

## Нарушение формирования пола 46,XY, ассоциированное с мутациями в гене *MAP3K1*. Описание клинических случаев

© И.В. Копылова\*, Е.С. Кузнецова, И.С. Чугунов, Е.М. Орлова, О.С. Даниленко, Д.Н. Бровин, М.А. Карева, В.А. Петеркова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва, Россия

Причинами нарушения формирования пола (НФП) 46,XY могут быть мутации ряда генов, вовлеченных в процесс дифференцировки гонад. XY-инверсия пола может являться также следствием нарушений на уровне гена митоген-активированной протеинкиназы (МАРК) киназы киназы 1 (*MAP3K1*) и МАРК-сигнального пути. В последнее десятилетие было доказано участие МАРК-пути в инициации экспрессии гена *SRY* при формировании мужского гонадного пола у млекопитающих. Роль МАРК-сигнального пути в формировании пола у людей изучена недостаточно. Вероятно, *MAP3K1* и МАРК-сигнальный путь являются одним из генетических путей, контролирующими нормальное развитие яичек. В настоящее время в литературе описано несколько семей и спорадических случаев НФП 46,XY вследствие мутаций в гене *MAP3K1*. Клиническая картина НФП у этих пациентов различна и варьирует от женского фенотипа с правильным строением наружных гениталий до мужского фенотипа с гипоспадией. Мы приводим описания редких клинических случаев нарушений формирования пола 46,XY (семейный случай НФП у единоутробных сестер и спорадический случай) с не описанными ранее мутациями в гене *MAP3K1*. В статье также кратко анализируется литература по данной патологии.

*Ключевые слова:* нарушение формирования пола, дисгенезия гонад, ген *MAP3K1*, клинический случай.

### Disorder of sex development 46,XY associated with mutations in the gene *MAP3K1*. The report of clinical cases

© Irina V. Kopylova\*, Elena S. Kuznetsova, Igor S. Chugunov, Elizaveta M. Orlova, Oleg S. Danilenko, Dmitry N. Brovin, Maria A. Kareva, Valentina A. Peterkova

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

The disorders of sex development (DSD) 46,XY may be caused by mutations in a number of genes involved in the gonadal differentiation. The XY sex inversion can be also due to disturbances at the level of mitogen-activated protein kinase (MAPK) kinase kinase 1 gene (*MAP3K1*) and MAPK-signaling pathway. During the last decade, the involvement of the MAPK pathway in the *SRY* gene up-regulation during the formation of male gonadal sex in mammals has been demonstrated. The role of MAPK-signaling pathway in the human sex determination is not fully understood. Probably, *MAP3K1* and the MAPK-signaling pathway are one of the genetic pathways controlling normal development of human testis. So far, several families and sporadic cases of 46,XY DSD due to mutations in *MAP3K1* gene have been reported in the literature. Clinical presentation of DSD in these patients varies from female phenotype with normal externalia to male phenotype with hypospadias. We describe rare cases of the DSD 46,XY (a family case of DSD in uterine sisters and a sporadic case) with mutations in the *MAP3K1* gene that haven't been previously described. The article also presents brief literature review on this pathology.

*Keywords:* disorders of sex development, gonadal dysgenesis, *MAP3K1* gene, case report.

Нарушения формирования пола (НФП) — группа врожденных патологий, сопровождающихся атипичным развитием хромосомного, гонадного и анатомического пола [1]. Формирование мужского пола определяется в первую очередь экспрессией гена *SRY* на Y-хромосоме, способствующего развитию недифференцированных гонад в тестикулы [2]. Наряду с геном *SRY* идентифицирован ряд генов и сигнальных путей, участвующих в детерминировании пола и ассоциированных с широким фенотипическим спектром НФП [3]. В недавних исследованиях были выявлены мутации в гене митоген-активированной протеинкиназы (МАРК) киназы киназы 1 (*MAP3K1*, также известном как *MEKK1*), которые были связаны с нарушением формирования пола 46,XY [4, 5]. Роль сигнального пути МАРК в определении пола у людей не изучена. Вероятно, *MAP3K1* и МАРК-сигнальный путь является одним

из генетических путей, контролирующими нормальное развитие яичек. В настоящее время в литературе описано несколько семейных и спорадических случаев НФП 46,XY, обусловленных мутациями в данном гене [4, 5]. Известные случаи НФП 46,XY, ассоциированные с геном *MAP3K1*, отличаются различной клинической картиной, варьирующей от женского фенотипа с правильным строением наружных гениталий до мужского фенотипа с микропенисом и гипоспадией различной степени.

#### Клинический случай №1

*Семейный вариант нарушения формирования пола у единоутробных сестер с кариотипом 46,XY*

Пациентка О. при рождении была зарегистрирована в женском поле и воспитывалась как девочка. По данным медицинской документации, при пер-

вичном патронаже была выявлена гипертрофия клитора, однако обследование не проводилось, к эндокринологу не обращались. У пациентки отмечался спонтанный поздний пубертат с нарушенным порядком появления вторичных половых признаков (адренархе в 14 лет, телархе в 17 лет), первичная аменорея. Впервые была обследована по месту жительства в возрасте 16 лет. Был выявлен гипергонадотропный гипогонадизм (ЛГ 23,4 мМЕ/мл, ФСГ 99,1 мМЕ/мл), кариотип 46,XY.

Девочка была госпитализирована в детское отделение ФГБУ ЭНЦ в возрасте 17 лет. При объективном осмотре отмечался нормальный рост (164,3 см, SDS роста +0,35), половое созревание соответствовало стадии II по Таннеру (B2P2). Наружные половые органы были сформированы неправильно [клитор гипертрофирован (2,5—3 см) с головкой, слабо развитые кавернозные тела, меатус у основания клитора, скротолабиальный шов расщеплен, вход во влагалище сужен]. Отмечались высокий уровень гонадотропинов [ЛГ 88 Ед/л (2,6—12), ФСГ 104 Ед/л (1,9—11,7)], эстрадиола [70 пмоль/л (97—592)], тестостерона [3,11 нмоль/л (0,1—2,7)]. Показатели дигидроэпиандростерона-сульфата (ДГЭА-С) и 17-гидроксипрогестерона (17-ОНП) находились в пределах референсных значений [7,52 мкмоль/л (0,92—7,6) и 3,6 нмоль/л (0,1—7,0) соответственно]. При МРТ органов малого таза определялись матка в виде тяжа 2,3×0,9 см и гонады (справа 2×1 см, слева 0,7×1,4 см). Был установлен диагноз: нарушение формирования пола 46,XY и рекомендована диагностическая лапароскопия, при которой в малом тазу были обнаружены гипоплазированная двурогая матка, две маточные трубы, дисгенетичные гонады с обеих сторон. При морфологическом исследовании операционного материала в ФГБУ ЭНЦ была верифицирована двусторонняя гонадобластома. При повторном исследовании гистологических препаратов в ФНКЦ ДГОИ им. Д. Рогачева была подтверждена двусторонняя гонадобластома с трансформацией в дисгерминому с правой стороны. Девочка была консультирована онкологом. Учитывая данные КТ органов грудной клетки (очаговых и инфильтративных изменений не выявлено), гистологический тип опухоли и стадию заболевания, химиотерапия не назначалась. Рекомендована непрерывная заместительная терапия женскими половыми гормонами. В последующем проведена феминизирующая пластика наружных гениталий.

Пациентка Б., 13,5 года, единоутробная сестра пациентки О., была обследована в связи с отсутствием спонтанного пубертата и диагностированием НФП 46,XY у старшей сестры (см. рисунок).

При рождении отмечалось правильное строение наружных гениталий. По данным обследования, проведенного в возрасте 13 лет, был также определен кариотип 46,XY, при УЗИ органов малого таза —

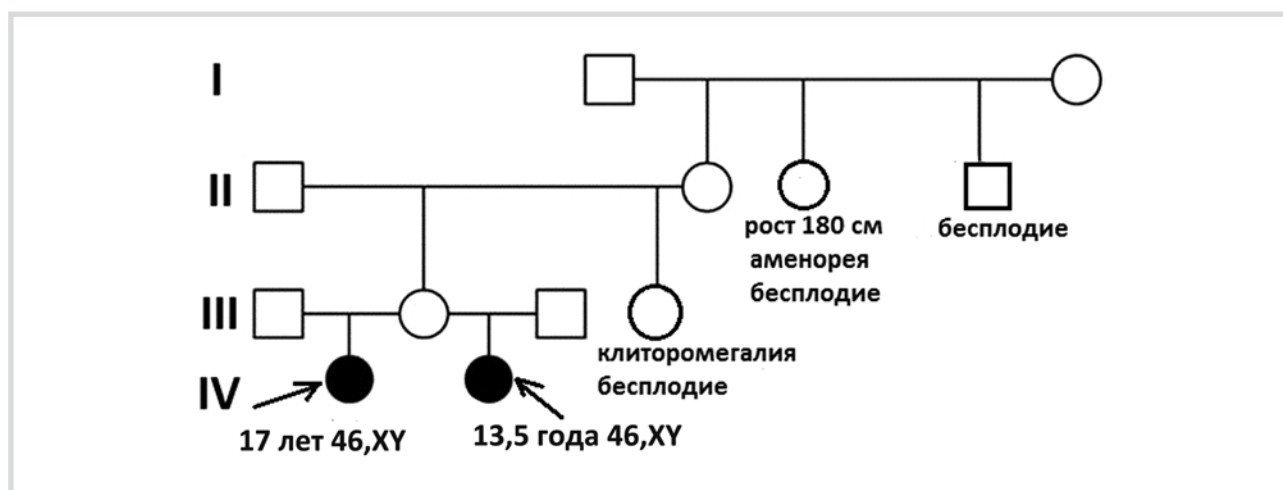
аплазия матки и яичников. При клиническом осмотре рост девочки составил 155,9 см (SDS роста = -0,64), половой статус соответствовал стадии I по Таннеру. Наружные половые органы были сформированы по женскому типу. Лабораторно был подтвержден гипергонадотропный гипогонадизм [ЛГ 39,9 Ед/л (2,6—12), ФСГ 137 Ед/л (1,9—11,7), эстрадиола 43,3 пмоль/л (97—592)], отмечался нормальный уровень тестостерона [0,6 нмоль/л (0,1—2,7)]. При МРТ органов малого таза была выявлена матка в виде тяжа, гонады не визуализировались. При диагностической лапароскопии в малом тазу обнаружена гипоплазированная матка, две маточные трубы, гонады в виде стрекков. Морфологическое исследование операционного материала верифицировало дисгенезию гонад по овотестикулярному типу.

Обеим пациенткам было проведено молекулярно-генетическое исследование методом высокопроизводительного параллельного секвенирования с использованием разработанной в ФГБУ ЭНЦ панели олигонуклеотидов, предназначенной для анализа 45 генов, ассоциированных с различными формами нарушения формирования пола. У обеих девочек была выявлена гетерозиготная мутация p.C691R в гене *MAR3K1*. Данная мутация не была прежде описана. У матери пациенток молекулярно-генетическое исследование на данный момент не проведено. Однако учитывая наличие идентичной гетерозиготной мутации *MAR3K1* у единоутробных сестер, зачатых от разных отцов, можно сделать вывод, что данная миссенс мутация была унаследована от матери и, вероятно, послужила причиной НФП 46,XY.

#### Клинический случай №2

У пациента М. при рождении отмечалось неправильное строение наружных половых органов. При обследовании по месту жительства был определен кариотип 46,XY. В гормональном профиле в возрасте 8,5 мес отмечался незначительно повышенный уровень ФСГ (5,28 мМЕ/мл), низкие показатели тестостерона, ЛГ и 17-ОНП. При УЗИ яички лоцировались в мошонке (справа 0,75×0,52 см, слева 0,87×0,59 см). При КТ малого таза предстательная железа и семенные пузырьки не визуализировались.

Ребенок впервые был обследован в ФГБУ ЭНЦ в возрасте 11 мес. При осмотре обращало на себя внимание неправильное строение наружных гениталий [яички пальпировались в расщепленной мошонке, искривленный половой член длиной около 3 см, кавернозные тела плотные, головка полового члена сформирована, по дорсальной поверхности — рассекающая борозда полового члена; узкий уrogenитальный синус, открывающийся на мошонке (мошоночная форма гипоспадии); половой член за счет искривления утоплен в мошонке]. Отмечались: незначительное повышение уровня ФСГ [3,8 Ед/л (0—2)], низкие показатели тестостерона [(0,17 нмоль/л



Семейный анамнез пациенток с нарушением формирования пола 46,XY.

(0,3–0,6)], ЛГ [0,2 Ед/л (0–1,5) и антимюллерова гормона [12,8 нг/мл (63–132)]. При мультистероидном анализе крови данных за нарушение стероидогенеза не получено. При пробе с хорионическим гонадотропином (4 инъекции по 1000 МЕ) отмечалось повышение уровня тестостерона до 5,7 нмоль/л, что свидетельствовало о нормальном функционировании клеток Лейдига. Ребенку был установлен диагноз: НФП 46,XY, в дальнейшем были проведены пластические операции по устранению искривления полового члена и гипоспадии. При молекулярно-генетическом исследовании (панель генов «нарушение формирования пола») выявлена гетерозиготная мутация с.28582872delСААСААСААСААСАА р.944 948del в гене *MAP3K1*. Данная мутация также не была ранее описана. Планируется проведение молекулярно-генетического исследования гена *MAP3K1* с целью поиска аналогичной делеции.

## Обсуждение

МАРК активируются посредством эволюционно консервативного трехкомпонентного сигнального каскада, состоящего из митоген-активированной протеинкиназы киназы киназы-1 (*MAP3K1*), *MAP2K* и *MAPK* [3]. МАРК-сигнальные пути являются ключевыми путями регуляции клеточной пролиферации и дифференцировки [6, 7]. Нарушения в регуляции МАРК-каскада способствуют развитию ряда онкологических заболеваний [8]. Относительно недавно была выявлена ассоциация *MAP3K1* с нарушением формирования пола 46,XY, однако роль МАРК-сигнального пути в развитии данной патологии у людей до сих пор не изучена. Экспрессия *MAP3K1* наблюдается в эмбриональной гонаде мышей на 11-й день после зачатия, что соответствует стадии формирования гонад, а также на 13-й день после зачатия в канальцах яичек [4]. Роль МАРК-

пути в определении пола у млекопитающих была определена посредством идентификации мутаций гена *MAP3K4* у мышей, у которых инверсия пола предположительно связана с неспособностью активировать экспрессию гена *SRY* [9, 10]. Показано, что при отсутствии двух изоформ митоген-активированной протеинкиназы киназы киназы-1 (p38a и p38b) формируется инверсия пола XY, которая также обусловлена нарушениями на уровне экспрессии *SRY* [11]. Таким образом, имеющиеся в литературе данные свидетельствуют об участии МАРК-пути в инициации соответствующей экспрессии *SRY* при формировании мужского гонадного пола у млекопитающих. У людей взаимосвязь между мутациями в гене *MAP3K1* и нарушением формирования пола 46,XY была впервые прослежена при анализе сцепления генов на длинном плече 5 хромосомы у пациентов с НФП из двух семейств и в 11 спорадических случаях [4]. Было идентифицировано 6 мутаций в гене *MAP3K1* и проведен их функциональный анализ. Клинические проявления в описанных случаях были различны, начиная от полностью женского фенотипа без вирилизации наружных гениталий до мужчин с микропенисом и/или с гипоспадией. Различный фенотип при одной и той же мутации отмечался и среди пациентов в пределах одной семьи. В другом исследовании у 4 пациентов с НФП 46,XY, преимущественно с мужским фенотипом и разной степенью нарушения развития наружных гениталий, были также выявлены мутации в гене *MAP3K1* [5]. При сопоставлении генотипа и фенотипа при одной из идентифицированных миссенс-мутаций было установлено, что у всех пациентов с этой мутацией отмечался мужской фенотип с гипоспадией. Данная миссенс-мутация также ассоциирована с бронхиальной астмой [12]; аномалии развития наружных гениталий ранее не были описаны. Таким образом, ее значимость остается неизвестной.

Интересно, что у нокаутных по *MAP3K1* мышей не наблюдается реверсии пола [13, 14]. Эти животные остаются жизнеспособными с сохраненной репродуктивной функцией, но со сниженным количеством клеток Лейдига и увеличенной длиной эмбриональных гонад. Поэтому авторы предположили, что *MAP3K1* не играет существенной роли при формировании тестикулов у мышей. Это может свидетельствовать о том, что сигнальные пути MAP-киназы у человека и мыши не идентичны [3]. На сегодняшний день роль *MAP3K1* в определении пола у людей остается малоизученной. Фенотип полной дисгенезии гонад 46,XY аналогичен фенотипу при мутациях в гене *SRY*, т.е. мутации *MAP3K1* могли бы влиять на ранние стадии формирования яичек.

У наших пациентов с НФП 46,XY при молекулярно-генетическом исследовании на панели, которая включала 45 генов, ассоциированных с различными формами нарушения формирования пола, мутации были найдены только в гене *MAP3K1*. В описанных нами случаях у пациентов с идентифицированными мутациями в гене *MAP3K1* отмечалась различная клиническая картина НФП 46,XY, характеризующаяся разной степенью дифференцировки гонад и формирования наружных гениталий. В первой представленной нами семье предполагается наследование гетерозиготной мутации от матери, что характерно для семей с НФП 46,XY вследствие мутаций гена *MAP3K1* [4]. Выявленные гетерозиготные мутации прежде в литературе не были описаны. С целью подтверждения их патологической значи-

мости планируется проведение молекулярно-генетического исследования родителям пациентов.

## Заключение

Причиной нарушения формирования пола 46,XY может служить патология целого ряда генов, вовлеченных в процесс дифференцировки гонад. Участие гена *MAP3K1* и MAP-киназного сигнального пути в развитии НФП было установлено относительно недавно и в настоящее время недостаточно изучено. Клинические проявления у пациентов с 46,XY НФП, предположительно обусловленных мутациями в гене *MAP3K1*, отличаются выраженной гетерогенностью. Данных о значимой корреляции генотипических и фенотипических особенностей в литературе нет. Учитывая вероятность вовлечения *MAP3K1* и MAPK-сигнального пути в процесс нормального развития яичек, необходимо дальнейшее изучение патологической значимости мутаций данного гена в развитии различной клинической картины НФП 46,XY.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источники финансирования.** Молекулярно-генетическое исследование на панель генов «нарушение формирования пола» выполнено при содействии Фонда поддержки и развития филантропии «КАФ». Авторы декларируют отсутствие иных явных и потенциальных конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить.

**Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.** Получены письменные информированные согласия пациентов на публикацию представленных медицинских данных в этом журнале.

## ЛИТЕРАТУРА | REFERENCES

- Hughes IA, Houk C, Ahmed Sf, et al. Consensus statement on management of intersex disorders. *Arch Dis Child*. 2006;91(7):554-563. doi: 10.1136/Adc.2006.098319
- Jost A, Vigier B, Prepin J, Perchellet Jp. Studies on sex differentiation in mammals. *Recent Prog Horm Res*. 1973;29:1-41.
- Bashamboo A, Mcelreavey K. Human sex-determination and disorders of sex-development (DSD). *Semin Cell Dev Biol*. 2015;45:77-83. doi: 10.1016/J.Semcdbl.2015.10.030
- Pearlman A, Loke J, Le Caignec C, et al. Mutations in Map3k1 cause 46,XY disorders of sex development and implicate a common signal transduction pathway in human testis determination. *Am J Hum Genet*. 2010;87(6):898-904. doi: 10.1016/J.Ajhg.2010.11.003
- Das DK, Rahate SG, Mehta BP, et al. Mutation analysis of mitogen activated protein kinase 1 gene in Indian cases of 46,XY disorder of sex development. *Indian J Hum Genet*. 2013;19(4):437-442. doi: 10.4103/0971-6866.124372
- Karandikar M, Xu S, Cobb Mh. MEKK1 binds raf-1 and the ERK2 cascade components. *J Biol Chem*. 2000;275(51):40120-40127. doi: 10.1074/Jbc.M005926200
- Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, et al. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr Rev*. 2001;22(2):153-183. doi: 10.1210/Edrv.22.2.0428
- Roberts PJ, Der CJ. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene*. 2007;26(22):3291-3310. doi: 10.1038/Sj.Onc.1210422
- Bogani D, Siggers P, Brixey R, et al. Loss of mitogen-activated protein kinase 4 (MAP3K4) reveals a requirement for MAPK signalling in mouse sex determination. *Plos Biol*. 2009;7(9):E1000196. doi: 10.1371/Journal.Pbio.1000196
- Gierl MS, Gruhn WH, Von Seggern A, et al. GADD45G functions in male sex determination by promoting p38 signaling and Sry expression. *Dev Cell*. 2012;23(5):1032-1042. doi: 10.1016/J.Devcel.2012.09.014
- Warr N, Carre GA, Siggers P, et al. GADD45gamma and Map3k4 interactions regulate mouse testis determination via p38 MAPK-mediated control of Sry Expression. *Dev Cell*. 2012;23(5):1020-1031. doi: 10.1016/J.Devcel.2012.09.016
- Szczepankiewicz A, Sobkowiak P, Rachel M, et al. Multilocus analysis of candidate genes involved in neurogenic inflammation in pediatric asthma and related phenotypes: a case-control study. *J Asthma*. 2012;49(4):329-335. doi: 10.3109/02770903.2012.669442
- Warr N, Bogani D, Siggers P, et al. Minor abnormalities of testis development in mice lacking the gene encoding the MAPK signalling component, MAP3K1K1. *Plos One*. 2011;6(5):E19572. doi: 10.1371/Journal.Pone.0019572
- Charlaftis N, Suddason T, Wu X, et al. The MEKK1 PHD ubiquitinates TAB1 to activate MAPKs in response to cytokines. *Embo J*. 2014;33(21):2581-2596. doi: 10.15252/Embj.201488351

**ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ**

\***Копылова Ирина Владимировна** — к.м.н. [Irina V. Kopylova, MD, PhD]; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, Moscow, 117036, Russia]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9695-0806>; eLibrary SPIN: 7498-0581; e-mail: [iv\\_kopylova@mail.ru](mailto:iv_kopylova@mail.ru)

**Кузнецова Елена Станиславовна** [Elena S. Kuznetsova, MD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1218-0742>; eLibrary SPIN: 5895-8730; e-mail: [staykova.elena@gmail.com](mailto:staykova.elena@gmail.com)

**Чугунов Игорь Сергеевич** — к.м.н. [Igor S. Chugunov, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4915-1267>; eLibrary SPIN: 1514-5005; e-mail: [chugunovigor@gmail.com](mailto:chugunovigor@gmail.com)

**Орлова Елизавета Михайловна** — к.м.н. [Elizaveta M. Orlova, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1872-1792>; eLibrary SPIN: 5221-4235; e-mail: [elizaveta.orlova@mail.ru](mailto:elizaveta.orlova@mail.ru)

**Даниленко Олег Сергеевич** — к.м.н. [Oleg S. Danilenko, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5656-1382>; eLibrary SPIN: 7670-7149; e-mail: [oleg.danilenko@yandex.ru](mailto:oleg.danilenko@yandex.ru)

**Бровин Дмитрий Николаевич** — к.м.н. [Dmitry N. Brovin, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3734-6510>; eLibrary SPIN: 2518-9054; e-mail: [brovin-dn@yandex.ru](mailto:brovin-dn@yandex.ru)

**Карева Мария Андреевна** — к.м.н. [Maria A. Kareva, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1320-6561>; AuthorID: 127523; e-mail: [i\\_magusya@mail.ru](mailto:i_magusya@mail.ru)

**Петеркова Валентина Александровна** — акад. РАН [Valentina A. Peterkova, MD, PhD, Professor]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5507-4627>; AuthorID: 127520; e-mail: [peterkova@hotmail.com](mailto:peterkova@hotmail.com)

**ИНФОРМАЦИЯ**

Рукопись получена: 16.03.17. Одобрена к публикации: 22.03.17.

**КАК ЦИТИРОВАТЬ:**

Копылова И.В., Кузнецова Е.С., Чугунов И.С., Орлова Е.М., Даниленко О.С., Бровин Д.Н., Карева М.А., Петеркова В.А. Нарушение формирования пола 46,XY, ассоциированное с мутациями в гене *MAP3K1*. Описание клинических случаев // *Проблемы эндокринологии*. — 2018. — Т. 64. — №1. — С. 45—49. doi: 10.14341/probl8596

**TO CITE THIS ARTICLE**

Kopylova IV, Kuznetsova ES, Chugunov IS, Orlova EM, Danilenko OS, Brovin DN, Kareva MA, Peterkova VA. Disorder of sex development 46,XY associated with mutations in the gene *MAP3K1*. The report of clinical cases. *Problems of Endocrinology*. 2018;64(1):45-49. doi: 10.14341/probl8596