

ДИСГЕНЕЗИЯ ГОНАД 46,XY, АССОЦИИРОВАННАЯ С ВАРИАНТАМИ В ГЕНЕ *MAP3K1*



© Н.Ю. Калинин*, А.Н. Тюльпаков

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

Нарушения формирования пола (НФП) — гетерогенная группа заболеваний, ассоциированных с несоответствием фенотипического, гонадного и хромосомного пола. До настоящего времени этиология НФП устанавливалась менее чем в 50% случаев. С развитием современных методов молекулярно-генетической диагностики в последнее десятилетие открыт целый ряд новых регуляторов дифференцировки гонад, нарушения экспрессии которых могут приводить к НФП. Среди таких факторов — митоген-активируемая тройная протеинкиназа 1 (*MAP3K1*). Отличительной особенностью изучения значимости выявляемых вариантов в гене *MAP3K1* в развитии НФП является то, что такие изменения нуклеотидной последовательности приводят к активации *MAP3K1*, что затрудняет использование общепринятых алгоритмов оценки патогенности. При этом, по оценке различных авторов, частота встречаемости изменений в *MAP3K1* составляет от 10 до 18% всех случаев НФП, что подчеркивает важность изучения каждого случая, установления взаимосвязи заболевания с выявленными генетическими нарушениями. В статье мы приводим клиническое, гормональное и молекулярно-генетическое описание 7 случаев НФП, ассоциированных с заменами в *MAP3K1*, анализ значимости полученных данных, а также краткий анализ современной научной литературы по данному вопросу.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нарушение формирования пола; дисгенезия гонад, 46,XY НФП; варианты замены в *MAP3K1*.

GONADAL DYSGENESIS 46,XY DSD ASSOCIATED WITH VARIANTS IN THE *MAP3K1* GENE

© Natalia Y. Kalinchenko*, Anatoly N. Tiulpakov

Endocrinology Research Center, Moscow, Russia

Disorders of sex development (DSDs) are congenital conditions in which phenotype does not correspond to chromosomal and gonadal sex. To date, the etiology of DSD is established only in half of the cases. With the development of modern methods of molecular genetic diagnostics in the last decade, a number of new regulators of gonad differentiation have been discovered, whose expression disorders can lead to DSD. Among these factors, Mitogen-activated triple protein kinase 1 (*MAP3K1*). A distinctive feature of studying the detected variants in the *MAP3K1* gene that they lead to activation of *MAP3K1*. It does not allow using generally accepted pathogenicity assessment algorithms. However, the frequency of detection of changes in *MAP3K1* is up to 18% of all cases of DSD, according to literature, which emphasizes the importance of studying each identified case, establishing the relationship of the disease with the identified genetic disorders. In this article, we present a clinical, hormonal, and molecular genetic description of 7 cases of DSD associated with variants in *MAP3K1*, an analysis of the significance of our own data, and a short analysis of the current scientific literature on this issue.

KEYWORDS: Disorders of sex development; *MAP3K1*; gonadal dysgenesis, 46,XY DSD.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Нарушения формирования пола (НФП) — гетерогенная группа заболеваний, обусловленных несоответствием фенотипического, гонадного и хромосомного пола. Дифференцировка гонад по мужскому типу начинается ориентировочно с 6-й недели внутриутробного развития под влиянием ключевого регулятора детерминации гонады в яичко — белка SRY (Sex-determining Region Y, пол-детерминирующий регион Y), кодируемого одноименным геном, располагающимся на Y-хромосоме (локус Yp11.31) [1]. SRY активирует экспрессию *SOX9*, который, в свою очередь, инициирует экспрессию факторов транскрипции (ФТ) «яичкового» развития гонады и одновременно участвует в супрессии ФТ «яичникового» сигнального пути Wnt/ β -катенина [2]. Нарушения взаимодействия этих ФТ на любом из этапов дифференцировки могут приводить к неправильному развитию

гонад — дисгенезии гонад (ДГ). Длительное время считалось, что мутации в гене *SRY* являются ведущей причиной возникновения ДГ [3], но в последнее время открыт целый ряд новых регуляторов дифференцировки гонад и показано, что нарушения экспрессии некоторых из них могут являться не менее частой причиной развития ДГ, чем нарушения функции *SRY*. Среди таких регуляторов — митоген-активируемая тройная протеинкиназа 1 (*MAP3K1*) — звено эволюционно консервативного трехкомпонентного сигнального каскада фосфорилирования белков, регулирующих многие функции клеток, в том числе рост, дифференцировку и апоптоз [4]. По данным зарубежных авторов, частота встречаемости нуклеотидных изменений в гене *MAP3K1* среди пациентов с НФП 46,XY с ДГ составляет 15–18% [5, 6]. В отечественной литературе опубликована лишь одна статья с описанием трех случаев ДГ, обусловленных мутацией в гене *MAP3K1*, два из которых из одной семьи [7]. В настоящей работе

нами обобщены результаты анализа гена *MAP3K1* среди 310 пациентов с НФП 46,XY.

ОПИСАНИЕ СЛУЧАЯ

Материалы и методы

Пациентам проводилось комплексное обследование, включающее оценку строения наружных половых органов по Прадеру, ультразвуковое исследование малого таза, паховых каналов, органов мошонки, исследование гормонального статуса — уровней лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), тестостерона, эстрадиола (Э2). У части пациентов исследовался уровень антиюллера гормона (АМГ), проводилась проба с хорионическим гонадотропином (ХГ).

Молекулярно-генетический анализ проводился в лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови стандартным методом (набор Pure Link, Genomic DNA Mini Kit, Life Technologies, США). Для молекулярно-генетического анализа применялся метод секвенирования нового поколения — NGS (Next Generation Sequencing). Использовалась разработанная в отделении наследственных эндокринопатий ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России панель праймеров для мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) и секвенирования с применением технологии Ion Ampliseq™ Custom DNA Panel (Life Technologies, США). Панель праймеров «Нарушения формирования пола» охватывает кодирующие области следующих генов: *AKR1C2*, *AKR1C4*, *AMH*, *AMHR2*, *AR*, *ARX*, *ATRX*, *CBX2*, *CYB5A*, *CYP11A1*, *CYP17A1*, *DHCR7*, *DHH*, *EMX2*, *ESR2*, *FGD1*, *FGF9*, *FGFR2*, *FKBP4*, *FOXF2*, *FOXL2*, *HOXA13*, *HSD17B3*, *HSD3B2*, *ICK*, *LHCGR*, *LHX1*, *LHX9*, *MAMLD1*, *MAP3K1*, *MID1*, *NR0B1*, *NR5A1*, *POR*, *PTGDS*, *SOX9*, *SRD5A2*, *SRY*, *STAR*, *SUPT3H*, *TSPYL1*, *WNT4*, *WT1*, *ZFPM2*. Подготовка библиотек проводилась в соответствии с рекомендациями производителей. Секвенирование осуществлялось на полупроводниковом секвенаторе PGM (Ion Torrent, Thermo Scientific, США) или Illumina MiSeq (Illumina, США). Биоинформатическая обработка результатов секвенирования проводилась с помощью программных модулей Torrent Suite 4.2.1 (Ion Torrent, Life Technologies, США) или Genome Analysis ToolKit (GATK) ver. 4.1.2.0 (Broad Institute, Cambridge, MA, USA). Для анноти-

рования вариантов нуклеотидной последовательности использовался пакет программ ANNOVAR ver. 2018Apr16. После анализа полученных данных проводилось подтверждение полученных мутаций на секвенаторе Genetic Analyzer Model 3130 (Life Technologies, США). Оценка патогенности вариантов нуклеотидной последовательности проводилась согласно международным и российским рекомендациям [8, 9]. Нумерация кодирующей последовательности гена *MAP3K1* дана по референсу NM_005921 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование были включены 310 пациентов с НФП 46,XY. По результатам проведенных молекулярно-генетических исследований, гетерозиготные нуклеотидные замены в гене *MAP3K1* выявлены у 23 пациентов, что составило 7,4%. При анализе патогенности [8, 9] выявленные изменения оценены как вероятно доброкачественные (likely benign) у 13 из них, в связи с чем эти случаи были исключены. 10 пациентов, включая 3 случая, опубликованные ранее [7], имели изменения, классифицированные как варианты с неопределенной клинической значимостью (табл. 1), одна из вариантных замен (B3) описана ранее в ассоциации с ДГ [5].

Учитывая редкость данной патологии и ее клинический полиморфизм, нам представилось интересным описать особенности каждого случая.

У матерей всех пациентов беременность протекала без особенностей, ни в одном случае близкородственного брака зафиксировано не было. Стигм дисэмбриогенеза, сопутствующих значимых пороков развития других органов и систем ни у одного пациента не выявлено.

Пациент 1. Ч., фенотипическая девочка, впервые обратилась с жалобами на задержку полового развития, первичную аменорею в 16 лет. Семейный анамнез по НФП, бесплодию не отягощен. С 15 лет отмечено появление молочных желез до стадии по Таннеру В2–3, без дальнейшей прогрессии. При осмотре: наружные половые органы (НПО) сформированы по женскому типу, половое развитие по Таннеру: Р1, В2–3, в гормональном профиле ФСГ 83 Ед/л (3,5–12,5), ЛГ 20 Ед/л (2,2–10,8), тестостерон 1,2 нмоль/л (0,2–2,3), Э2 <37 пг/мл (27–122), по данным УЗИ малого таза — выраженная гипоплазия матки, в области расположения гонад с обеих сторон овальные, анэхогенные структуры до 2 см,

Таблица 1. Молекулярно-генетические характеристики выявленных мутаций в гене *MAP3K1* и анализ патогенности выявленных вариантных замен.

| Пациент (фамилия) | Изменение ДНК | Изменение белка | Патогенность |
|-------------------|---------------|-----------------|--------------------------|
| 1. Ч. | c.392C>A | p.P131Q | VUS (PM2, PP3, PP4) |
| 2. В. | c.1510G>A | p.E504K | VUS (PM2, PP3, PP4) |
| 3. Б. | c.2071T>C | p.C691R | VUS (PM2, PP3, PP5, PP4) |
| 4. Ф. | c.1120A>G | p.M374V | VUS (PM2, PP3, PP4) |
| 5. Б. | c.2039T>C | p.L680P | VUS (PM2, PP3, PP4) |
| 6. И. | c.3242T>A | p.M1081K | VUS (PM2, PP3, PP4) |
| 7. И. | c.623G>A | p.R208Q | VUS (PM2, PP3, PP4) |

Примечания. VUS — вариант с неопределенной клинической значимостью, в скобках указаны коэффициенты (PP, PM и др.) для расчета патогенности [8, 9].

с пристеночными включениями, при цветном доплеровском картировании (ЦДК) — без кровотока; при кариотипировании выявлен мужской кариотип 46,XY. На основании проведенного обследования установлен диагноз: НФП 46,XY, чистая дисгенезия гонад (чДГ). Учитывая высокий риск малигнизации гонад, проведена диагностическая лапароскопия: подтверждено наличие гипоплазированной матки, с двух сторон обнаружены дисгенетические гонады. При морфологическом исследовании операционного материала верифицирована двусторонняя гонадобластома с трансформацией в дисгерминому. Пациентке проведен курс противоопухолевой терапии (по согласованию с онкологом), по окончании которого назначена заместительная гормональная терапия половыми стероидами (ЗГТ). При проведении NGS в гене *MAP3K1* выявлена гетерозиготная ВЗ с.392С>А:р.Р131Q, ранее не описанная.

Пациент 2. В., фенотипическая девочка, впервые обследована в возрасте 14 лет в связи с отсутствием полового развития, первичной аменореей. При обследовании НПО сформированы по женскому типу, половое развитие по Таннеру 1, в гормональном профиле: ФСГ >100 Ед/л (3,5–12,5), ЛГ >40 Ед/л (2,2–10,8), Э2 <37 пг/мл (50–125), по данным УЗИ малого таза — матка в виде тяжа, в области гонад структуры без фолликулов, при кариотипировании выявлен мужской кариотип 46,XY, установлен диагноз НФП 46,XY, чДГ. При проведении лапароскопии обнаружены маточный тяж, гонады в виде соединительнотканых тяжей (стреки). При гистологическом исследовании удаленных стректов описаны фрагменты фиброзных тяжей, среди которых неравномерно располагались канальцы с элементами атрофии. В просвете канальцев — недифференцированные клетки. При проведении NGS в гене *MAP3K1* выявлена гетерозиготная ВЗ с.1510G>А:р.Е504К, ранее не описанная.

Пациент 3. Б., фенотипическая девочка, обратилась к эндокринологу впервые в 13 лет в связи с отсутствием полового развития, первичной аменореей. При обследовании: НПО сформированы по женскому типу, ФСГ 137 Ед/л (3,5–12,5), ЛГ 39 Ед/л (2,2–10,8), Э2 43 пг/мл (50–125), тестостерон 0,43 нмоль/л (0,2–2,4), по данным УЗИ малого таза — матка в виде тяжа, гонады не визуализировались. При кариотипировании — мужской кариотип 46,XY, что позволило установить диагноз НФП 46,XY, чДГ. При проведении лапароскопии обнаружены гипоплазированная матка, маточные трубы, гонады в виде соединительнотканых тяжей (стреки). По результатам гистологии — фрагменты фиброзных тяжей с наличием примордиальных фолликулов, расширенных полнокровных капилляров, участками скопления мелких канальцев с низкодифференцированными клетками эпителия, маточными трубами. При молекулярно-генетическом исследовании в гене *MAP3K1* выявлена гетерозиготная ВЗ р.С691R, описана ранее у пациентов с НФП 46,XY, ДГ [5, 7].

Пациент 4. Ф., при рождении мошоночная форма гипоспадии, левосторонний паховый крипторхизм, кариотип 46,XY, зарегистрирован в мужском паспортном поле (МПП). В 10 мес проведена орхипексия слева. При обследовании в 13 мес жизни: половой член уменьшен в размерах до 1–1,5 см, кавернозные тела развиты слабо, уретра открывается в виде узкого отверстия у основания полового члена (степень по Прадеру 4),

яички D=S 1–1,5 мл в мошонке, ЛГ 0,02 Ед/л (<0,27), ФСГ 0,32 Ед/л (<1,5), АМГ 75 нг/мл (>50), в ходе теста с ХГ отмечено повышение уровня тестостерона до 8,6 нмоль/л, при УЗИ малого таза: дериваты мюллеровых протоков (ДМП) не определялись. При молекулярно-генетическом исследовании в гене *MAP3K1* выявлена гетерозиготная ВЗ с.1120A>G:р.М374V. Проведен анализ гена у матери и у отца — аналогичной замены не выявлено.

Пациент 5. Б., при рождении нарушение строения НПО, зарегистрирована в женском паспортном поле (ЖПП), кариотип 46,XY. В 2 мес проведена диагностическая лапароскопия, обнаружена матка с левой трубой и дисгенетической гонадой (удалена, данные гистологического исследования отсутствуют), справа обнаружена широкая связка, уходящая в паховый канал. При осмотре в возрасте 1 год 3 мес: клитор гипертрофирован до 3 см, головка хорошо сформирована, единое уrogenитальное отверстие открывается низко на промежности (Прадер 3), справа гонада в нижней трети пахового канала, низводится в половую губу, слева не пальпируется. При гормональном обследовании: ЛГ 1,1 Ед/л (<0,27), ФСГ 10 Ед/л (<1,5), АМГ 40,9 нг/мл (для девочек <10), в ходе теста с ХГ подъем тестостерона составил 6,3 нмоль/л. С учетом наличия значимой гипертрофии клитора, адекватного подъема тестостерона на пробе с ХГ, низкого расположения правого яичка относительно мошонки с родителями проведена беседа о возможности смены паспортного пола на мужской, родители отказались. Ребенку проведено удаление правой гонады (гистологический материал не доступен). При проведении NGS в гене *MAP3K1* выявлена гетерозиготная ВЗ с.2039T>C: р.Л680P, ранее не описана.

Пациент 6. И., при рождении неправильное строение НПО: единое уrogenитальное отверстие у основания неувеличенного клитора (Прадер 4), гонады не пальпировались, кариотип 46,XY, установлен ЖПП. При обследовании в возрасте 3 мес: уровень ФСГ 8,4 Ед/л (норма до 1 года жизни <3,3), ЛГ 0,2 Ед/л (0,2–4,2), тестостерон 0,17 нмоль/л (0,69–1,3), при проведении стимуляционной пробы с ХГ подъем тестостерона до 0,2 нмоль/л, что свидетельствовало о нарушении стероидогенной функции гонад. Уровень АМГ составил 16,5 нг/мл (норма для девочек <10), ингибин В — 52,5 пг/мл (10–83). По данным УЗИ малого таза и паховых каналов: матка в малом тазу не определялась, в нижней трети пахового канала справа лоцировалось образование 1,3–0,8–0,5 см, слева в области половой губы аналогичное образование, размерами 0,8–0,6–0,5 см.

При проведении NGS в гене *MAP3K1* выявлена гетерозиготная ВЗ с.3242T>А:р.М1081К, ранее не описанная. У матери пациентки выявлена аналогичная гетерозиготная ВЗ, что не противоречит доминантному типу наследования заболевания, которое проявляется только у лиц с кариотипом 46,XY. Данный феномен описан и для других вариантов НФП 46,XY, например при мутациях в гене *NR5A1*.

Учитывая степень нарушения строения НПО, отсутствие подъема тестостерона на пробе с ХГ, низкий уровень АМГ, данные молекулярно-генетического исследования, установлен диагноз: НФП 46,XY, ДГ. Рекомендован выбор ЖПП, проведение двусторонней гонадэктомии с учетом высокого риска малигнизации. Родители от оперативного

Таблица 2. Фенотипическая характеристика пациентов.

| Пациент (фамилия) | Возраст диагностики | Пол воспитания | Строение НПО | ДМП |
|-------------------|---------------------|----------------|--|------|
| 1. Ч. | 16 лет | Ж | Женское | Есть |
| 2. В. | 14 лет | Ж | Женское | Есть |
| 3. Б. | 13 лет | Ж | Женское | Есть |
| 4. Ф. | 13 мес | М | Мошоночная гипоспадия, левосторонний паховый крипторхизм | Нет |
| 5. Б. | 15 мес | Ж | Гипертрофия клитора, двусторонний крипторхизм | Есть |
| 6. И. | 3 мес | Ж | Мошоночная гипоспадия, двусторонний паховый крипторхизм | Нет |
| 7. И. | 6 лет | М | Стволовая гипоспадия, двусторонний паховый крипторхизм | Нет |

Примечание. Ж — женский пол; М — мужской пол; ДМП — дериваты мюллеровых протоков.

лечения отказались в связи с сомнениями в выборе па-спортного пола, в настоящее время ведется наблюдение за развитием ребенка для понимания его гендерной ориентации. На момент написания статьи ребенку 1 год.

Пациент 7. И., при рождении неправильное строение НПО, зарегистрирован в МПП, кариотип 46,XY. Впервые осмотрен в 6 лет, диагностирована стволовая гипоспадия, двусторонняя ретенция тестикул, оба яичка в нижней трети паховых каналов до 1 мл, по данным УЗИ малого таза ДМП не определялись. При гормональном обследовании ФСГ 0,66 Ед/л (норма <0,8), ЛГ 0,2 Ед/л (норма <0,4), тестостерон 0,17 нмоль/л (0,14–0,38), АМГ 46 нг/мл (7,4–243), на фоне стимуляционной пробы с ХГ подъем тестостерона составил 2,2 нмоль/л (норма >3,5 нмоль/л). При молекулярно-генетическом анализе в гене *MAP3K1* выявлена гетерозиготная ВЗ с.623G>A: p.R208Q. С учетом полученных данных осмотра, обследования и молекулярно-генетического исследования установлен диагноз: НФП 46,XY, ДГ. Учитывая низкое расположение гонад, позволяющее частое неинвазивное мониторирование их состояния, рекомендовано динамическое УЗИ гонад не реже 1 раза в год.

Фенотипическая характеристика пациентов описана в таблице 2.

ОБСУЖДЕНИЕ

Протеинкиназы (ПК) — это подкласс ферментов киназ (фосфотрансфераз), которые модифицируют белки путем фосфорилирования остатков аминокислот, имеющих гидроксильные группы, изменяя их конформацию и функцию. ПК регулируют клеточный цикл, дифференцировку, метаболические пути, участвуют в цепях передачи внутриклеточного сигнала. Среди группы ПК выделяют митоген-активируемые протеинкиназные каскады (МАРК), через которые происходит передача сигнала от рецепторов ростовых факторов к факторам транскрипции и другим эффекторным клеточным белкам. МАРК — это группа белков, включающая три семейства протеинкиназ — p38, JNK/SAPK (сJun Nterminal kinase/Stress activated protein kinase) и ERK (Extracellular signal regulated kinase). Впервые участие МАРК-сигнального пути в дифференцировке гонад было предположено на основании сегрегационного анализа семьи, в которой в нескольких поколениях у 11 членов отмечалось НФП 46,XY с аутосомно-доминантным типом наследования. В результате исследования был локализован участок между локусами D5S1969

и D5S2028 на длинном плече хромосомы 5, содержащий около 34 генов-кандидатов, включая *MAP3K1*. При этом, несмотря на аутосомно-доминантный тип наследования, наличие выявленного локуса проявлялось ДГ только у лиц с кариотипом 46,XY [10]. Несколько позже Pearlman и соавт. [11] при анализе установленного локуса показали, что только 2 из 34 генов, *MAP3K1* и *MIER3*, экспрессируются в эмбриональной гонаде мышей на E13.5 после зачатия независимо от кариотипа, и только *MAP3K1* обнаруживается в период инициации дифференцировки бипотенциальной гонады и в тестикулярных канальцах на E13.5 внутриутробного развития. При секвенировании этих генов в вышеописанной семье в гене *MAP3K1* была выявлена гетерозиготная ВЗ с.634-8T>A в месте сайта сплайсинга во 2-м интроне, и ее встречаемость среди членов семьи совпала с фенотипом. Также авторами проведено секвенирование *MAP3K1* в другой семье, где у 5 членов отмечалась ДГ, и в 11 спорадических случаях НФП 46,XY ДГ. Среди членов семьи выявлена гетерозиготная ВЗ p.G616R, а у 2 пациентов из 11 спорадических случаев выявлены гетерозиготные ВЗ p.L189P и p.L189R. При функциональном анализе выявленных ВЗ оказалось, что они приводят к повышению фосфорилирования белков сигнального пути p38 и ERK, т.е. являются активирующими. Полученные результаты *in vitro*, а также отсутствие аналогичных ВЗ в группе контроля позволили авторам сделать вывод о функциональной значимости выявленных изменений в гене *MAP3K1* и высокой частоте распространенности изменений в нем (до 18%) среди пациентов с НФП 46,XY ДГ [11].

Роль МАРК-сигнального пути в половой дифференцировке гонад продемонстрирована для другого белка этого звена — *MAP3K4*, гомозиготная мутация в гене которого приводит в реверсии пола у мышей вследствие нарушения миграции поддерживающих клеток из мезонефроса, необходимых для развития яичек. У мышей *MAP3K1*/НФП не отмечается [12]. Однако здесь следует учитывать активирующий характер ВЗ, выявленных у человека. Также возможно, что роль МАРК-сигнального пути в формировании тестикул у людей может отличаться от мышей.

Предположительно, *MAP3K1* в гонадах участвует в балансировании экспрессии «яичниковых» и «яичковых» генов. Как показано в нескольких исследованиях *in vitro*, при гиперфосфорилировании *MAP3K1* наблюдается снижение экспрессии ряда ФТ, детерминирующих дифференцировку гонады в яичко, таких как *SOX9*/*FGF9*/*FGFR2*/*SRY*, на фоне чего происходят стабилизация β -катенин-сигнального

пути и повышение регуляции его нисходящих мишеней FOXL2 и FST, являющихся ФТ, активирующими дифференцировку гонады в яичник [2].

В последние годы опубликовано несколько зарубежных работ с описанием случаев НФП 46,XY ДГ, ассоциированных с гетерозиготными ВЗ в гене *MAP3K1* [5, 13–15]. В недавнем исследовании европейских авторов, проанализировавших молекулярно-генетические причины возникновения НФП 46,XY среди 278 пациентов, было выявлено 6 ВЗ в данном локусе среди 11 пациентов, в том числе у двоих выявлена ВЗ p.L189R, описанная одной из первых. Авторами выявлены также ранее не описанные замены p.M312L и p.A1443V у нескольких пациентов с разными вариантами ДГ (гипоспадия, ЧГД, смешанная ДГ), что подтверждает ранее высказанное предположение об отсутствии фенотип-генотипической корреляции при ВЗ в данном гене и возможном наличии модифицирующих факторов. На основании полученных собственных данных и ранее опубликованных когортных исследований [16] авторы предполагают, что около 10% случаев НФП 46,XY могут быть обусловлены изменениями в данном гене [5].

В нашей когорте, после исключения по критериям патогенности [8, 9] вероятно доброкачественных вариантов (likely benign), наличие ВЗ в гене *MAP3K1*, возможно, ассоциированных с ДГ, было установлено у 10 пациентов, что составило 3,2% всей группы. Среди выявленных изменений одна ВЗ p.C691R обнаружена у трех пациентов, в том числе у двух сибсов. Данная мутация была описана ранее у пациентов с ДГ, включая описание в отечественной литературе [5, 7].

Одним из объяснений более низкой частоты встречаемости изменений в *MAP3K1* среди наших пациентов может быть использование более строгих условий анализа выявленных изменений. В ряде зарубежных работ в анализ были включены и вероятно доброкачественные варианты в гене *MAP3K1*, где авторы предположили возможность их влияния в сочетании с модифицирующими факторами [14, 16].

Важно отметить, что, несмотря на то, что мутации в гене *MAP3K1* признаются большинством авторов как частая причина НФП 46,XY [5, 16], доказать причинно-следственную связь в каждом конкретном случае сложно. Это обусловлено тем, что, как уже отмечалось выше, изменения в гене приводят к активации *MAP3K1* [2, 10]. Такие вариан-

ты (как правило, миссенс-замены) не относятся к мутациям с потерей функции и при использовании общепринятых алгоритмов оценки патогенности классифицируются чаще (как и 7 описанных нами случаев) как варианты с неопределенной клинической значимостью. Наличие таких противоречивых данных по распространенности и разного подхода в оценке значимости выявленных изменений в *MAP3K1* свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения функциональной значимости данного гена в дифференцировке пола.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая данные семейных случаев, где значимость вариантных изменений в *MAP3K1* не вызывает сомнений, ее роль в дифференцировке пола можно считать доказанной. И, как показали зарубежные и наши данные, вариантные замены в *MAP3K1* не являются редкостью, в связи с чем уточнение истинной распространенности функционально значимых изменений является предметом дальнейших исследований.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Публикация настоящей работы поддержана благотворительным фондом филантропии КАФ, программа «Альфа-Эндо».

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

Участие авторов. Калинин Н.Ю. — автор принимал непосредственное участие в концепции, дизайне, получении, анализе и интерпретации результатов исследования, в написании статьи; Тюльпаков А.Н. — автор принимал непосредственное участие в концепции, дизайне, получении, анализе и интерпретации результатов исследования, в правке рукописи и одобрении финальной версии.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы

Согласие пациента. Добровольное информированное согласие было получено от всех обследованных пациентов; если возраст обследованных не достиг 15 лет, информированное согласие было подписано законным представителем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Ono M, Harley VR. Disorders of sex development: new genes, new concepts. *Nat Rev Endocrinol.* 2013;9(2):79-91. doi: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2012.235>
2. Loke J, Pearlman A, Radi O, et al. Mutations in *MAP3K1* tilt the balance from SOX9/FGF9 to WNT/ β -catenin signaling. *Hum Mol Genet.* 2014. doi: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt502>
3. Осипова Г.Р. Исследование гена SRY при некоторых нарушениях детерминации пола (XY «чистой» форме дисгенезии гонад, синдроме Шерешевского-Тернера, XX инверсии пола). Автореферат дисс. ... на соискание ученой степени канд. мед. наук. — Москва. 1997. [Osipova GR. Issledovanie gena SRY pri nekotorykh narusheniyakh determinatsii pola (XY «chistoi» forme disgenезии gonad, sindrome Shereshhevskogo-Ternera, XX inversii pola). [dissertation] Moskva; 1997 (In Russ.)]. Доступно по: <https://dlib.rsl.ru/01000332738>. Ссылка активна на 17.12.2020.
4. Cuevas BD, Abell AN, Johnson GL. Role of mitogen-activated protein kinase kinases in signal integration. *Oncogene.* 2007;26(22):3159-3171. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210409>
5. Eggers S, Sadedin S, van den Bergen JA, et al. Disorders of sex development: insights from targeted gene sequencing of a large international patient cohort. *Genome Biol.* 2016;17(1):243. doi: <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1105-y>
6. Ostrer H. Disorders of Sex Development (DSDs): An Update. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(5):1503-1509. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2013-3690>
7. Копылова И.В., Кузнецова Е.С., Чугунов И.С., и др. Нарушение формирования пола 46,XY, ассоциированное с мутациями в гене *MAP3K1*. Описание клинических случаев // *Проблемы эндокринологии.* — 2018. — Т. 64. — №1. — С. 45-49. [Kopylova I, Kysnezova E, Chugunov I, et al. Disorder of sex development 46,XY associated with mutations in the gene *MAP3K1*. The report of clinical cases. *Probl Endocrinol.* 2018;64(1):45-49 (In Russ.)]. doi: <http://dx.doi.org/10.14341/probl8596>

8. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-423. doi: <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
9. Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б., и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) // *Медицинская генетика*. — 2019. — Т. 18. — №2. — С. 3-23. [Ryzhkova OP, Kardymon OL, Prohorchuk EB, et al. *Medical Genetics*. 2019;18(2):3-23. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.02.3-23>
10. Jawaheer D, Juo S-H, Le Caignec C, et al. Mapping a gene for 46,XY gonadal dysgenesis by linkage analysis. *Clin Genet*. 2003;63(6):530-535. doi: <https://doi.org/10.1034/j.1399-0004.2003.00082.x>
11. 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: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.11.003>
12. Warr N, Bogani D, Siggers P, et al. Minor Abnormalities of Testis Development in Mice Lacking the Gene Encoding the MAPK Signalling Component, MAP3K1. *PLoS One*. 2011;6(5):e19572. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019572>
13. Chamberlin A, Huether R, Machado AZ, et al. Mutations in MAP3K1 that cause 46,XY disorders of sex development disrupt distinct structural domains in the protein. *Hum Mol Genet*. 2019;28(10):1620-1628. doi: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddz002>
14. Granados A, Alaniz VI, Mohnach L, et al. MAP3K1-related gonadal dysgenesis: Six new cases and review of the literature. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet*. 2017;175(2):253-259. doi: <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31559>
15. Xue M, Wang X, Li C, Zhao M, He F, Li X. Novel pathogenic mutations in disorders of sex development associated genes cause 46,XY complete gonadal dysgenesis. *Gene*. 2019;718:144072. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144072>
16. Baxter RM, Arboleda VA, Lee H, et al. Exome Sequencing for the Diagnosis of 46,XY Disorders of Sex Development. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(2):E333-E344. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2014-2605>

Рукопись получена: 29.11.2019. Одобрена к публикации: 12.12.2020. Опубликовано online: 30.12.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***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, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2000-7694>; eLibrary SPIN: 6727-9653; e-mail: kalinnat@rambler.ru

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

ЦИТИРОВАТЬ

Калинченко Н.Ю., Тюльпаков А.Н. Дисгенезия гонад 46,XY, ассоциированная с вариантами в гене MAP3K1 // *Проблемы эндокринологии*. — 2020. — Т.66. — №6. — С. 59-64. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12695>

TO CITE THIS ARTICLE:

Kalinchenko NY, Tiulpakov AN. Gonadal dysgenesis 46,XY DSD associated with variants in the MAP3K1 gene. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(6):59-64. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12695>