductive organs]. Klin i Eksperim Morfologiya. 2015;(1):48-59. [Russian].
2. Vorsanova SG, Yurov YuB, Chernyshov VN. [Medical cytogenetics]. M.: Medpraktika-M; 2006. 300 p. [Russian]. ISBN: 5-98803-023-8.
3. Lee PA, Houk CP, Ahmed SF, Hughes IA; International Consensus Conference on Intersex organized by the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society and the European Society for Paediatric Endocrinology. Consensus statement on management of intersex disorders. International Consensus Conference on Intersex. Pediatrics. 2006 Aug;118(2):e488-500.
4. Kalinichenko NYu, Tyulpakov AN. [New classification of disorders of sex differentiation. Discussion concerning international consensus on terminology and classification of intersex conditions]. Vestnik Reproductivnogo Zdorovya. 2008;(3):48-51. [Russian].
5. Mohnach L, Fehner PY, Keegan CE. Nonsyndromic Disorders of Testicular Development. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH,

- Mefford HC, Stephens K, Amemiya A, Ledbetter N, editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2017. 2008 May 21 [updated 2016 Jun 2].
6. Kurilo LF, Andreeva MV, Kolomiets OL, et al. [Genetically caused congenital anomalies of reproductive system]. *Androl i Genit Khirurgiya*. 2013;(4):17-27. [Russian].
 7. Grumbach MM, Conte FA. Disorders of sex differentiation. In: Williams Textbook of Endocrinology, 8th ed., Wilson JD, Foster DW (eds). Philadelphia: Saunders; 1992. p. 853-951.
 8. Ahmed SF, Bashamboo A, Lucas-Herald A, McElreavey K. Understanding the genetic aetiology in patients with XY DSD. *Br Med Bull*. 2013;106:67-89.
 9. Klamt B, Koziell A, Poulat F, Wieacker P, Scambler P, Berta P, Gessler M. Frasier syndrome is caused by defective alternative splicing of WT1 leading to an altered ratio of WT1 +/-KTS splice isoforms. *Hum Mol Genet*. 1998;7(4):709-714.
 10. Ozen S, Onay H, Atik T, Solmaz AE, Ozkinay F, Goksen D, Darcan S. Rapid molecular genetic diagnosis with Next-generation sequencing in 46,XY DSD cases: efficiency and cost assessment. *Horm Res Paediatr*. 2017;87(2):81-87.
 11. Jones KL. [Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation]. Azova AG, Ivanova IA, Misharina AV (translators). M: Praktika; 2011. 998 p. [Russian]. ISBN 978-5-89816-086-9.
 12. Andrade JG, Guaragna MS, Soardi FC, Guerra-Júnior G, Mello MP, Maciel-Guerra AT. Clinical and genetic findings of five patients with WT1-related disorders. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2008;52(8):1236-1243.
 13. Dai YL, Fu JF, Hong F, Xu S, Shen Z. WT1 mutation as a cause of 46 XY DSD and Wilm's tumour: a case report and literature review. *Acta Paediatr*. 2011 Jul;100(7):e39-42.
 14. Guaragna MS, Soardi FC, Assumpcao JG, et al. The novel WT1 gene mutation p.H377N associated to Denys-Drash syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2010;32(6):486-488.
 15. Niaudet P, Gubler MC. WT1 and glomerular diseases. *Pediatr Nephrol*. 2006; 21(11):1653-1660.
 16. Yue Z, Pei Y, Sun L, et al. Clinical pictures and novel mutations of WT1-associated Denys-Drash syndrome in two Chinese children. *Ren Fail*. 2011;33(9): 910-914.
 17. Fischbach BV, Trout KL, Lewis J, Luis CA, Sika M. WAGR syndrome: a clinical review of 54 cases. *Pediatrics*. 2005;116(4):984-988.
 18. Glaser T, Jeepeal L, Edwards J, Young S, Favor J, Maas R. PAX6 gene dosage effect in a family with congenital cataracts, aniridia, anophthalmia and central nervous system defects. *Nat Genet*. 1994;7(4):463-471.
 19. Yasuda T, Kajimoto Y, Fujitani Y, et al. PAX6 mutation as a genetic factor common to aniridia and glucose intolerance. *Diabetes*. 2002;51(1):224-230.
 20. Han JC, Liu QR, Jones M, et al. Brain-derived neurotrophic factor and obesity in the WAGR syndrome. *N Engl J Med*. 2008;359(9):918-927.
 21. Parisi MA, Ramsdell LA, Burns MW, et al. A Gender Assessment Team: experience with 250 patients over a period of 25 years. *Genetics in Medicine*. 2007 Jun;9(6):348-357. Available from, DOI: 10.1097/GIM.0b013e3180653c47.
 22. Kathrins M, Thomas F. Malignancy in disorders of sex development. *Transl Androl Urol*. 2016;5(5):794-798.

РЕЗЮМЕ

46,XY-порушення статевого диференціювання, зумовлене мутацією в гені WT1

Ю.О. Щербак, Н.Б. Зелінська, Є.В. Глоба, І.Ю. Шевченко

46,XY-порушення статевого диференціювання виникають внаслідок структурних перебудов статевих хромосом, мутацій, делецій, дуплікацій Х-зчеплених і аутосомних генів. Варіантом несиндромальної 46,XY-дисгенезії гонад може бути інверсія статі, яка зумовлена мутацією в гені WT1. Її клінічними ознаками в хворих з жіночим фенотипом і чоловічою хромосомною статтю є первинна аменорея і/або нефротичний синдром. Пацієнти з 46,XY-дисгенезією гонад, зумовленою мутацією в гені WT1, потребують медичного супроводу мультидисциплінарної команди (визначення оптимального терміну проведення гонадектомії, замісна гормональна терапія, психосоціальна адаптація, доклінічна діагностика імовірного розвитку нефробластоми або нефротичного синдрому).

Ключові слова: 46,XY-порушення статевого диференціювання, дисгенезія гонад, 46,XY-інверсія статі, мутація в гені WT1.

РЕЗЮМЕ

46,XY-нарушение половой дифференцировки, обусловленное мутацией в гене WT1**Ю.А. Щербак, Н.Б. Зелинская, Е.В. Глоба, И.Ю. Шевченко**

46,XY-нарушения половой дифференцировки возникают вследствие структурных перестроек половых хромосом, мутаций, делеций, дупликаций X-сцепленных и аутомсомных генов. Вариантом несиндромальной 46,XY-дисгенезии гонад может быть инверсия пола, обусловленная мутацией в гене WT1. Ее клиническими признаками у пациентов с женским фенотипом и мужским хромосомным полом являются первичная аменорея и/или нефротический синдром. Пациентам с 46,XY-дисгенезией гонад, обусловленной мутацией в гене WT1, необходимо медицинское сопровождение мультидисциплинарной команды (определение оптимальных сроков проведения гонадэктомии, заместительная гормональная терапия, психосоциальная адаптация, доклиническая диагностика вероятного развития нефробластомы или нефротического синдрома).

Ключевые слова: 46,XY-нарушение половой дифференцировки, дисгенезия гонад, 46,XY-инверсия пола, мутация в гене WT1.

SUMMARY

46,XY-disorder of sex development due to a mutation in the WT1 gene**Shcherbak Yu, Zelinska N, Globa Ye, Shevchenko I.**

46,XY-disorder of sex development occur due to structural rearrangements of sex chromosomes, mutations, deletions, duplications of X-linked and autosomal genes. A variant of nonsyndromic 46,XY-gonadal dysgenesis can be caused by a mutation in the WT1 gene, the clinical signs of which in patients with a female phenotype and male chromosome sex are primary amenorrhea and / or nephrotic syndrome. Patients with 46,XY-gonadal dysgenesis, caused by a mutation in the WT1 gene, need medical support for a multidisciplinary team (determining the optimal timing of gonadectomy, hormone replacement therapy, psycho-social adaptation, preclinical diagnosis of the probable development of nephroblastoma or nephrotic syndrome).

Key words: 46,XY-disorder of sex development, gonadal dysgenesis, 46, XY-inversion of sex, mutation in WT1 gene.

Дата надходження до редакції 30.10.2017 р.