

Случай поздней диагностики синдрома персистирующих мюллеровых протоков I типа

© Н.Ю. Калинин^{1*}, Д.Н. Бровин¹, И.Б. Кострова², В.М. Петров¹, Е.П. Васильев¹, А.Н. Тюльпак¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва, Россия; ²ГБУ «Детская республиканская клиническая больница им. Н.М. Кураева», Махачкала, Россия

Синдром персистирующих мюллеровых протоков — один из редких вариантов нарушения формирования пола (НФП), характеризующийся наличием у лиц мужского пола с кариотипом 46,XY дериватов мюллеровых протоков (ДМП). Так как единственным внешним проявлением синдрома персистирующих мюллеровых протоков (СПМП) является крипторхизм, до недавнего времени диагноз СПМП у пациентов оставался неустановленным, а обнаружение ДМП во время оперативного лечения крипторхизма при кариотипе 46,XY расценивалось как вариант дисгенезии гонад, что приводило к ошибочной тактике ведения пациентов. Лишь с появлением методов молекулярной диагностики, в частности — секвенирования нового поколения, позволяющего одновременно исследовать несколько генов-кандидатов, появилась возможность точной дифференциальной диагностики СПМП. В данной статье описан клинический случай поздней диагностики семейной формы СПМП, обусловленной мутацией в гене *AMH*. Обнаружение персистирующих ДМП в сочетании с агенезией тестикула у пробанда в раннем возрасте привело к установлению диагноза дисгенезия гонад. Учитывая высокий риск малигнизации дисгенетичных гонад, расположенных вне мошонки, пациенту было произведено удаление единственной гонады, расположенной в паховом канале. Установить верный диагноз удалось после проведения комплексного молекулярно-генетического исследования методом секвенирования нового поколения с использованием панели Нарушение формирования пола. При исследовании выявлена гомозиготная мутация в гене *AMH*.

Ключевые слова: нарушения формирования пола, клинический случай, синдром персистирующих мюллеровых протоков, крипторхизм, дериваты мюллеровых протоков, секвенирование нового поколения, панель Нарушение формирования пола.

Familial case of late diagnosis of Persistence of Müllerian derivatives syndrome type 1

© Natalia Yu. Kalinchenko^{1*}, Dmitry N. Brovin¹, Irina B. Kostrova², Vitaly M. Petrov¹, Evgeny P. Vasiliev¹, Anatoly N. Tiulpakov¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia; ²Children's Republic hospital, Machachkala, Russia

Persistent müllerian duct syndrome (PMDS) is a rare variant of the disorder of sex development (DSD) 46,XY characterized by the presence of Müllerian duct derivatives in 46,XY males. Since cryptorchidism is the only external manifestation of PMDS, until recently, PMDS was not diagnosed in patients and detection of Müllerian duct derivatives during the surgical treatment of cryptorchidism in patients with 46,XY karyotype was regarded as a variant of gonadal dysgenesis, leading to an erroneous choice of treatment strategy in these patients. Only the development of the molecular diagnostics methods, in particular, new generation sequencing, which enable simultaneous investigation of several candidate genes, provided accurate differential diagnosis of the PMDS. This article reports a clinical case of late diagnosis of the familial form of PMDS caused by mutation in the *AMH* gene. Detected persistent Müllerian derivatives in combination with agenesis of the testicle in the proband at an early age led to the diagnosis gonadal dysgenesis. Given the proven high risk of malignization of the gonads located outside the scrotum in patients with gonadal dysgenesis, the patient underwent removal of the only gonad located in the inguinal canal. The correct diagnosis was established after a comprehensive molecular genetic study using a new generation sequencing with the «disorders of sex development» panel. This study detected a homozygous mutation in the *AMH* gene.

Keywords: disorder of sex development, case report of the persistent müllerian duct syndrome, cryptorchidism, Müllerian duct derivatives, new generation sequencing, «disorders of sex development» panel.

Нарушения формирования пола (НФП), связанные с дефектом биосинтеза или действия антимюллерового гормона (АМГ), относятся к редким вариантам НФП, которые характеризуются наличием у лиц мужского пола с кариотипом 46,XY дериватов мюллеровых протоков (ДМП): матки, маточных труб и влагалищного отростка уrogenитального синуса [1].

В мужском организме одной из основных биологических функций АМГ является инициация регрессии мюллеровых протоков в период внутриутробного развития плода. Поскольку развитие наружных половых органов и дериватов вольфовых протоков происходит под влиянием тестостерона, продукция которого у лиц мужского пола с дефици-

том АМГ или нарушением его действия не нарушена, в таких случаях ДМП сохраняются на фоне правильно сформированных по мужскому типу наружных половых органах, поэтому сомнений в выборе мужского паспортного пола при рождении не возникает. Единственным клиническим проявлением синдрома персистирующих мюллеровых протоков (СПМП) может быть наличие двустороннего (реже одностороннего) крипторхизма. Однако ввиду высокой распространенности крипторхизма среди новорожденных мальчиков без видимых других патологических нарушений (1:300–600) [2], СПМП нередко остается недиагностированным. ДМП обнаруживаются случайно во время хирургического вме-

шатательства по поводу крипторхизма [3—8]. Таким образом, истинная частота СПМП остается неизвестной. Между тем правильность и своевременность выявления данного состояния могут влиять на выбор тактики хирургического ведения таких пациентов, объем вмешательства и необходимость медико-генетического консультирования в семье.

СПМП является аутосомно-рецессивным заболеванием, обусловленным дефектами гена *AMH*, следствием чего является дефицит АМГ (СПМП тип I), или мутациями в гене рецептора АМГ (*AMHR2*), следствием чего является резистентность к АМГ (СПМП тип II) [1, 9].

До появления методов молекулярной диагностики, позволяющих точно установить правильный диагноз, обнаружение ДМП в детском возрасте у пациентов с крипторхизмом нередко приводило к ошибочной диагностике других форм НФП и соответственно неправильной тактике ведения.

Описание случая

Пробанда — мальчик, рожденный в близкородственном браке (родители двоюродные брат и сестра). При рождении на основании двустороннего отсутствия яичек в мошонке при правильном мужском строении наружных половых органов установлен диагноз «двусторонний крипторхизм». В возрасте 5 лет проведена ревизия пахового канала слева — яичко не обнаружено. В возрасте 6 лет при УЗИ малого таза визуализировалась простата 17×12×16 мм, матка 29×7×12 мм в виде тяжа; справа от мочевого пузыря — однородное овальное образование 18×13×19 мм, по экоструктуре напоминающее яичко.

При ревизии пахового канала справа и брюшной полости обнаружен семенной канатик, слепо заканчивающийся у входа в мошонку округлым влажным отростком, в брюшной полости обнаружена недоразвитая матка с маточной трубой и широкой связкой справа. В возрасте 9 лет впервые обследован в ФГБУ ЭНЦ: кариотип 46,XY, обнаружен ген *SRY*, уровень ЛГ и ФСГ соответствовал допубертатным значениям, при УЗИ гонады в паховых каналах и брюшной полости не визуализировались. Однако при проведении теста с хорионическим гонадотропином был получен удовлетворительный подъем тестостерона до 4,5 нмоль/л, что свидетельствовало в пользу наличия тестикулярной ткани, расположенной, вероятнее всего, в брюшной полости. В связи с этим пациент направлен на повторную диагностическую лапароскопию с направительным диагнозом «дисгенезия гонад», установленным на основании отсутствия яичка слева (подтвержденного диагностической лапароскопией), возможной брюшной формой крипторхизма справа и наличия ДМП. При ревизии брюшной полости произведено удаление маточной трубы и недифференцированной гонады

справа. В возрасте 13 лет пациент повторно поступил в ФГБУ ЭНЦ. Учитывая предположительный диагноз НФП 46,XY, дисгенезию гонад, пациенту было проведено комплексное молекулярно-генетическое исследование методом секвенирования нового поколения с использованием панели Нарушение формирования пола. В гене *AMH* выявлена гомозиготная мутация: замена гуанина на аденин в акцепторном сайте сплайсинга интрона 3 (с.665-1G>A, референсный транскрипт — NM_000479). Данная мутация ранее не описана. Родители пациента оказались гетерозиготными носителями этой мутации. У пробанда есть старший брат, у которого также с рождения установлен двусторонний крипторхизм; в возрасте 1,5 года и 5 лет проведено хирургическое низведение обоих яичек, однако в течение 5 лет 2 раза фиксировались рецидивы крипторхизма, приведшие к повторным хирургическим вмешательствам. В возрасте 20 лет брат пробанда обратился в нашу клинику с жалобами на снижение либидо, бесплодие в браке. При обследовании выявлено значительное повышение уровня гонадотропинов [ЛГ — 21,6 мМЕ/мл (норма 2,5—10 мМЕ/мл), ФСГ — 59 мМЕ/мл (1,4—8,0 мМЕ/мл)], при сниженном уровне тестостерона [7,6 нмоль/л (12—33 нмоль/л)], на основании чего диагностирован гипергонадотропный гипогонадизм. Учитывая анамнез (двусторонний крипторхизм) и подтвержденный диагноз СПМП у пробанда, брату было проведено УЗИ малого таза: выявлены персистирующие ДМП (матка, маточные трубы). Для подтверждения семейной формы СПМП старшему брату также было проведено секвенирование гена *AMH* и выявлена аналогичная мутация.

Обсуждение

АМГ, или ингибитор мюллеровых протоков, — гомодимерный гликопротеин, принадлежащий к группе трансформирующих ростовых факторов β (TGF- β). Ген *AMH* картирован на участке короткого плеча 19 хромосомы (19p13.3), состоит из 5 экзонов и кодирует белок, состоящий из 560 аминокислот. Изначально АМГ синтезируется в виде прогормона и подвергается последующему расщеплению до N-концевого продомена и активной COOH-молекулы размером 25 кДа.

В мужском организме незрелые клетки Сертоли являются основным источником синтеза АМГ. Внутриутробно экспрессия АМГ начинается примерно с конца 7-й недели после связывания транскрипционного фактора SOX9 с промотером *AMH*. Затем, под влиянием других транскрипционных факторов — SF1, GATA4, WT1 [10, 11], его продукция усиливается. В настоящее время считается, что АМГ приводит к регрессии дериватов мюллеровых протоков, вызывая апоптоз клеток, экспрессирующих

рецептор АМГ (AMHR). В постнатальном и препубертатном периодах продукция АМГ сохраняется на достаточно высоком уровне, тогда как с наступлением пубертата, повышением уровня тестостерона и созреванием клеток Сертоли, его синтез резко снижается. Высокая продукция АМГ незрелыми клетками Сертоли позволяет использовать АМГ как специфический маркер их функционального состояния в допубертатном периоде.

Наиболее частой причиной нарушения продукции АМГ у плода с кариотипом 46,XY является дисгенезия гонад, при которой нарушается функция как клеток Сертоли, так и клеток Лейдига, синтезирующих тестостерон, что приводит к сочетанию персистенции ДМП с нарушением строения половых органов, обусловленного внутриутробным дефицитом тестостерона. Поэтому одним из критериев дифференциальной диагностики дисгенезии гонад при кариотипе 46,XY является наличие или отсутствие ДМП.

Именно обнаружение ДМП в сочетании с агенезией левого яичка (подтвержденного лапароскопически) привело к ошибочной диагностике дисгенезии гонад в вышеописанной семье.

Впервые СПМП был описан в 1927 г. V. Seemen [12], обнаружившим ДМП во время оперативного лечения ребенка с крипторхизмом. К настоящему времени в литературе описано более 400 случаев СПМП, основным внешним клиническим проявлением которого являлся крипторхизм с разной степенью локализации. Наличие крипторхизма обусловлено тесной анатомической связью яичка с ДМП, поэтому степень миграции яичка и его локализация определяются подвижностью мюллеровых структур. Чаще всего яички остаются в брюшной полости (брюшная форма крипторхизма), но нередко недоразвитая широкая связка, не прикрепленная к брюшной стенке [13], «низводит» ДМП вместе с яичком в мошонку, приводя к возникновению грыжи (при СПМП до 30% случаев). Таким образом, клиническая картина крипторхизма при СПМП может варьировать от односторонней паховой формы до двусторонней брюшной формы.

В середине 80-х годов с появлением методов определения уровня АМГ в плазме было установлено, что у части пациентов с СПМП уровень АМГ значительно снижен, тогда как у других его уровень находится в пределах нормальных значений. На основании чего СПМП разделили на две группы: АМГ-позитивный и АМГ-негативный.

С развитием молекулярно-генетических технологий появилась возможность установить и патогенетическую основу СПМП. В 1991 г. В. Knebelmann и соавт. [1] впервые описали нонсенс-мутацию в экзоне 5 гена *AMH* среди нескольких членов морокканской семьи с СПМП и сниженным уровнем АМГ, установив таким образом причину возникновения

АМГ-негативных форм. К настоящему времени описано более 150 семей с мутациями в гене АМГ, расположенных в различных участках кодирующей области гена. Так называемых «горячих точек» для мутаций, приводящих к возникновению СПМП, в гене *AMH* обнаружено не было.

В 1994 г. был клонирован ген рецептора АМГ II типа (*AMHR2*) [14]. Белок АМГ, как и другие члены семейства TGF- β , использует для передачи сигнала два рецептора. Изначально АМГ формирует комплекс с рецептором АМГ II типа, который в свою очередь активирует рецептор АМГ I типа, отвечающий за фосфорилирование внутриклеточных белков.

Первая мутация в гене *AMHR2* была описана S. Imbeaud и соавт. в 1995 г. [9]. К настоящему времени описано более 150 семей с мутациями в этом гене. Несмотря на выявление мутаций на протяжении всей кодирующей области гена *AMHR2*, обнаружено 2 наиболее часто встречающиеся мутации с разной популяционной распространенностью, что обусловлено эффектом основателя. Так, среди пациентов северной Европы наиболее частой является делеция 27 bp (от 6331 до 6357 нуклеотида) в экзоне 10, составляя до 65% всех причин СПМП II типа. Данная мутация в гомозиготном состоянии была описана и в России [15]. Другая частая мутация, R407X в экзоне 9, чаще встречается среди пациентов Средиземноморья и стран Ближнего Востока.

Мутации в генах *AMH* или *AMHR2* с одинаковой частотой приводят к возникновению СПМП, однако примерно в 10–12% случаев этого синдрома мутации в данных генах не выявляются.

Заключение

Несмотря на наличие методов точной диагностики СПМП, поиск мутаций в генах *AMH* и *AMHR2* у всех пациентов с крипторхизмом, учитывая высокую распространенность последнего (0,1–0,2% к 1-му году жизни), рекомендовать нецелесообразно. Между тем при наличии таких сопутствующих факторов, как отягощенный анамнез по крипторхизму в семье, отсутствие яичек с двух сторон, особенно брюшные формы крипторхизма, обследование должно быть максимально расширено и включать кариотипирование, УЗИ малого таза, органов мошонки и паховых каналов, определение уровня АМГ, ингибина В, ЛГ, ФСГ и тестостерона в период минипубертата, либо (в более старшем возрасте) определение тестостерона на пробе с хорионическим гонадотропином и лапароскопию. При подозрении на СПМП обязательно проведение молекулярно-генетического исследования генов *AMH* и *AMHR2* до операции. Данный алгоритм обследования позволит своевременно установить диагноз и соответственно выбрать правильную тактику ведения пациента.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Молекулярно-генетическое исследование проводилось в рамках программы «Альфа-Эндо» при финансовой поддержке «Альфа-Групп» и фонда «КАФ».

Согласие пациента. Законные представители (родители) пациента добровольно подписали информированное согласие на

публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА | REFERENCES

1. Knebelmann B, Boussin L, Guerrier D, et al. Anti-mullerian hormone Bruxelles: a nonsense mutation associated with the persistent mullerian duct syndrome. *PNAS*. 1991;88(9):3767-3771. doi: 10.1073/pnas.88.9.3767
2. Barthold JS, Gonzalez R. The epidemiology of congenital cryptorchidism, testicular ascent and orchiopexy. *J Urol*. 2003;170 (6 Pt 1):2396-2401. doi: 10.1097/01.ju.0000095793.04232.d8
3. Brandli DW, Akbal C, Eugsster E, et al. Persistent mullerian duct syndrome with bilateral abdominal testis: surgical approach and review of the literature. *J Pediatr Urol*. 2005;1(6):423-427. doi: 10.1016/j.jpuro.2005.03.011
4. Naouar S, Maazoun K, Sahnoun L, et al. Transverse testicular ectopia: a three-case report and review of the literature. *Urology*. 2008;71(6):1070-1073. doi: 10.1016/j.urology.2007.11.133
5. Wuerstle M, Lesser T, Hurwitz R, et al. Persistent mullerian duct syndrome and transverse testicular ectopia: embryology, presentation, and management. *J Pediatr Surg*. 2007;42(12):2116-2119. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2007.09.003
6. Zhapa E, Castagnetti M, Alaggio R, et al. Testicular fusion in a patient with transverse testicular ectopia and persistent mullerian duct syndrome. *Urology*. 2010;76(1):62-64. doi: 10.1016/j.urology.2009.10.032
7. Yu TJ. The character of variant persistent mullerian-duct structures. *Pediatr Surg Int*. 2002;18(5-6):455-458. doi: 10.1007/s00383-002-0718-2
8. Marcus KA, Halbertsma FJ, Picard JY, Otten BJ. A visual pitfall: persistent mullerian duct syndrome (PMDS). *Acta Paediatr*. 2008;97(1):129-132. doi: 10.1111/j.1651-2227.2007.00573.x
9. Imbeaud S, Faure E, Lamarre I, et al. Insensitivity to anti-mullerian hormone due to a mutation in the human anti-mullerian hormone receptor. *Nat Genet*. 1995;11(4):382-388. doi: 10.1038/ng1295-382
10. De Santa Barbara P, Bonneaud N, Boizet B, et al. Direct interaction of SRY-related protein SOX9 and steroidogenic factor 1 regulates transcription of the human anti-mullerian hormone gene. *Mol Cell Biol*. 1998;18(11):6653-6665. doi: 10.1128/MCB.18.11.6653
11. Arango NA, Lovell-Badge R, Behringer RR. Targeted mutagenesis of the endogenous mouse mis gene promoter. *Cell*. 1999;99(4):409-419. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81527-5
12. Von Seemen H. Pseudohermaphroditismus masculinus internus-kryptochismus-Hernia inguinalis congenita. *Brunsv' Beitr Klin Chir*. 1927;141:370-379.
13. Miller A, Hong MKH, Hutson JM. The broad ligament: a review of its anatomy and development in different species and hormonal environments. *Clin Anat*. 2004;17(3):244-251. doi: 10.1002/ca.10173
14. di Clemente N, Wilson C, Faure E, et al. Cloning, expression, and alternative splicing of the receptor for anti-müllerian hormone. *Mol Endocrinol*. 1994;8(8):1006-1020. doi: 10.1210/mend.8.8.7997230
15. Меновщикова Л.Б., Калинин Н.Ю., Тюльпаков А.Н., и др. Синдром персистенции мюллеровых протоков у мальчика с синдромом непальпируемых яичек с двух сторон // *Детская хирургия*. — 2016. — Т. 20. — №5. — С. 274—276. [Menovshchikova LB, Kalinchenko NY, Tyulpakov AN, et al. Persistent mullerian duct syndrome in a boy with bilateral non-palpable testes. *Pediatric surgery*. 2016;20(5):274-276. (In Russ.)]. doi: 10.18821/1560-9510-2016-20-5-274-276

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

*Калинченко Наталья Юрьевна — к.м.н. [Natalia Yu. Kalinchenko, MD, PhD]; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, Moscow, 117036, Russia]; тел.: 8(499)668-2079; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2000-7694>; eLibrary SPIN: 6727-9653; e-mail: kalinnat@rambler.ru

Кострова Ирина Борисовна [Irina B. Kostrova]; eLibrary SPIN: 9224-7047; e-mail: ira-kostrova@mail.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: d.brovin@mail.ru

Васильев Евгений Витальевич — к.б.н. [Evgeny V. Vasiliev, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1107-362X>; eLibrary SPIN: 5767-1569; e-mail: vas-evg@yandex.ru

Петров Василий Михайлович — к.х.н. [Vasily M. Petrov, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0520-9132>; eLibrary SPIN: 4358-2147; e-mail: petrov.vasily@gmail.com

Тюльпаков Анатолий Николаевич — д.м.н. [Anatoly N. Tiulpakov MD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8500-4841>; eLibrary SPIN: 8396-1798; e-mail: anatolytyulpakov@gmail.com

ИНФОРМАЦИЯ

Рукопись получена: 08.06.17. Одобрена к публикации: 21.07.17.

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Калинченко Н.Ю., Бровин Д.Н., Кострова И.Б., Петров В.М., Васильев Е.П., Тюльпаков А.Н. Случай поздней диагностики синдрома персистирующих мюллеровых протоков I типа // *Проблемы эндокринологии*. — 2018. — Т. 64. — №1. — С. 50—53. doi: 10.14341/probl8760

TO CITE THIS ARTICLE

Kalinchenko NYu, Brovin DN, Kostrova IB, Petrov VM, Vasiliev EP, Tiulpakov AN. Familial case of late diagnosis of Persistence of Müllerian derivatives syndrome type I. *Problems of Endocrinology*. 2018;64(1):50-53. doi: 10.14341/probl8760