

при проведении анализа микроделеций являются делеции генов *RBM* и *DAZ*, которые расположены в различных субрегионах локуса AZF (Kobayashi et al., 1995; Fox and Reijo Pera, 2001; Kadandale et al., 2002).

Алгоритм проведения генетического исследования наличия микроделеций локуса AZF дает возможность оценить тип делеции и составить генотип–фенотип корреляцию в каждом конкретном случае, что имеет прогностическое значение для применения ВРТ, а именно ЭКО с ICSI.

Молекулярные исследования микроделеций локуса AZF позволили выявить эти аномалии при синдроме "только клетки Сертоли". **Синдром "только клетки Сертоли"** (MIM 400042) был впервые описан Дель Кастилье в 1947 г. (Del Castillo et al., 1947). Это заболевание отмечают у мужчин с идиопатической азооспермией, крипторхизмом, повышенным уровнем ФСГ и нормальными уровнями тестостерона и ЛГ (Foresta et al., 1998a). Распространение синдрома "только клетки Сертоли" среди мужчин с необструктивной азооспермией составляет приблизительно 30% (Foresta et al., 1998a). Различают два типа синдрома: синдром "только клетки Сертоли" I типа характеризуется полным отсутствием клеток сперматогенного ряда в семенных канальцах, при синдроме "только клетки Сертоли" II типа наблюдается присутствие незначительного числа клеток сперматогенного ряда в отдельных семенных канальцах.

Эпителий семявыносящих протоков содержит как соматические клетки (клетки Сертоли и миоидные клетки), так и половые – от ранних стволовых клеток до зрелых сперматозоидов. Клетки Сертоли играют первостепенную роль в половой

дифференцировке и регуляции процесса сперматогенеза. Известны гены, которые вовлечены в контроль над сперматогенезом и дифференцировкой половых клеток, большинство из них локализованы на хромосоме Y. Диагноз обычно ставится после биопсии яичка, в биоптате присутствуют только клетки Сертоли и отсутствуют половые клетки. Предположение о том, что синдром "только клетки Сертоли" может быть связан с микроделециями хромосомы Y, было впервые выдвинуто Х. Наймабади и соавт. в 1996 г. и подтверждено затем П. Вогтом и соавт. у пяти мужчин с идиопатической азооспермией, которым была проведена биопсия яичка (Najmabadi et al., 1996; Vogt et al., 1996; Foresta et al., 1998a). Дальнейшие исследования позволили уточнить этиологию синдрома "только клетки Сертоли" (Blagosklonova et al., 2000; Kamp et al., 2001; Maduro et al., 2003). При отсутствии обоих генов субрегиона AZFa – *USP9Y* и *DBY* – наблюдаются синдром "только клетки Сертоли" I типа. У мужчин с делецией AZFa+b+c также всегда присутствует синдром "только клетки Сертоли" I типа, делеции субрегиона AZFc проявляются чаще в виде блокирования сперматогенеза, реже наблюдаются при синдроме "только клетки Сертоли" II типа (Foresta et al., 2001a).

Таким образом, микросателлитный анализ ДНК мужчин с нарушением репродуктивной функции и аномальными характеристиками спермограммы позволяет выявлять носителей микроделеции хромосомы Y, что необходимо учитывать при проведении медико-генетического консультирования супругов, а также в ходе программы ЭКО с ICSI.

2.6. Генетические аспекты детерминации пола и половой дифференцировки, нарушения этих процессов

Выше мы останавливались на хромосомных аномалиях и вариантах микроделеций хромосомы Y – ведущих факторах нарушения репродуктивной функции у мужчины. Следующая группа патологических состояний, связанных с бесплодием, обусловлена нарушением детерминации пола и половой дифференцировки.

Развитие фенотипически здорового индивида мужского или женского пола – динамический процесс, в который вовлечен каскад молекулярных и морфологических событий в ходе онтогенетического развития. Закладка и развитие мочеполовой системы эмбриона основываются на двух последовательных событиях – детерминации пола и половой дифференцировке. Детерминация пола определяется генетическим полом организма. Мужской генетический пол эмбриона обусловлен мужским набором хромосом (46,XY), так как наиболее важный фактор, определяющий мужской пол (тестис-определяющий фактор), локализован в хромосоме Y. Мужской

гонадный пол, или формирование гонад по мужскому типу, определяется геном, расположенным на хромосоме Y, а также другими генами аутосом и хромосомы X. Мужские гонады вырабатывают гормоны, которые контролируют последующую половую дифференцировку, определяя фенотипический пол.

В соответствии с уровнем половой дифференцировки понятие "пол" включает в себя генетический пол, гонадный пол, гаметный пол, гормональный пол, фенотипический пол, гражданский пол, пол воспитания, пол самосознания, половую роль (Е.А. Беникова и др., 1993; Ramkissoon and Goodfellow, 1996). На **рис. 2.15** представлены те определения пола, которые связаны с генетическим фактором.

Генетический пол индивида можно рассматривать как первый этап половой дифференцировки, определяющийся при оплодотворении, во время которого происходит слияние двух гамет – ооцита и сперма-



Рис. 2.15. Определение пола в соответствии с уровнем половой дифференцировки

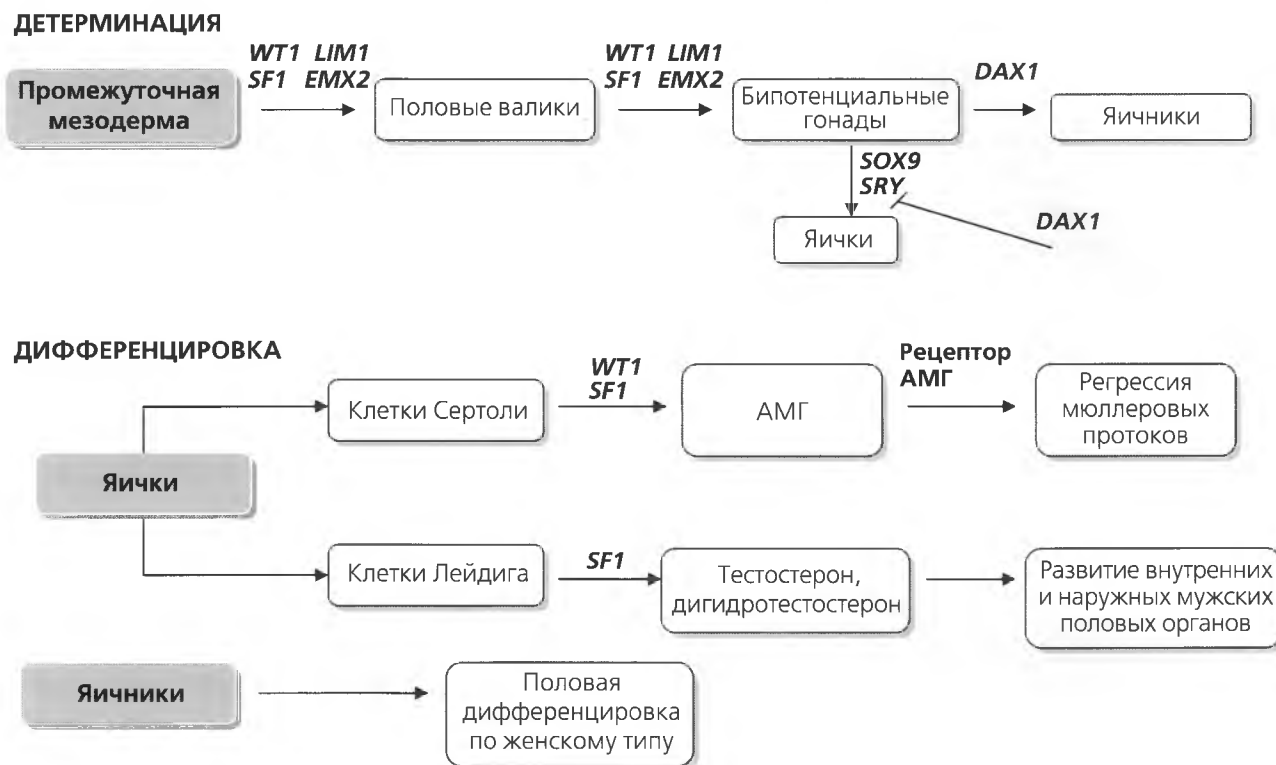


Рис. 2.16. Этапы детерминации пола и половой дифференцировки у человека

тозоида, хромосомный набор которых – 23,Х и 23,Х или 23,У, соответственно. Как только произошло слияние двух родительских гамет, генетический пол индивида установлен: наличие женского или мужского кариотипа определяет дальнейшее развитие женского или мужского организма. Мужской генетический пол обусловлен наличием хромосомного набора 46,XY, а именно хромосомы Y, которая обеспечивает детерминацию пола эмбриона, – происходит закладка мужской гонады с последующим запуском каскада генетических событий, которые ведут к дифференцировке пола – развитию мужских внутренних и наружных половых органов. Таким образом, генетический пол предопределяет пол гонадный. Последующая дифференцировка пола представляет комплексный процесс и находится под контролем генетических и гормональных факторов. Секреция гонадами стероидных и пептидных гормонов предопределяет развитие внутренних и наружных половых органов (фенотипический пол). Несмотря на то, что половое развитие и выполнение репродуктивной функции происходят пос-

ле рождения, в постпубертатном периоде, все критические этапы половой дифференцировки закладываются в эмбриогенезе. В хронологическом порядке эти события можно разделить на два этапа:

- детерминация пола – начальный момент, во время которого определяется путь развития гонад – в яички или яичники;
- дифференцировка пола – ряд последующих событий, в результате которых развивается мужской или женский фенотип.

Схематически процессы детерминации и дифференцировки мужского пола можно представить следующим образом (рис. 2.16):

- детерминация пола – развитие яичек из бипотенциальных гонад;
- дифференциация в яичках клеток Лейдига и Сертоли;
- последующая секреция клетками Лейдига и Сертоли гормонов, необходимых для развития внутренних и наружных половых органов (в клетках Лейдига – биосинтез андрогенов для развития мужских внутренних и наружных половых органов, в клетках Сертоли – биосинтез АМГ для регрессии мюллеровых протоков);

- опущение яичек;
- миграция половых клеток в развивающиеся гонады.

После детерминации гонад начинается процесс половой дифференцировки, которая определяется пол-специфической чувствительностью периферических тканей к гормонам мужских или женских гонад.

Рассмотрим подробнее процесс детерминации пола и гены, участвующие в этом процессе. Эмбрион проходит долгий путь биологических преобразований, предопределяющих его развитие по женскому или мужскому типу. Первоначально гонады представляют собой индифферентные бипотенциальные структуры, способные формировать мужские или женские гонады в зависимости от тех генетических сигналов, которые они получают. Развитие половой системы начинается с первых недель эмбриогенеза и заканчивается при достижении организмом половой зрелости. Мочеполовая система (почки, гонады и надпочечники) формируется из промежуточной мезодермы. До 4-5-й недели развития гонады эмбрионов бипотенциальны (индифферентная стадия) – не имеют половых различий, состоят из наружного (кортикального) эпителиального слоя и внутреннего (медуллярного) мезенхимального слоя; присутствуют вольфовы и мюллеровы протоки. Зачатки гонад формируются в виде половых валиков на вентральной стороне мезонефроса из мезотелия и дают начало индифферентным бипотенциальным гонадам.

Первичные половые клетки, или гоноциты, возникают в кишечной эктодерме на 14-15-й день развития и мигрируют вдоль стенки первичной кишки в область будущих зачатков гонад, которые, утолщаясь на вентральной поверхности первичного мезонефроса, образуют половые валики. Процесс миграции гоноцитов завершается до 32-го дня эмбрионального развития. В течение этого времени эпителий полового валика пролиферирует в лежащую над ним рыхлую соединительную мезенхимную ткань, дающую начало первичным половым тяжам, окружающим гоноциты, которые проходят процесс митотического деления, образуя пул половых клеток. На

этом этапе половые клетки не играют роли в детерминации пола. В процессе превращения половых валиков в бипотенциальную гонаду участвуют транскрипционно-регуляторные гены – *WT1*, *SF1*, *LIM1*, *EMX2*, задействованные в этом процессе, как на начальных стадиях детерминации пола, так и последующих этапах половой дифференцировки.

Свидетельством генетического контроля детерминации пола эмбриона являются молекулярные различия в бипотенциальной гонаде на 4-5-й неделях эмбрионального развития. Таким образом, генетический контроль детерминации пола эмбриона определяется набором половых хромосом, гены которых путем многих молекулярных взаимодействий обуславливают развитие гонад с последующей половой дифференцировкой.

Дифференцировка половых протоков происходит другим способом: вместо одной двойственной примордиальной структуры возникают две первичные структуры (вольфовы и мюллеровы протоки), одна из которых в дальнейшем развивается, а другая подвергается регрессии в зависимости от сигналов, получаемых из развивающихся гонад (рис. 2.17). Так, вольфовы протоки у эмбрионов мужского пола дифференцируются в яички, придатки яичек, семявыносящие протоки, семенные пузырьки, а мюллеровы протоки подвергаются регрессии.

При наличии хромосомы Y индифферентные бипотенциальные гонады развиваются в яички. Формирование мужского пола индуцировано первичным сигналом, который опосредован фактором детерминации мужского пола **TDF** (testis-determining factor) (MIM 480000) (Berkovitz, 1992; Ferguson-Smith, 1992; Vilain and McCabe, 1998; Hiort, 2000). Первичные половые тяжи сливаются, образуя сеть внутренних (медуллярных) половых тяжей, а на дистальном конце формируется более тонкая сеть яичка. Первыми клетками, которые можно различить при дифференцировке яичек, являются клетки Сертоли, участвующие в образовании медуллярных структур вокруг гоноцитов, ингибирующие мейоз и обеспечивающие

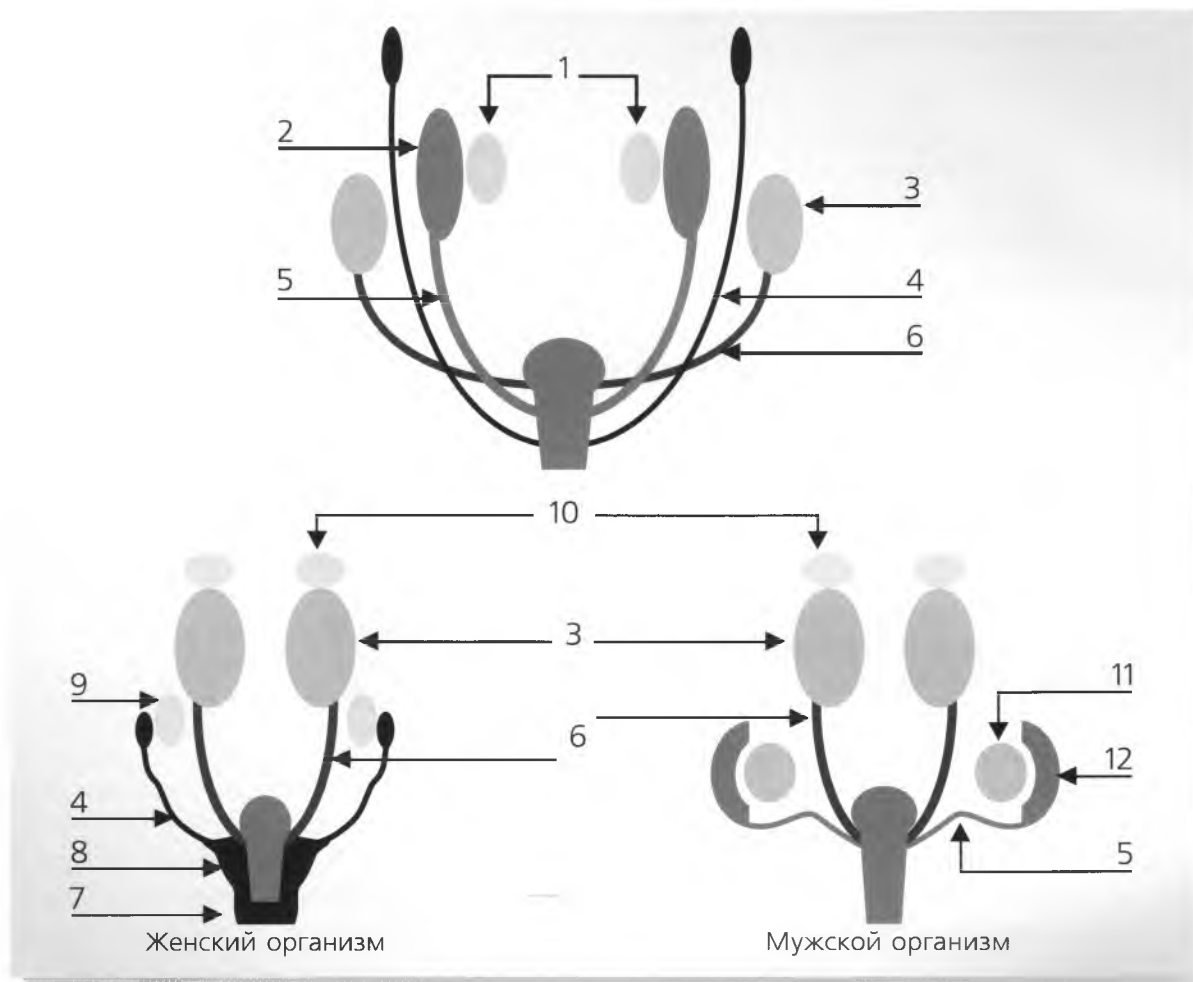


Рис. 2.17. Развитие вольфовых и мюллеровых протоков у обоих полов. Схема:

1 – бипотенциальная гонада; 2 – мезонефрос; 3 – почка; 4 – мюллеровы протоки; 5 – вольфовы протоки; 6 – мочеточник; 7 – влагалище; 8 – матка; 9 – яичник; 10 – надпочечник; 11 – яичко; 12 – придаток яичка.

первичные половые клетки (просперматогонии) питательными веществами. Таким образом, половые клетки оказываются внутри яичка. Клетки Сертоли также секретируют АМГ, подавляющий образование женских половых органов, и стимулируют интерстициальные клетки, которые начинают продуцировать тестостерон, необходимый для дифференцировки вольфовых протоков и формирования мужских половых органов.

При отсутствии хромосомы Y первичные половые тяжи развиваются в префолликулярные клетки яичника, которые располагаются вокруг половых клеток, вступающих в мейоз, и заключаются затем в примордиальные фолликулы. При отсутствии АМГ из мюллеровых протоков формируется матка, фаллопиевы трубы и верхний свод влагалища.

Таким образом, первым признаком детерминации яичек является скопление клеток, предшественников Сертоли, вокруг гонциотов для формирования первичных половых тяжей, что происходит примерно на 6-7-й неделе эмбриогенеза. До конца 9-й недели разделяющая зачатки семявыносящих протоков мезенхима дает начало интерстициальным клеткам, которые дифференцируются в клетки Лейдига, секретирующие стероидные гормоны.

Описанные процессы требуют активации каскада генов, расположенных как на аутосомах, так и на хромосоме Y. Первый этап открытия генетического фактора детерминации мужского пола состоял в картировании гена (или генов) на хромосоме Y, чему способствовало обнаружение структурных аномалий хромосомы Y. В 1987 г. Д. Пейдж

Таблица 2.15. Гены, задействованные в детерминации пола у человека

Ген	Локализация гена на хромосоме	Семейство	Предположительная функция	Патологические состояния, вызванные нарушением в гене
SRY (sex-determining region) (MIM 480000)	Yp11	HMG белок	Транскрипционный фактор	XY гонадальный дисгенез Мутация: врожденная гипоплазия коры надпочечников
DAX1 (DSS-AHC critical region on the X chromosome, gene 1) (MIM 300473)	Xp21.3	Ядерных рецепторов	Транскрипционный фактор	Дупликация: XY гонадальный дисгенез Мутация: врожденная гипоплазия коры надпочечников
SOX9 (SRY-box 9) (MIM 608160)	17q24	HMG белок	Транскрипционный фактор	Дупликация: XX-реверсия пола Мутация: кампомелическая дисплазия с XY гонадальным дисгенезом
SF1 (steroidogenic factor 1) (MIM 184757)	9q33	Ядерных рецепторов	Транскрипционный фактор	Гонадальный дисгенез и недостаточность функционирования надпочечников
WT1 (Wilms tumour 1 gene) (MIM 607102)	11p13	Белок "цинковых пальцев"	Транскрипционный фактор	Синдром Денис-Дрэша и синдром Фразера
DMRT1 (doublesex- and mab3-related transcription factor 1) (MIM 602424)	9p24	DM домен, ДНК-связывающий белок	Транскрипционный фактор	XY-реверсия пола?
WNT4 (wingless-type mmtv integration site family, member 4) (MIM 603490)	1p35	WNT	Сигнальная молекула	XY-реверсия пола

и соавт. описали первый возможный ген-кандидат, который кодирует активатор транскрипции – белок "цинковых пальцев" (*ZFY*) (Page et al., 1987). Однако позже выяснилось, что *ZFY* не аналогичен гену фактора детерминации мужского пола. Первоначально в хромосоме Y был идентифицирован ген, который обуславливает развитие бипотенциальной гонады в яички, – *TDF*. После того, как *TDF* картировали на коротком плече хромосомы Y, анализ этого района позволил в 1990 г. обнаружить специфическую последовательность хромосомы Y – ген *SRY* (Sinclair et al., 1990).

Ген *SRY* играет критическую роль в дифференцировке пола по мужскому типу, а мутации в нем обуславливают XY-реверсию пола. В то же время, известны отдельные случаи реверсии пола без мутации в данном гене, которые дали возможность уче-

ным предположить, что в развитии яичек участвует не только ген *SRY*. Такие предположения были подкреплены полученными на модельных системах (дрозофила и нематода) данными, которые и показали, что генетический контроль половой дифференцировки у этих видов представляет собой каскадный процесс с участием серии генов, действие одного гена последовательно сменяется активным функционированием другого (Hunter and Wood, 1992; McGillivray, 1992). В течение последних 20 лет с помощью современных молекулярных методов проводился интенсивный поиск генов, задействованных в каскаде преобразования и формировании женского или мужского пола (**табл. 2.15**).

Перечисленные гены принадлежат к двум различным группам: к первой группе относятся транскрипционные регуляторы,

участвующие в образовании бипотенциальной гонады с ее последующей детерминацией в яички (*WT1*, *SF1*, *LIM1*, *EMX2*), вторая группа включает гены *SRY* и *SOX9*, которые принимают участие в детерминации развития яичка. Первыми, до образования индифферентной гонады, инициируют экспрессию гены *WT1*, *SF1*, *LIM1*, *EMX2*, затем активизируются гены *SRY*, *SOX9*.

Ген ***WT1*** (Wilms tumor 1 gene) (MIM 607102), или ген опухоли Вильмса, был первоначально идентифицирован как онкоген, ответственный за развитие эмбриональной аденомиосаркомы почки (Huang et al., 1990; Rose et al., 1990). Позже было установлено, что *WT1* задействован в детерминации пола, так как экспрессируется в половых валиках. У мышей, гомозиготных носителей нуль-мутации *Wt1*, наблюдается агенезия почек и гонад (Kreidberg et al., 1993; Vilain and McCabe, 1998). Отсутствие гонад вызвано их дегенерацией во время эмбриогенеза, что свидетельствует об участии *WT1* в детерминации развития гонад. В дальнейшем значение гена *WT1* в детерминации пола у человека получило подтверждение благодаря выявлению мутаций в этом гене у пациентов с синдромами Дениса–Дрэша и Фразера, у которых наблюдалась почечная недостаточность и двойственное строение гениталий, а также развитие опухоли Вильмса у некоторых пациентов с синдромом Дениса–Дрэша (Pelletier et al., 1991a,б; Little et al., 1992a,б, 1993; Barbaux et al., 1997). Также установлена связь между мутациями в этом гене и возникновением еще одного синдрома – WAGR (Wilms tumor, aniridia, genital malformation, mental retardation) (MIM 194072) (Pelletier et al., 1991б).

Ген *WT1* картирован в сегменте p13 хромосомы 11, кодирует белок, относящийся к семейству "цинковых пальцев", и действует как активатор или репрессор (Rose et al., 1990). *WT1* состоит из десяти экзонов, имеет несколько функционально различных доменов, для него характерно образование четырех главных типов мРНК, которые формируются в результате двух разных альтернативных событий сплайсинга (Reddy and Licht, 1996; Swain and Lovell-Badge, 1999). Помимо этого, существуют три различные точки инициации трансляции, наличие ко-

торых позволяет регулировать транскрипцию на разных уровнях, что обеспечивает механизмы активации и репрессии. Мутации в гене *WT1* приводят к трем отдельным, но родственным синдромам (синдромы Фразера, Дениса–Дрэша, WAGR).

Ген ***SF1*** (steroidogenic factor 1) (MIM 184757) относится к семейству ядерных рецепторов, так называемых orphan-рецепторов, и первоначально рассматривался как регулятор экспрессии цитохром P450 стероидгидроксилаз (cytochrome P450 steroid hydroxylases) (Lala et al., 1992; Morohashi, 1992; Honda et al., 1993; Swain and Lovell-Badge, 1999). Ген *SF1* содержит консервативные ДНК-связывающий домен и домен карбоксильного конца, для него характерен тот же профиль экспрессии, что и для *DAX1*. Помимо яичек, *SF1* экспрессируется в гипоталамусе и гипофизе, коре надпочечников, яичниках. Ген *SF1* является антагонистом гена *DAX1* и регулирует уровень АМГ, так как в промоторе гена *SF1* содержится элемент "отклика". Уровень экспрессии *SF1* снижается только в женских гонадах, это позволяет предположить, что *SF1* играет важную роль в контроле над регрессией мюллеровых протоков (Mallet et al., 2004).

Еще одним аутосомным геном, вовлеченным в детерминацию пола, является ген семейства *SOX*, а именно ***SOX9*** (SRY-related HMG-box gene) (MIM 608160), картированный в участке 24.3-25.1 длинного плеча хромосомы 17 (17q24.3-25.1). Этот ген является родственным гену *SRY* и совместно с ним экспрессируется до стадии дифференцировки гонад только в половых валиках, участвуя в детерминации яичек. Функция гена *SOX9* заключается также в активации транскрипции гена *AMH*, что подтверждает критическую роль этого гена в детерминации пола. *SOX9* участвует как в хондрогенезе, так и в развитии гонад (Weiss et al., 2003). Точковые мутации в *SOX9* обуславливают такие заболевания, как кампомелическая дисплазия, а также синдром врожденной патологии скелета, при которых может наблюдаться XY-реверсия пола.

Обсуждается роль других аутосомных генов, кандидатов на участие в детермина-

ции пола; у пациентов с XY-реверсией пола встречаются делеции р-плеча хромосомы 9 (9p24) или q-плеча хромосомы 10 (10q25) (Chung et al., 1998; Raymond et al., 1999; Vialard et al., 2002). Ген **DMRT1** (doublesex- and mab3-related transcription factor 1) (MIM 602424) картирован в дистальном коротком плече хромосомы 9 (участок 9p24.3) (Raymond et al., 1998, 1999). Указанный ген экспрессируется только в яичках. К. Смит и соавт. продемонстрировали участие гена **DMRT1** в дифференцировке яичек (Smith et al., 1999). При наличии делеции короткого плеча хромосомы 9 у пациентов наблюдают феминизацию и отсутствие яичек.

Ген **LIM1** (LIM homeobox gene 1) (MIM 601999) участвует в регуляции дифференцировки промежуточной мезодермы и раннем развитии гонад, относится к семейству генов гомеобокса. Экспрессия гена **LIM1** наблюдается во время раннего периода развития гонад в области структур мезонефроса. Исследования, проведенные на модельных системах (мышях), показали отсутствие почек и гонад у особей, гомозиготных носителей мутации в гене **Lim1** (В.Б. Черных и Л.Ф. Курило, 2001а,б; Shawlot and Behringer, 1995).

Ген **GATA4** (GATA-binding protein 4) (MIM 600576) входит в состав семейства транскрипционных регуляторных факторов. В развивающихся яичках обнаружена экспрессия одного из генов этого семейства – **GATA4**. Роль гена заключается в запуске различных активаторов экспрессии гена **AMH** (В.Б. Черных и Л.Ф. Курило, 2001а,б).

Ген **WNT4** (wingless-type MMTV integration site family, member 4) (MIM 603490) относится к семейству генов **WNT**, кодирующих семейство клеточных сигнальных молекул. На ранних этапах развития гонад отмечена экспрессия гена **WNT4** в половых валиках и мезонефросе, в развивающихся яичках экспрессия гена отсутствует, но выявляется в яичниках. Ген **WNT4** принимает участие в передаче сигнала и, соответственно, контроле над продуцированием мужских половых гормонов клетками Лейдига (В.Б. Черных и Л.Ф. Курило, 2001а,б).

Ген **SRY** (sex-determining region Y) (MIM 480000) локализован в коротком плече

хромосомы Y (Yp11.31), является монокопийным, содержит один экзон, который кодирует белок, состоящий из 204 аминокислот, интроны отсутствуют (Smith and Koorman, 2004). Единственный функциональный домен белка **SRY**, который называется HMG-бокс (high mobility group), состоит из 79 аминокислотных остатков и по своей природе консервативен. Белок, кодируемый **SRY**, является регулятором транскрипции генов, реализующих дифференцировку индифферентных бипотенциальных гонад и развитие яичек. Экспрессия гена **SRY** наблюдается уже на стадии зиготы (В.Б. Черных и Л.Ф. Курило, 2001а,б). Первоначально его активация происходит в гоноцитах и клетках, предшественниках клеток Сертоли. Далее белок, кодируемый геном **SRY**, запускает каскад регуляторных событий. С его участием дифференцируются клетки Лейдига, митоз в половых клетках останавливается, происходит дальнейшая дифференцировка в тестикулярной ткани. В присутствии гена **SRY** поддерживающие клетки индифферентных гонад превращаются в клетки Сертоли, при отсутствии – в фолликулы.

Ген **SRY** гомологичен генам семейства **SOX** (**SRY**-related HMG-box genes), из которых наибольшую гомологию имеет с геном **SOX9**. Большинство описанных мутаций гена **SRY** являются точковыми и происходят в HMG-боксе, только десять мутаций описаны вне этого участка, восемь из которых – в 5'-конце (Baldazzi et al., 2003; Shahid et al., 2004). Типы наиболее распространенных мутаций гена **SRY** при гонадальной дисгенезии представлены в табл. 2.16 (Schaffler et al., 2000).

К синдромам, обусловленным мутациями генов, задействованных в детерминации пола относятся следующие: синдром Дениса–Дрэша, синдром Фразера, кампомеллическая дисплазия.

Синдром Дениса–Дрэша (MIM 194080) – редкое заболевание у человека, при котором тяжелые урогенитальные расстройства могут приводить к почечной недостаточности, псевдогермафродитизму и опухоли Вильмса. Нарушение функционирования почек обычно прогрессирует, достигая к трехлетнему возрасту конечной ста-

Таблица 2.16. Мутации гена *SRY* при гонадальной дисгенезии

Кодон	Мутация	Механизм
3	Туг-стоп	Делеция
43	Lys-стоп	Инсерция
107	Сдвиг рамки считывания	Делеция
120	Сдвиг рамки считывания	Делеция
	Регуляторная-75	Замещение

дии почечной недостаточности. Анализ гистологических препаратов свидетельствует о разной степени локального и рассеянного склероза мезангия. У пациентов с синдромом Дениса–Дрэша, у которых развивается опухоль Вильмса, злокачественные образования обычно двусторонние, возраст пациентов в среднем составляет примерно 18 месяцев. Аномалии наружных половых органов обычно представлены мужским псевдогермафродитизмом либо двойственным строением гениталий, либо нормальным женским фенотипом при кариотипе 46,XY.

Анализ мутации гена *WT1* у 150 мужчин с синдромом Дениса–Дрэша показал наличие 25 различных мутаций в этом гене, включая шесть мутаций Arg394Trp, одну мутацию Arg394Pro, две мутации в кодоне 396, а именно Asp396Asn в двух случаях и Asp396Gly в одном случае (Mueller, 1994).

Синдром Фразера (MIM 136680) обусловлен мутацией в гене *WT1*, наследуется по аутосомно-рецессивному типу, характеризуется как гонадальной дисгенезией, так и аномалиями почек, которые приводят к развитию гонадных тяжей в сочетании с нефротическим синдромом. Синдром Фразера в сочетании с генотипом XY приводит к реверсии пола. У индивидов с кариотипом 46,XY наблюдается женский фенотип с персистенцией мюллеровых протоков, а также нефропатией. Степень тяжести нефропатии варьирует.

Кампомелическая дисплазия (MIM 114290) характеризуется нарушениями опорно-двигательной системы и сопровождается искривлением нижних конечностей, лицевыми дисморфиями, маленьким размером грудной клетки, наблюдает-

ся трахеобронхомаляция. Среди индивидов с кампомелической дисплазией отмечают высокую частоту встречаемости случаев реверсии пола (пациенты женского пола с кариотипом 46,XY). Цитогенетический анализ выявил у некоторых пациентов с кампомелической дисплазией хромосомные аномалии, в которых задействован участок длинного плеча хромосомы 17. Это позволило установить, что ген *SOX9*, картированный в участке 17q24.3-25.1, ответственен за указанное патологическое состояние. У пациентов женского пола с кариотипом 46,XY и кампомелической дисплазией выявлены мутации гена *SOX9*, ведущие к потере его функции, что свидетельствует о критической роли гена *SOX9* в детерминации пола. Наряду с этими случаями описана кампомелическая дисплазия без реверсии пола.

Таким образом, нарушения генов, ответственных за детерминацию пола, ведут к полной или частичной гонадальной дисгенезии (Е.А. Беникова и др., 1993; В.Б. Черных и Л.Ф. Курило, 2001а). Однако в большинстве случаев гонадальной дисгенезии у индивидов с кариотипом 46,XY генная мутация отсутствует. Выявление и характеристика новых, не известных на сегодня генов, задействованных в детерминации пола, имеет большое значение для постановки диагноза, выбора тактики лечения и медико-генетического консультирования пациентов.

Половая дифференцировка является сложным процессом, который зависит от генетического и гормонального факторов (Parker et al., 1999; Nef and Parada, 2000; Park and Jameson, 2005). Переход от бипотенциальной гонады к развитию яичек опосредован действием аутосомных и гоносомных генов, благодаря которому про-

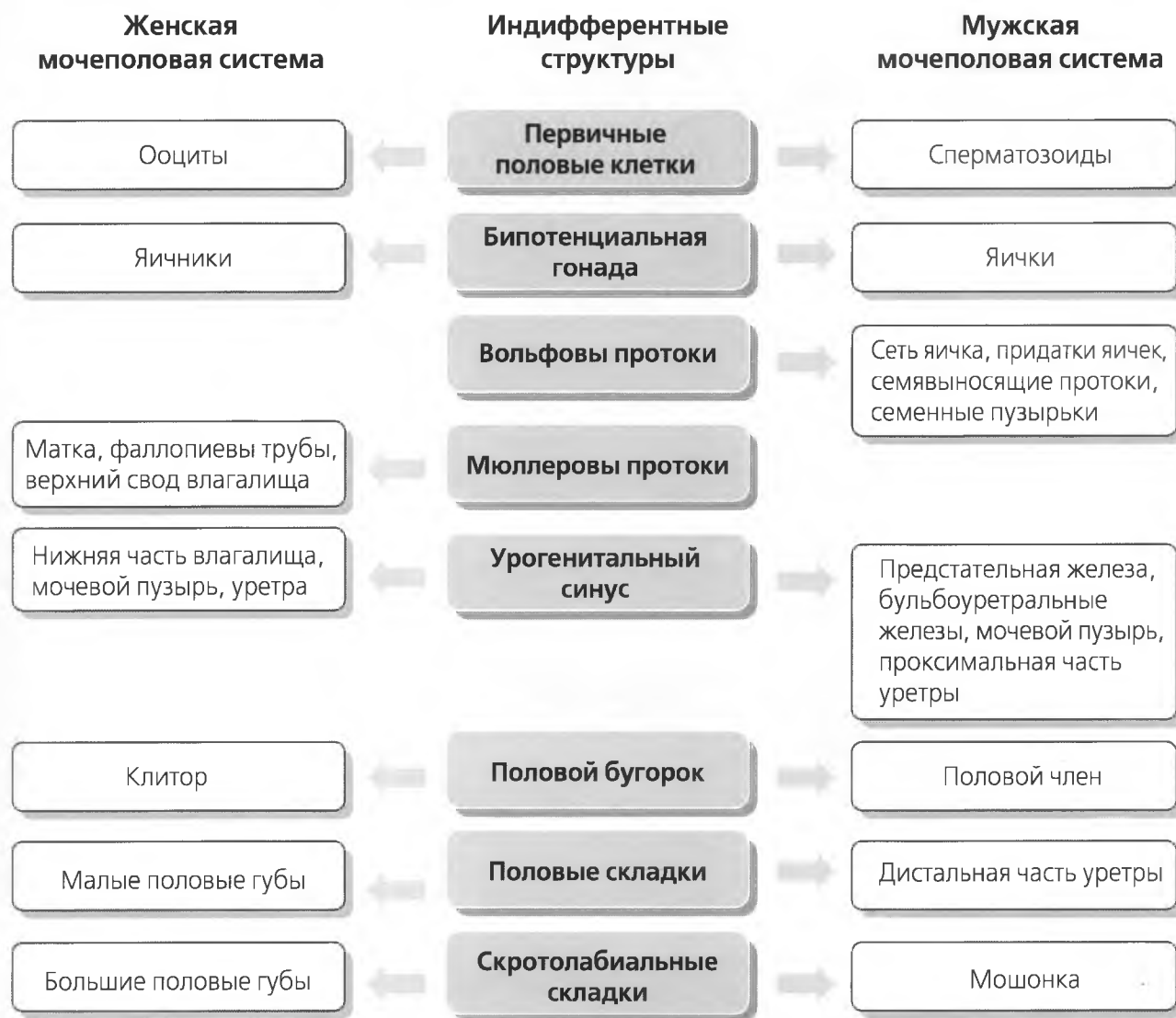


Рис. 2.18. Дифференцировка структур мочеполовой системы у человека

исходит не только процесс развития яичек, но и развитие и дифференцировка внутренних и наружных половых органов, а также начало сперматогенеза. До конца 6-й недели эмбрионального развития мочеполовая система остается бипотенциальной и состоит из гонад, примордиальных половых клеток, вольфовых протоков (мезонефрос) и мюллеровых протоков (парамезонефрос) (рис. 2.18).

Процесс половой дифференцировки у эмбрионов мужского пола инициируется с началом экспрессии гена *SRY*, а дальнейшая детерминация и развитие яичек требуют взаимодействия комплексного каскада генов *SRY*, *WT1*, *SOX9*.

Под контролем хромосомы Y, а именно гена

SRY, происходит развитие яичек, формирование семенных канальцев, выстланных предшественниками клеток Сертоли, в которых находятся гоноциты – проспериогонии. До конца 9-й недели мезенхима, разделяющая зачатки семенных канальцев, дает начало интерстициальным клеткам, которые дифференцируются в клетки Лейдига. Таким образом, яички формируются из двух различных типов клеток и содержат семенные канальцы с клетками Сертоли и гоноцитами, а также интерстициальную ткань с клетками Лейдига.

На рис. 2.19 представлена дифференцировка мужских и женских внутренних и наружных половых органов в ходе эмбрионального развития.

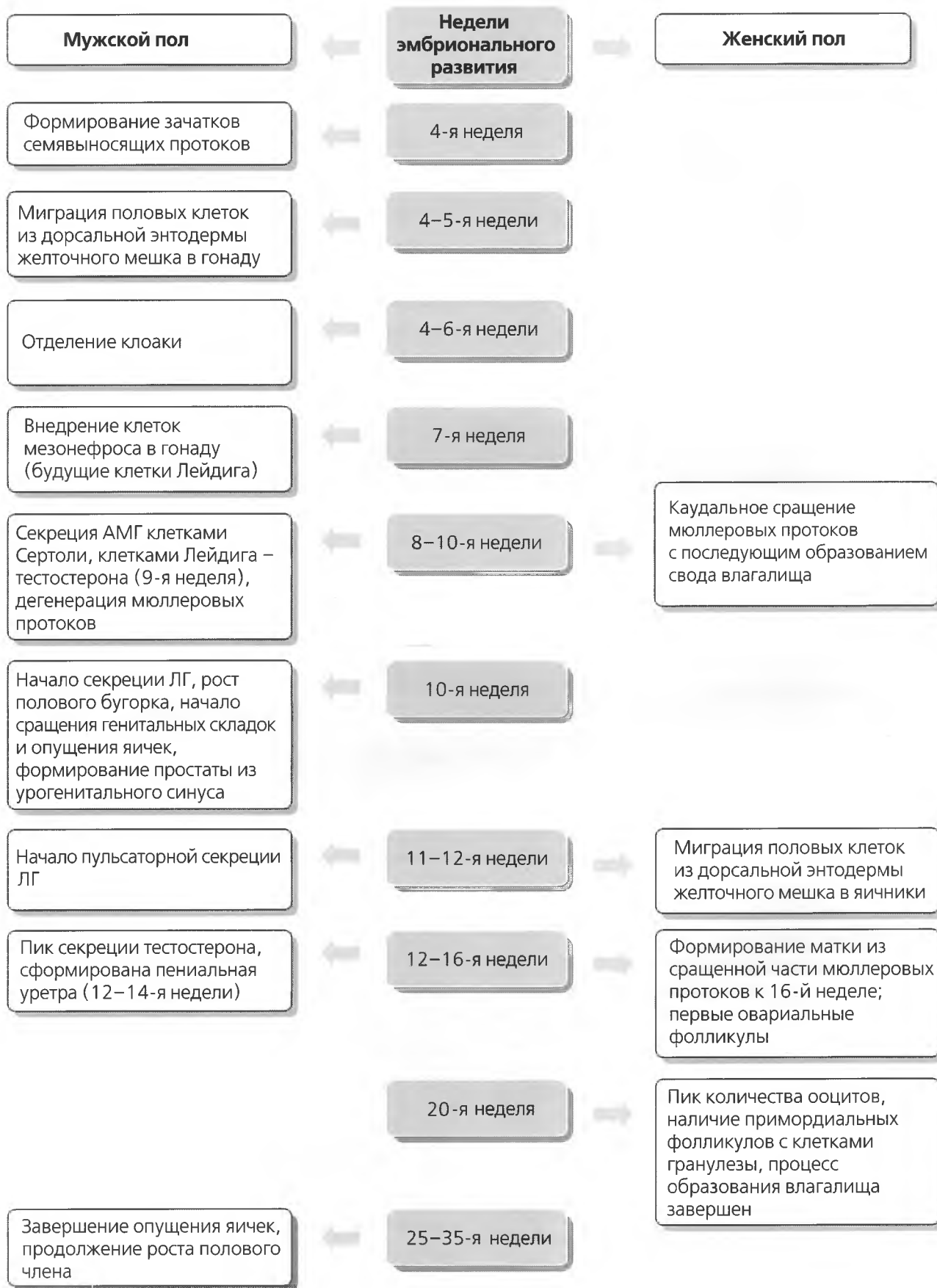


Рис. 2.19. Этапы половой дифференцировки мужских и женских внутренних и наружных половых органов в ходе эмбрионального развития

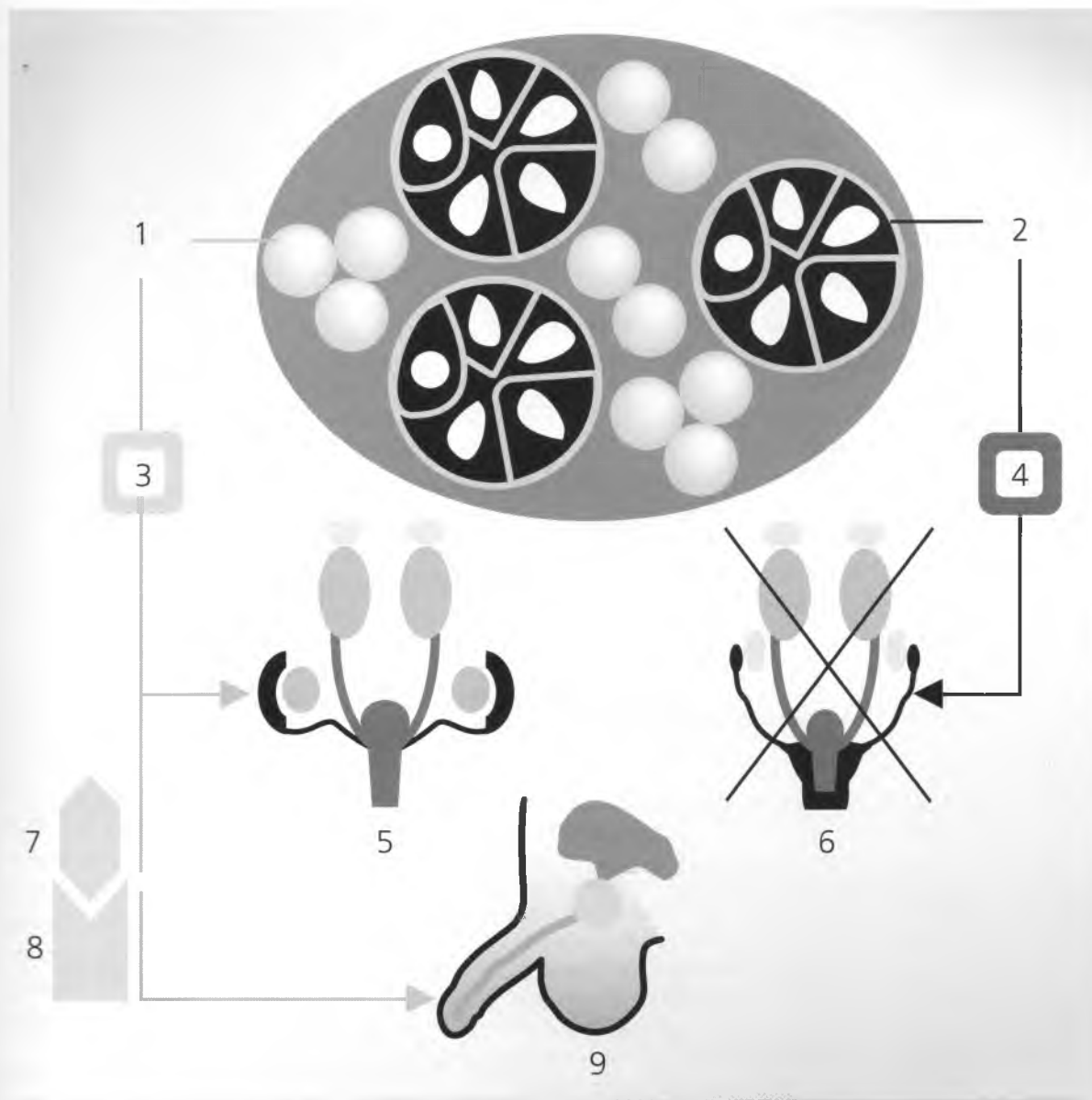


Рис. 2.20. Функция тестостерона и АМГ во время внутриутробного развития:

- 1 – клетки Лейдига; 2 – клетки Сертоли; 3 – тестостерон; 4 – АМГ;
- 5 – развитие вольфовых протоков; 6 – регрессия мюллеровых протоков;
- 7 – дигидротестостерон; 8 – андрогенный рецептор;
- 9 – развитие наружных половых органов по мужскому типу.

Клетки Лейдига и клетки Сертоли начинают вырабатывать гормоны, необходимые для дальнейшей половой дифференцировки – развития мужских внутренних и наружных половых органов (**рис. 2.20**).

В клетках Лейдига происходит выработка стероидных гормонов – тестостерона и дигидротестостерона, действие которых необходимо для дифференцировки вольфовых протоков в придатки яичек, семявыносящие протоки, семенные пузырьки. Дифференцировка мужских наружных по-

ловых органов также находится под контролем андрогенов (тестостерона), что было доказано при наблюдении пациентов с реверсией пола, для которых характерен дефицит этого фермента.

Выработка АМГ начинается на 8-й неделе развития плода мужского пола и необходима для регрессии мюллеровых протоков, которые в эмбрионах женского пола дают начало развитию матки, фаллопиевых труб и верхнего свода влагалища.

Следующим этапом после завершения

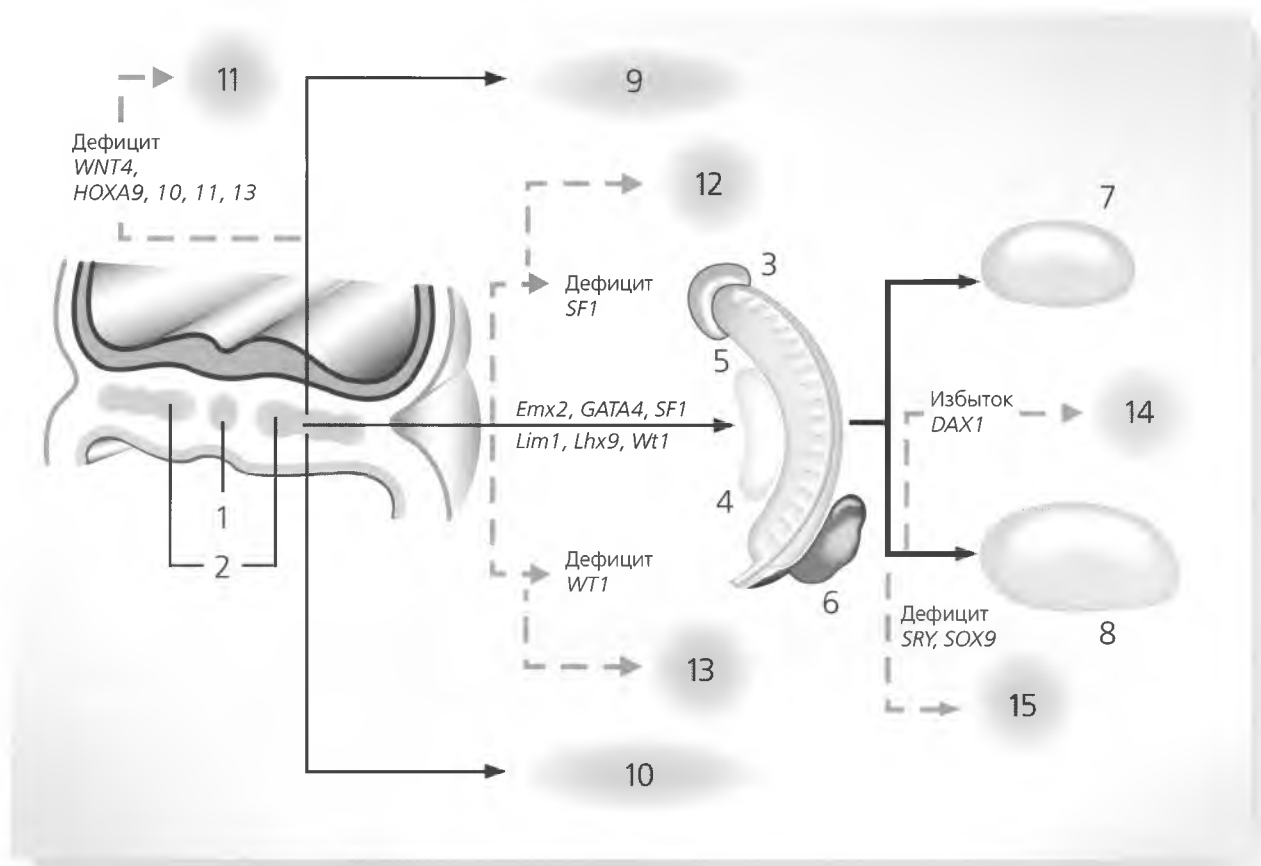


Рис. 2.21. Генетическая регуляция половой дифференцировки
(цит. по McLaughlin and Donahoe, 2004):

- 1 – нотохорд; 2 – промежуточная мезодерма; 3 – урогенитальный гребень;
4 – гонада; 5 – надпочечник; 6 – почка; 7 – яичник; 8 – яичко; 9 – производные мюллеровых протоков; 10 – производные вольфовых протоков;
11 – агенезия мюллеровых протоков; 12 – агенезия гонад и надпочечников;
13 – агенезия почек и гонад; 14 – смешанная гонадальная дисгенезия;
15 – истинная гонадальная дисгенезия.

дифференцировки пола является фенотипическая дифференцировка, в ходе которой существенную роль играет гипоталамо-гипофизарно-гонадная регуляция выработки стероидных гормонов. Половое созревание может рассматриваться как вторая фаза половой дифференцировки.

Таким образом, развитие половой системы обусловлено интеграцией двух процессов – дифференцировки гонад и функционирования гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы. Современные молекулярные исследования позволяют изучать экспрессию генов, задействованных в половой дифференцировке и гормональной регуляции (**рис. 2.21**).

АМГ, или фактор регрессии мюллеровых протоков, мюллерова ингибирующая суб-

станция, синтезируется клетками Сертоли с момента начала половой дифференцировки у эмбриона и сохраняет высокий уровень секреции до начала пубертатного периода, затем секреция резко подавляется. Низкий уровень продуцирования АМГ сохраняется у мужчины во взрослом возрасте.

АМГ наряду с тестостероном является ключевым гормоном в дифференцировке пола по мужскому типу (В.Б. Черных и Л.Ф. Курило, 2001в; Lane and Lee, 1999; Teixeira et al., 2001). Секреция АМГ инициируется непосредственно после начала дифференцировки гонад по мужскому типу на 6-й неделе эмбрионального развития (Taguchi et al., 1984; Oppelt et al., 2005).

Воздействуя на клетки-мишени, АМГ вызывает регрессию мюллеровых протоков

до конца 9-й недели эмбрионального развития и играет важную роль в развитии яичек, созревании половых клеток. Нарушение реализации биологической функции АМГ на любом этапе АМГ-сигнального пути может приводить к развитию синдрома персистенции мюллеровых протоков, который рассмотрен ниже. Для мальчиков с крипторхизмом и детей с интерсексуальными состояниями характерен аномально низкий уровень концентрации АМГ в сыворотке крови (Oppelt et al., 2005).

АМГ представляет собой гомодимер, гликопротеид молекулярной массой около 145 кДа и содержит высококонсервативный биологически активный GC-богатый домен, который имеет структурную гомологию с функциональными доменами белков семейства трансформирующего фактора роста β у человека.

Действие АМГ реализуется путем связывания его с АМГ-рецепторным комплексом с последующей активацией. АМГ-рецепторный комплекс состоит из двух рецепторов: главного рецептора (АМГ-рецептор II типа) и корецептора (АМГ-рецептор I типа). Оба рецептора являются трансмембранными серин/треониновыми киназами с одним трансмембранным доменом и имеют структурную гомологию с рецепторами трансформирующего фактора роста β .

Первоначально АМГ связывается с АМГ-рецептором II типа, активируя его. АМГ-рецептор II типа, в свою очередь, активирует корецептор, фосфорилируя его. В процессе половой дифференцировки ген **AMH** (anti-Mullerian hormone) (MIM 600957) опосредованно активируется геном **SRY**, так как промотор гена **AMH** содержит **SRY**-распознающий сайт, с которым связывается консенсусная **SRY**-последовательность (AACAAT/A), что было продемонстрировано в условиях *in vitro*. В свою очередь гены **SF1** и **SOX9** синергично активируют промотор гена **AMH**, причем ген **SOX9** в большей степени действует как качественный активатор, а **SF1** – как количественный регулятор экспрессии гена **AMH**. В активации **AMH** участвуют также гены **WT1** и **GATA4** (Arango et al., 1999; Tremblay and Viger, 1999; Warne and Kanumakala, 2002). Нарушения реализации биологической функции

АМГ могут происходить на любом этапе АМГ-сигнального пути, обуславливая развитие синдрома персистенции мюллеровых протоков. Возможны следующие нарушения биологической функции АМГ: отсутствие АМГ или снижение его секреции в клетках Сертоли, низкая активность секретируемого гормона, отсутствие АМГ-рецептора или его сниженная активность.

Таким образом, к возникновению синдрома персистенции мюллеровых протоков приводят как мутации в гене **AMH**, так и мутации, нарушающие функцию АМГ-рецептора.

Ген, кодирующий АМГ, картирован в участке p13.3 хромосомы 19, содержит пять экзонов и кодирует димерный гликопротеид, состоящий из 560 аминокислотных остатков, его размер составляет около 3 тыс п.н. (Cate et al., 1986; Picard et al., 1986; Teixeira et al., 2001).

Ген, кодирующий АМГ-рецептор I, точно не установлен.

АМГ-рецептор II типа кодируется геном **AMHR2**, который локализован в участке q13 хромосомы 12, состоит из 11 экзонов, при этом экзоны 1-3 кодируют сигнальный и внеклеточный домены, экзон 4 – трансмембранный, экзоны 5-11 – внутриклеточный домен (Imbeaud et al., 1995).

Кроме мезенхимных клеток мюллеровых протоков, экспрессия гена **AMH** обнаружена в клетках Сертоли яичек и клетках гранулезы яичников. Этот факт предполагает возможность аутокринного действия АМГ на эти клетки.

Исследования мутаций в гене **AMH** и гене **AMHR2** показали, что первые три экзона гена **AMH** наиболее предрасположены к возникновению мутаций. Также были выявлены точковые мутации в гене **AMHR2** (экзон 1, 3'-концевая половина экзона 5). Существует предположение, что эти участки являются "горячими точками" мутаций, включая короткие делеции и миссенс-мутации.

Ген **DAX1** (DSS-AHC critical region on the X chromosome 1, gene 1) (MIM 300473) картирован в коротком плече (p21.2-21.3) хромосомы X, экспрессируется в половых валиках в критический для половой диф-

ференцировки период (Bardoni et al., 1994). Экспрессия гена *DAX1* отмечена также в гипоталамусе, гипофизе и коре надпочечников. Мутации в гене выявляют у пациентов с гипогонадотропным гипогонадизмом при врожденной гипоплазии коры надпочечников.

У пациентов с мутациями гена *DAX1* при гистологическом анализе яичка наблюдают отсутствие половых клеток и незрелые клетки Сертоли, что позволяет предположить, что *DAX1* играет важную роль в функционировании клеток Сертоли. В случаях дупликации сегмента p21 хромосомы X у индивидов с кариотипом 46,XY наблюдается реверсия пола. Состояние наличия двух активных копий Xp21 называют доза-чувствительной реверсией пола (dosage-sensitive sex reversal – DSS). В то же время делеция DSS-локуса приводит к X-сцепленной форме врожденной гипоплазии коры надпочечников. У женщин ген *DAX1* отвечает за развитие яичников, тогда как у мужчин его действие репрессируется. Экспрессия гена *DAX1* может ингибироваться в тканях яичка, не препятствуя его формированию. Персистентность экспрессии *DAX1* у плодов с кариотипом 46,XX соответствует его функции в формировании яичников. При наличии двойной дозы *DAX1* у XY-индивидов с тандемной дупликацией DSS-АНС критического района хромосомы X ингибирование экспрессии *DAX1* может быть неполным, что обеспечивает инициацию развития яичников и препятствует развитию яичек, обуславливая XY-реверсию пола.

Исследования с использованием модельных систем позволили установить роль гена *SRY* в подавлении экспрессии *DAX1* у эмбрионов мужского пола. Эксперименты на трансгенных XY мышцах, носителях дополнительных копий *Dax1*, свидетельствуют о том, что *Dax1* может противостоять действию *Sry*. Отсутствие реверсии пола у мышечной, носителей "правильной" хромосомы Y, может быть вызвано не только природой модельной системы, но и тем фактом, что механизмы детерминации пола на молекулярном уровне развиваются быстро, а также наличием одного или более дополнительных генов в DSS-АНС критическом районе хромосомы X, действующих совместно (синергизм) с *DAX1*. Также на модель-

ных системах было показано, что ген *Dax1* может ингибировать экспрессию ряда генов. Начало экспрессии гена *DAX1* совпадает с активацией гена *SRY*, однако активация последнего приводит к подавлению экспрессии гена *DAX1* (явление коэкспрессии). В промоторной части гена *DAX1* расположен сайт, распознающий ген *SF1*.

Помимо перечисленных генов, в половой дифференцировке задействованы и другие гены, от функционирования которых зависит нормальное развитие репродуктивной системы, в том числе ген *CFTR*. Ген **CFTR** (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) (MIM 602421) отвечает за трансмембранный белок хлорных каналов. У носителей мутации в гомозиготном состоянии наблюдается муковисцидоз. Ген размером 250 тыс п.н. картирован в длинном плече хромосомы 7 (7q31) и содержит 27 экзонов (Zielenski et al., 1991a). У мужчин, носителей мутантного гена в сочетании с T-аллелем гена *CFTR*, могут наблюдаться аномалии придатков яичек, а именно двустороннее отсутствие семявыносящих протоков, что обуславливает азооспермию. Адекватное функционирование трансмембранного белка, кодируемого геном *CFTR*, необходимо для нормального функционирования репродуктивной системы у мужчины.

Рассмотрим синдромы и патологические состояния, обусловленные мутациями генов, задействованных в дифференцировке пола.

Детерминация пола и последующая половая дифференцировка представляют сложные процессы, включающие взаимодействие генов, метаболические пути синтеза стероидных гормонов и активацию генов, а также регуляцию гормонов путем взаимодействия лигандов с соответствующими рецепторами. Мутация одного из генов, участвующих в этом комплексном процессе, приводит к фенотипическим изменениям. Эти гены картированы как на аутосомах, так и на гоносомах, поэтому можно проследить Y-сцепленные (ген *SRY*), X-сцепленные (ген *DAX1*), аутосомно-рецессивные и аутосомно-доминантные заболевания. Большинство мутаций возникают *de novo*, поскольку пораженные индивиды бесплодны.

Нарушения реализации биологической функции АМГ на любом этапе АМГ-сигнального пути могут приводить к развитию синдрома персистенции мюллеровых протоков. Причины нарушений АМГ-сигнального пути включают отсутствие или сниженный уровень секреции АМГ в клетках Сертоли, низкую активность секретируемого гормона, отсутствие АМГ-рецептора или его сниженную активность. **Синдром персистенции мюллеровых протоков** (MIM 261550) является редким клиническим состоянием, которое наследуется по аутосомно-рецессивному типу и возникает в результате мутаций в гене, кодирующем АМГ, или в гене, кодирующем рецептор АМГ (Teixeira et al., 2001). Различают два типа синдрома персистенции мюллеровых протоков: синдром персистенции мюллеровых протоков I типа и синдром персистенции мюллеровых протоков II типа.

У мужчин с СПМП I наблюдается наследственная форма ложного гермафродитизма: наружные половые органы развиты нормально по мужскому типу, присутствуют производные мюллеровых протоков, наблюдается односторонний крипторхизм в сочетании с врожденной паховой грыжей с противоположной стороны. При удалении грыжи у таких пациентов в грыжевом мешке обнаруживают гипоплазированную (рудиментарную) матку с фаллопиевыми трубами – производные мюллеровых протоков.

Реже встречается вторая форма синдрома (СПМП II), при которой матка располагается в области малого таза, оба нормально дифференцированных яичка находятся в ее широкой связке и при отсутствии крипторхизма содержат половые клетки. Другие соматические симптомы отсутствуют, кроме редких случаев развития опухоли яичка, аденокарциномы толстой кишки, рака щитовидной железы.

Женщины, гомозиготные носительницы мутаций в гене *AMH*, имеют нормально развитые наружные и внутренние половые органы, репродуктивная функция у них не нарушена.

Данные о типах мутаций и частоте их встречаемости у мужчин с СПМП свидетельствуют о том, что наиболее распространена (мажорная мутация) делеция 27 п.н. в экзоне 10, ко-

торая в 42% случаев встречается в гомозиготном состоянии, а в 58% случаев сочетается с миссенс-мутацией (Imbeaud et al., 1994, 1996). Если не учитывать эту мажорную мутацию, то 42% всех мутаций при СПМП приходится на *AMH*, а 33% – на ген, кодирующий рецептор АМГ. Возможно, что остальные 23% – мутации других генов, которые ответственны за передачу АМГ-сигнала.

При дифференциальной диагностике анорхизма и неопущения яичек у мальчиков с двусторонним крипторхизмом измеряют концентрацию АМГ в сыворотке крови.

Как известно, обструктивная азооспермия в 25% случаев является следствием одностороннего или двустороннего врожденного отсутствия семявыносящих протоков (**СBAVD**) (MIM 277180). Врожденное отсутствие семявыносящего протока может быть изолированным пороком (без муковисцидоза), являясь одной из причин обструктивной азооспермии примерно у 1,5% бесплодных мужчин (Jequier et al., 1985; Culard et al., 1994; De Braekeleer and Ferec, 1996; Wong, 1998; Dohle et al., 1999; Jezequel et al., 2000; Lewis-Jones et al., 2000; McCallum et al., 2001; Jarzabek et al., 2004). Эта аномалия возникает на уровне половой дифференцировки, когда вольфовы протоки дифференцируются в семявыносящий проток мошонки и дистальную часть придатка. Двустороннее или одностороннее отсутствие семявыносящего протока также может быть одним из проявлений муковисцидоза (Anguiano et al., 1992; Oates and Amos, 1994; Viel et al., 2005).

Муковисцидоз (MIM 219700) – одно из распространенных аутосомно-рецессивных заболеваний, этиологическим фактором которого являются наследственные мутации в гене *CFTR* (Н.М. Гусак и др., 1996; Н.Г. Горовенко и др., 2000; Williams et al., 1993; Rave-Harel et al., 1995; Kerem and Kerem, 1996). Для этого гена характерно большое количество мутаций (>1000) и полиморфных вариантов (>300), распространенных преимущественно среди европейцев с частотой от 1/2000-2500 до 1/29 новорожденных (Zielensky et al., 1991б,в).

Наличие мутаций в обеих копиях гена *CFTR* ведет к развитию тяжелого системного заболевания – муковисцидоза, кото-

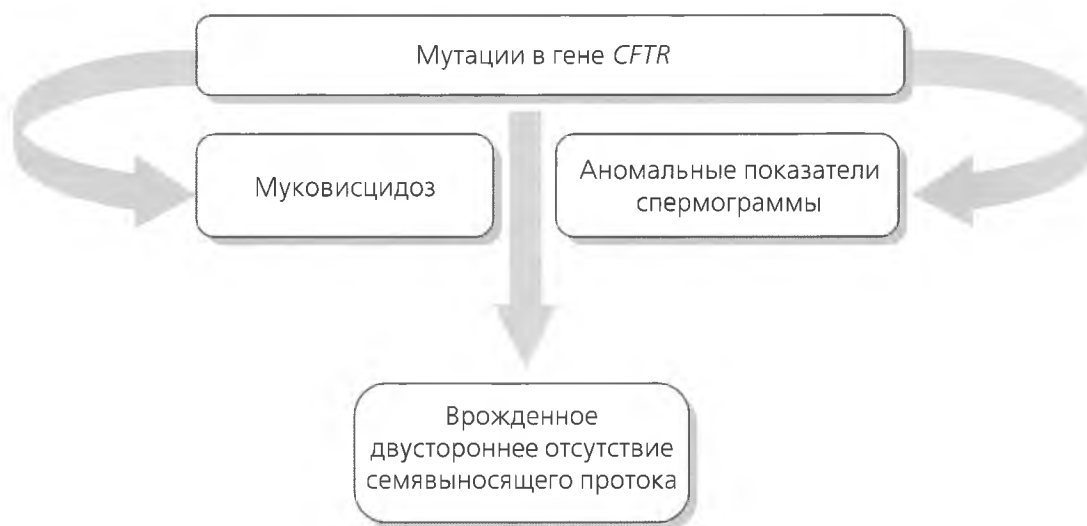


Рис. 2.22. Последствия мутации в гене *CFTR*

рый поражает весь организм, в первую очередь органы пищеварительной и дыхательной систем.

При наличии мутации в одной копии гена у мужчины наблюдают двустороннее или одностороннее отсутствие семявыносящих протоков, что является причиной обструктивной азооспермии и, соответственно, бесплодия (рис. 2.22).

При муковисцидозе и врожденном двустороннем отсутствии семявыносящего протока наиболее распространены мутации $\Delta F508$ и $W1281X$ (Г.В. Макух и др., 2004; Costes et al., 1995; Wong, 1998).

Для выявления мутации в гене *CFTR* мужчинам с идиопатическим бесплодием рекомендовано проведение генетического исследования перед использованием ВРТ.

Крипторхизм (нарушение опущения яичек) (MIM 219050) – наиболее распространенный врожденный дефект мочеполовой системы, который наблюдается у 1-4% новорожденных мальчиков (Ivell and Hartung, 2003). Хирургическую коррекцию крипторхизма (орхиопексию) необходимо проводить как можно раньше после рождения с целью снижения риска возникновения бесплодия и рака яичка во взрослом возрасте.

В большинстве случаев этиология крипторхизма остается неизвестной, что обуслов-

лено недостатком информации о механизмах, регулирующих опущение яичек из брюшной полости в мошонку во время эмбриогенеза. Осуществление этого сложного многоэтапного процесса требует взаимодействия анатомических и гормональных факторов и включает две основные фазы – трансабдоминальное и пахово-мошоночное опущение. В процессе опущения яичек существенную роль играют андрогены и АМГ, свидетельством чего является факт наличия крипторхизма при врожденных патологических состояниях, вызванных нечувствительностью к андрогенам.

Как и другие аномалии половых органов, крипторхизм может быть обусловлен генетическим фактором. Исследования на модельных системах, в частности на мышах, позволили выделить гены, кандидаты на роль этиологических факторов крипторхизма, первым из них был выявлен ген *InsI3* (insulin-like factor 3) (Nef and Parada, 1999). Исследования указанного патологического состояния у человека на молекулярном уровне также свидетельствуют о критической роли генов *INSI3* и *GREAT/LGR8* (ген, кодирующий белок рецептора INSL3) (Ferlin et al., 2003б; Foresta and Ferlin, 2004; Foresta et al., 2004; Bogatcheva and Agoulnik, 2005; Ferlin et al., 2006). Генетический анализ позволил выявить в гене ***GREAT/LGR8*** (leucine-rich

repeat-containing G protein-coupled receptor 8) (MIM 606655) несколько функциональных мутаций (делеции), некоторые из них сегрегируют в семье (Foresta and Ferlin, 2004; Bogatcheva and AgoulNIK, 2005; Ferlin et al., 2006).

Ген **INSL3** (insulin-like 3) (MIM 146738) – член relaxin-insulin семейства генов, экспрессируется в клетках Лейдига яичек в пре- и постнатальном периодах и в меньшем количестве – в клетках теки яичников в постнатальном периоде. В настоящее время проводятся исследования по выявлению связи между нарушениями гена **INSL3** и возникновением бесплодия, а также рака яичек (Ferlin et al., 2006).

Также мутации в генах, задействованных в детерминации пола и половой дифференцировке, приводят к нарушению развития внутренних и наружных половых органов и **интерсексуальным состояниям**.

Определить пол индивида с интерсексуальным состоянием зачастую бывает очень сложно: наружные гениталии по строению могут приближаться к женским с большим клитором или некоторым сращением задней части половых губ; на другом конце спектра вариабельности находятся индивиды практически мужского пола с микропенией, с гипоспадией или без нее; наружные гениталии также могут иметь двойственное строение и визуализируются в виде большого клитора либо маленького полового члена.

Реверсия пола у человека означает несоответствие между генотипическим и фенотипическим полом. Интерсексуальные состояния можно подразделить на две категории реверсии пола: первая – гонадальная дисгенезия – у индивидов мужского пола с кариотипом 46,XX или индивидов женского пола с кариотипом 46,XY; вторая – частичная гонадальная дисгенезия – у индивидов с кариотипом 46,XY или 46,XX истинных гермафродитов. Аномалии детерминации пола, обуславливающие реверсию пола, возникают с частотой 1/15 000 новорожденных, среди них наиболее часто встречается XY женская реверсия пола (XY female sex reversal). Для полного дисгенеза характерно наличие

женских наружных гениталий, развитых мюллеровых структур (верхний свод влагалища, матка, фаллопиевы трубы), тяжелых или фиброзных яичников или же частичная маскулинизация наружных гениталий – увеличенный клитор с половыми губами, напоминающими мошонку. При частичной гонадальной дисгенезии также наблюдается сочетание мюллеровых и вольфовых протоков наряду с частичной дифференцировкой яичек в тяжелые структуры. У истинных гермафродитов присутствует как овариальная, так и тестикулярная ткань.

Частота возникновения случаев двойственного строения гениталий составляет 1/4200 новорожденных. Нарушения половой дифференцировки выявляют в следующих группах пациентов:

- новорожденные с двойственными гениталиями;
- женщины, носительницы материала хромосомы Y;
- XX женщины с агенезией мюллеровых протоков (влагалище и матка отсутствуют) – синдром Майера–Рокитанского–Кюстера–Хаузера;
- мужчины с наличием матки при кариотипе 46,XY (синдром персистенции мюллеровых протоков);
- мужчины с кариотипом 46,XX.

Мужчин с нарушениями половой дифференцировки можно подразделить на пять групп: гонадальная дисгенезия (кариотип 46,XY, верифицируют билатеральные гонадные тяжи); частичная тестикулярная дисгенезия (кариотип 46,XY, верифицируют билатеральная дисгенезия яичек), известный также как дисгенетический мужской псевдогермафродитизм; асимметричная дифференцировка гонад (одно яичко и один гонадный тяж), известная как смешанная гонадальная дисгенезия; истинный гермафродитизм (присутствуют ткани яичка и яичника); мужчина с кариотипом 46,XX (наружные половые органы сформированы по мужскому типу, яички расположены в мошонке) (**рис. 2.23**).

Таким образом, на сегодня известно лишь ограниченное число генов, которые принимают участие в детерминации пола и половой дифференцировке. Молеку-

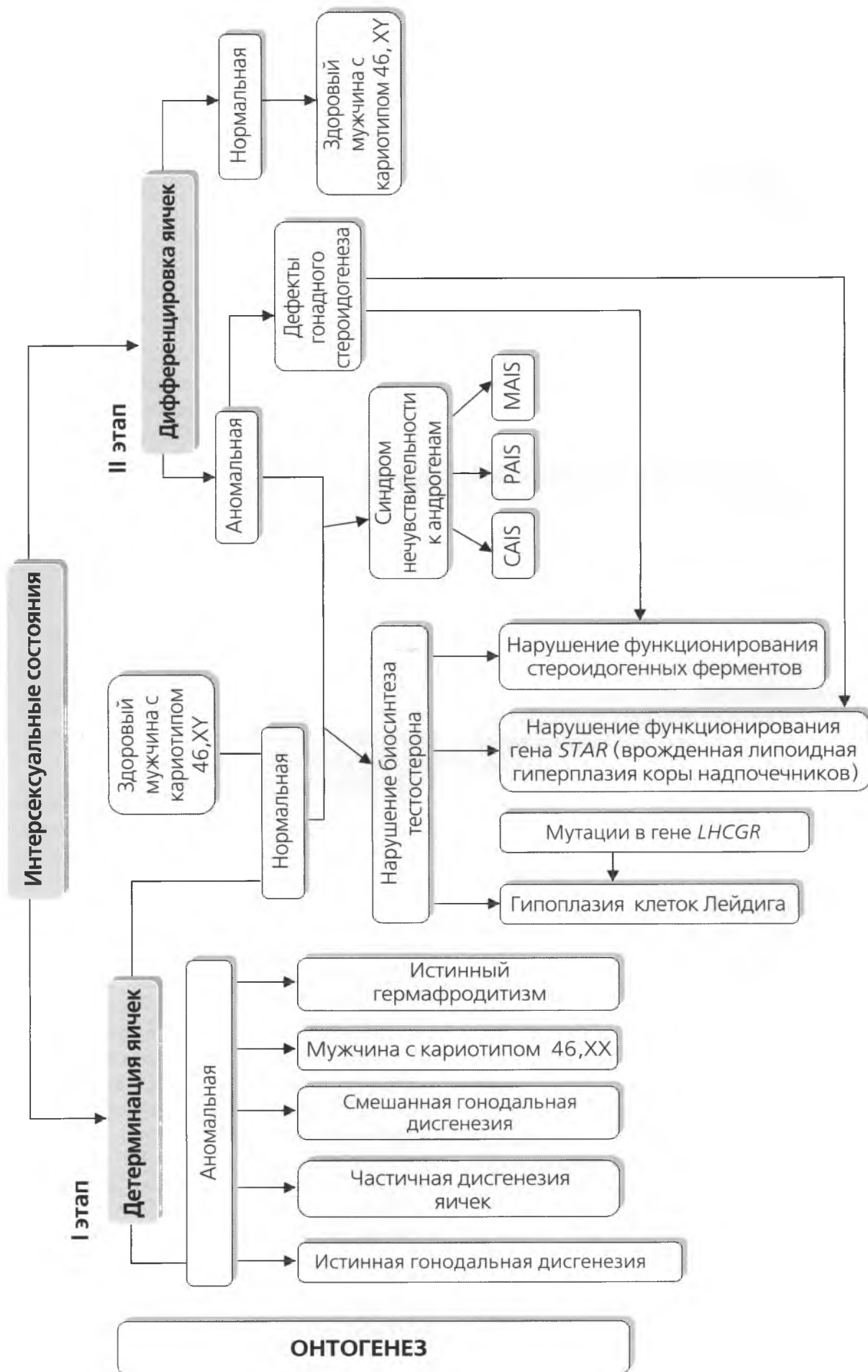


Рис. 2.23. Механизмы возникновения интерсексуальных состояний

лярные и клеточные механизмы действия этих генов в большинстве своем остаются неизвестными. Дальнейшие исследования, в том числе с использованием трансгенных животных, позволят

раскрыть механизмы функционирования генов в каскаде событий, определяющих детерминацию пола.

2.7. Генетические аспекты нарушений гипоталамо-гипофизарно-гонадной регуляции репродуктивной системы у мужчин

Функционирование половой системы, в том числе половое созревание и гаметогенез, находится под контролем гипоталамо-гипофизарно-гонадного тракта. Для успешной реализации функций репродуктивной системы необходима экспрессия целой группы генов, которые кодируют гормоны гипоталамуса, гипофиза и гонад, а также их рецепторы (А.В. Коптева и др., 2000; В.Б. Черных и Л.Ф. Курило, 2001б). Генетические механизмы функционирования гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы расшифрованы, а выявление и идентификация мутаций в соответствующих генах дают возможность объяснить возникновение и развитие того или иного патологического состояния. Бесплодие может быть обусловлено различными типами мутаций, делеций, полиморфных экспансий в регуляторных генах, ответственных за биосинтез гормонов, факторов роста и андрогенных рецепторов.

Мутации в генах, кодирующих гормоны гипоталамо-гипофизарно-гонадного тракта, могут приводить к необратимым последствиям, от бесплодия до патологических состояний, которые объединяются терминами "мужской псевдогермафродитизм", "гипогонадотропный гипогонадизм". Знания о мутациях в этих генах и их выявление обеспечивают своевременную диагностику, а также расшифровку механизмов развития патологического состояния, что имеет первостепенное значение при проведении медико-генетического консультирования и лечения.

Рассмотрим механизмы гормональной регуляции гипоталамо-гипофизарно-гонадного тракта.

Нормальное развитие половой системы и ее функционирование зависят от сложной скоординированной работы гипоталамуса, гипофиза и гонад. Ключевым звеном гормональной регуляции являются подкорковые образования и гипоталамус, который осуществляет взаимосвязь между центральной нервной системой, гипофизом и

половыми железами. Адекватная выработка спермы в яичках зависит от полноценного функционирования системы гипоталамус–гипофиз–гонады. Получая информацию от центральной нервной системы и яичек, гипоталамус регулирует секрецию ГнРГ, который продуцируется гипоталамусом пульсаторно и каждые 70-90 мин поступает в портальный кровоток, достигая передней доли гипофиза. В гипофизе содержатся клетки-гонадотропы, в мембранах которых расположены рецепторы ГнРГ. Эти клетки являются необходимым звеном в стимуляции синтеза и секреции ключевых гормонов гипоталамо-гипофизарно-гонадного тракта – гонадотропных гормонов гипофиза (ЛГ и ФСГ). Механизм действия ЛГ и ФСГ основан на процессе связывания гормонов с рецепторами клеточных мембран и запускает цепь следующих реакций: активацию аденилатциклазы, образование внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата, активацию протеинкиназ, фосфорилирование ядерных белков на уровне транскрипции, синтез необходимых белков в клетках органов-мишеней.

ЛГ и ФСГ образуются в базофильных клетках передней доли гипофиза и секретуются в импульсном режиме в ответ на пульсаторную выработку ГнРГ. С током крови оба гормона поступают в яички и регулируют синтез и секрецию мужских половых гормонов, а также образование половых клеток (сперматогенез).

Как известно, к половым гормонам относятся АМГ, андрогены (тестостерон и дигидротестостерон), эстрогены (эстрадиол, эстрон, эстриол и др.). ЛГ стимулирует синтез и секрецию тестостерона клетками Лейдига, который совместно с ФСГ стимулирует сперматогенез. ФСГ стимулирует развитие семенных канальцев и яичек, а также, воздействуя на клетки Сертоли, активизирует процесс сперматогенеза, способствуя митотическому делению сперматогоний, и необходим для завершения спермиогенеза.

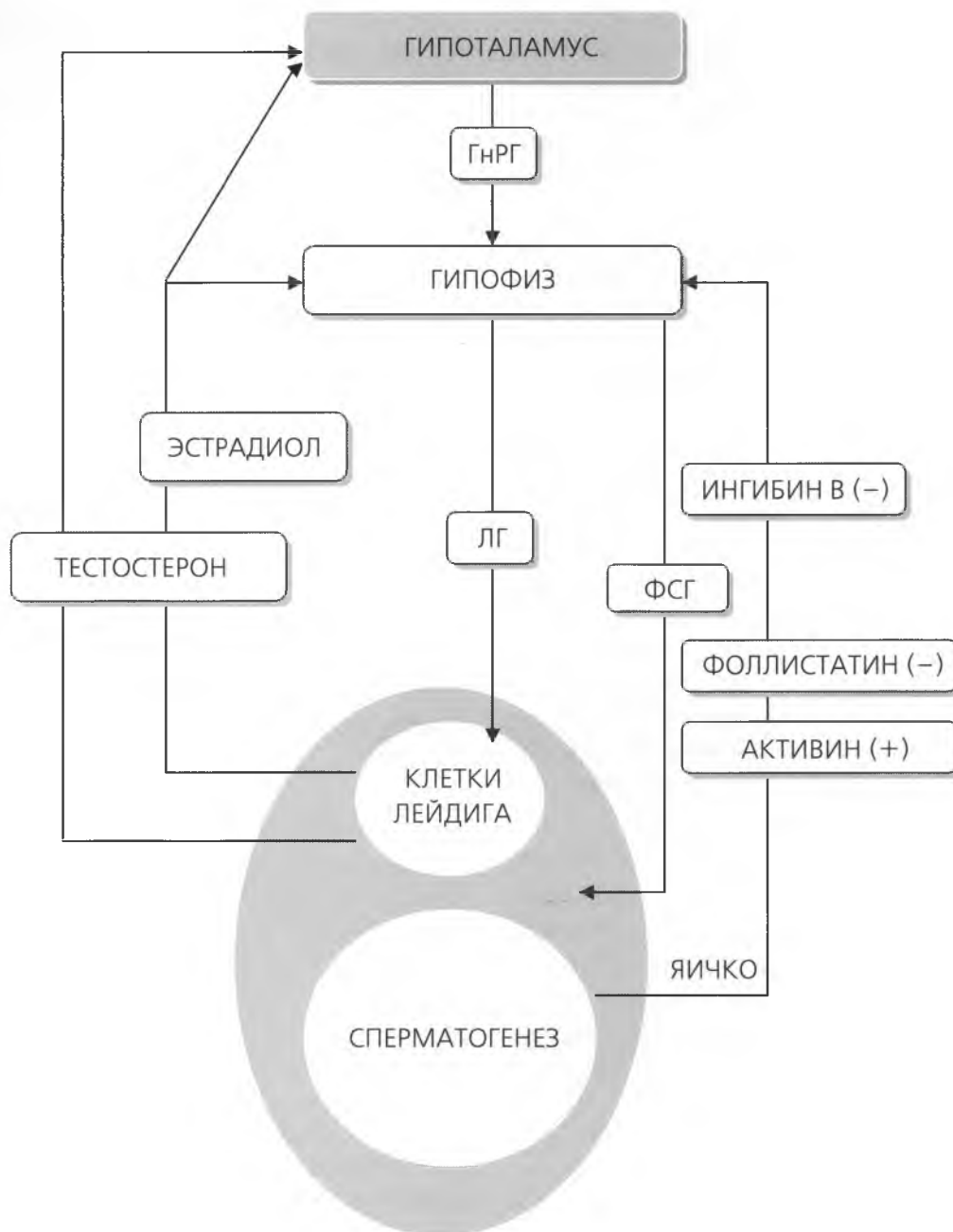


Рис. 2.24. Контроль секреции гонадотропинов половыми стероидными гормонами

Регуляция секреции ФСГ у мужчин представляет собой комплексный сбалансированный процесс, включающий стимуляцию выработки ФСГ гипоталамусом при помощи ГнРГ; ингибирование выработки ФСГ в результате действия стероидных гормонов (тестостерон и эстрогены) и ингибина В по принципу обратной связи; аутокринно-паракринную модуляцию активинном и фоллистатинном в гипофизе (рис. 2.24).

В яичках ЛГ связывается со специфическими рецепторами клеток Лейдига, а ФСГ – с рецепторами клеток Сертоли. Внутрисек-

реторная (гормональная) функция яичек обеспечивается клетками Лейдига, которые располагаются вокруг извитых семенных канальцев. Под влиянием ЛГ происходит индукция стероидогенеза.

Клетки Сертоли расположены в семявыносящих канальцах и отделены от клеток Лейдига базальной мембраной. Продукты клеток Сертоли участвуют в эндокринной регуляции сперматогенеза. Для инициации сперматогенеза необходим тестостерон, а процессы созревания сперматид и, соответственно, образования спермато-

зоидов происходят с участием ФСГ. Основные продукты клеток Сертоли включают АМГ, секретлируемый в эмбриональном периоде; активин, стимулирующий секрецию ФСГ; ингибин, блокирующий секрецию ФСГ. АМГ продуцируется клетками Сертоли и является ключевым гормоном при дифференцировке пола по мужскому типу наряду с тестостероном и гормон-продуцирующими клетками сетчатой зоны коры надпочечников. Активины, как и ингибины, относятся к семейству трансформирующих факторов роста β (TGF β) и вместе с фоллистатином участвуют в регуляции выработки гормонов гипоталамо-гипофизарно-гонадного тракта, а именно в регуляции секреции ФСГ. Ингибин и фоллистатин оказывают подавляющее воздействие (эффект супрессии) на секрецию ФСГ в гипофизе, тогда как активин – стимулирующее воздействие (рис. 2.24). Исследования, проведенные на трансгенных мышах, показали, что изменение действия ингибина, активина и фоллистатина может приводить к нарушению фертильности.

Активин, ингибин и фоллистатин продуцируются не только клетками Сертоли в яичках, но также во многих тканях, где они действуют как аутокринно, так и паракринно (Kumar et al., 2001). Различают три типа активина – А, В и АВ, которые связываются с двумя типами рецепторов (рецептор активина IIA типа – ActRIIA и рецептор активина IIB типа – ActRIIB). Делеция гена, кодирующего рецептор активина IIA типа (ActRIIA), обуславливает снижение фертильности у мужчин и бесплодие у женщин (Achermann and Jameson, 1999; Risbridger and Cancilla, 2000).

Ингибин представляет собой гликопротеин, гетеродимер, белок молекулярной массой 332 кДа, который состоит из α - и одной из двух разных β -субъединиц: β_A -субъединицы (ингибин А) и β_B -субъединицы (ингибин В), связанных между собой дисульфидными мостиками. Главной формой циркулирующего в крови ингибина у мужчин является ингибин В, который служит маркером сперматогенеза (Luisi et al., 2005). Структура ингибина гомологична структуре АМГ.

Ингибин избирательно подавляет высвобождение ФСГ из передней доли гипофиза, не влияет на синтез ЛГ, обладает паракринным действием в гонадах. Концентрация этого гормона в сыворотке крови обратно пропорциональна концентрации ФСГ, поскольку ингибин является отрицательным эндокринным модулятором ФСГ (Anawalt et al., 1996; Hayes et al., 2001; Luisi et al., 2005). Нарушение сперматогенеза сопровождается снижением уровня ингибина и повышением уровня секреции ФСГ. Измерение уровня ингибина в сыворотке крови позволяет оценить функционирование клеток Сертоли и сперматогенез. В норме концентрация ингибина в сыворотке крови постоянна и составляет 480 пг/мл; снижение уровня ингибина свидетельствует о нарушении сперматогенеза и наблюдается у мужчин с бесплодием.

Помимо ЛГ и ФСГ, в передней доле гипофиза секретруется также гормон пролактин, который принимает участие в выработке тестостерона и регуляции жирового обмена. Повышенный уровень пролактина оказывает ингибирующее влияние на секрецию ГнРГ, подавляя, соответственно, секрецию ЛГ и тестостерона, что обуславливает гиперпролактинемический гипогонадизм. Повышенное содержание пролактина в крови (гиперпролактинемия) является следствием ряда заболеваний и патологических состояний и встречается примерно в 40% случаев бесплодия, связанного с нарушением гипоталамо-гипофизарно-гонадного тракта.

Таким образом, при условии полноценного функционирования гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы и нормально-го сперматогенеза уровень содержания гонадотропинов и стероидных гормонов строго контролируется. Нарушения гипоталамо-гипофизарной-гонадной системы приводят к снижению уровня ФСГ, ЛГ и тестостерона, и, соответственно, к снижению выработки сперматозоидов и уменьшению размера яичек. Вместе с тем, неполноценное функционирование клеток Сертоли и Лейдига приводит к повышению концентрации ФСГ и ЛГ по принципу обратной связи.

Идентифицированы различные генетические нарушения на всех уровнях гипоталамо-гипофизарно-гонадного тракта, обуславливающие гипогонадизм. В гипоталамо-гипофизарно-гонадной системе выделяют три ключевых уровня, на каждом из которых мутации генов обуславливают нарушения развития или функционирования репродуктивной системы. Среди наиболее распространенных патологических состояний на уровне гипоталамуса следует выделить нарушение выработки ГнРГ вследствие мутации в гене *KAL1* (синдром Каллманна) и гене *DAX1* (X-сцепленная гипоплазия коры надпочечников и гипогонадотропный гипогонадизм, нарушение сперматогенеза); на уровне гипофиза – мутации в гене, кодирующем β -субъединицу ЛГ (гипогонадотропный гипогонадизм); на уровне яичек – мутации в генах, кодирующих рецепторы ЛГ и ФСГ (гипергонадотропный гипогонадизм), а также мутации в генах, кодирующих андрогены и их рецепторы (Huhtaniemi and Themmen, 2005).

Все гены, которые кодируют гормоны гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы, являются структурными. Известны делеции, точковые и динамические мутации этих генов. Наибольшее количество мутаций выявлено в генах, кодирующих рецепторы ЛГ и ФСГ (Themmen and Huhtaniemi, 2000; Achermann et al., 2001a; Huhtaniemi and Themmen, 2005). Рассмотрим гены, кодирующие ГнРГ, ФСГ, ЛГ, а также гены, кодирующие рецепторы этих гормонов.

ГнРГ является ключевым нейрорегулятором репродуктивного процесса, представляет собой декапептид, синтезируется в гипоталамусе и пульсаторно поступает через кровоток в гонадотропин-синтезирующие клетки передней доли гипофиза, регулируя синтез и секрецию гонадотропинов – ЛГ и ФСГ. Ген, кодирующий ГнРГ (***GNRH1*** – gonadotropin-releasing hormone-1) (MIM 152760), картирован в участке p21-p11.2 хромосомы 8, содержит четыре экзона (Yang-Feng et al., 1986; Weiss et al., 1989). Мутации в указанном гене не выявлены, однако известен полиморфизм, связь которого с клиническими проявлениями не выявля-

на.

Ген, кодирующий ГнРГ-рецептор (***GNRHR*** – gonadotropin-releasing hormone receptor) (MIM 138850), расположен в участке q21.2 хромосомы 4 и содержит три экзона (Kaiser et al., 1994; Kottler et al., 1995). В гене выявлены следующие миссенс-мутации: в одном аллеле произошла замена гуанина на аденин в положении 317 (317G→A), что привело к замене глутамин на аргинин в положении 106 белка, а во втором – замена аденина на гуанин в положении 785 (785A→G), что привело к замене аргинина на глутамин в положении 262 белка (De Roux et al., 1997; Beranova et al., 2001; Millar et al., 2004; Sedlmeyer et al., 2005).

Гонадотропные гормоны, а именно ЛГ, ФСГ, хорионический гонадотропин и тиротропный гормон, относятся к гликопротеиновым гормонам. Все они представляют собой гетеродимеры и характеризуются наличием общей α -субъединицы и уникальной β -субъединицы. Активность каждого гормона проявляется только после объединения α - и β -субъединиц в димер. В настоящее время инактивирующие мутации в гене, кодирующем α -субъединицу, не описаны, тогда как известны редкие случаи мутаций в гене, кодирующем β -субъединицу.

ФСГ и **ЛГ** имеют молекулярную массу 25 кДа, гормональная специфичность каждого из них определяется β -субъединицей. Трансляция генов, кодирующих субъединицы, осуществляется с разных мРНК. Ген, кодирующий α -субъединицу обоих гормонов, расположен в участке q12.21 хромосомы 6 и содержит четыре экзона (Jameson, 1996; Themmen and Huhtaniemi, 2000). В указанном гене мутации не обнаружены.

Ген, кодирующий β -субъединицу ФСГ (***FSHB*** – follicle-stimulating hormone, beta polypeptide) (MIM 136530), картирован в участке p13 хромосомы 11 (Cheng and Leung, 2005). Мутации гена *FSHB* обуславливают снижение активности ФСГ и, соответственно, количественный изолированный дефицит ФСГ при нормальных уровнях ЛГ и тестостерона (Jameson, 1996; Themmen and Huhtaniemi, 2000; Cheng and Leung, 2005; Themmen, 2005).

Изолированный дефицит ФСГ при нормальных уровнях ЛГ и тестостерона отмечают у мужчин с гипогонадизмом и нарушениями сперматогенеза: от незначительного снижения числа сперматозоидов в эякуляте до блокирования сперматогенеза на уровне сперматоцитов или сперматид (Maroulis et al., 1977; Hagg et al., 1978; Lindstedt et al., 1998; Phillip et al., 1998; Themmen and Huhtaniemi, 2000; Cheng and Leung, 2005; Themmen, 2005). У некоторых пациентов наблюдается синдром "только клетки Сертоли", или синдром Дель Кастильо. Широкий круг различных патологических изменений сперматогенеза у пациентов с изолированным дефицитом ФСГ указывает на наличие взаимодействия продуктов многих генов при этом генетическом нарушении. Одной из первых была описана делеция двух нуклеотидов в 61-м кодоне экзона 3 с образованием стоп-кодона, что приводит к синтезу укороченной полипептидной цепи β -субъединицы ФСГ.

Ген, кодирующий рецептор ФСГ (***FSHR*** – follicle-stimulating hormone receptor) (MIM 136435), расположен в участке p21-p16 хромосомы 2 и содержит десять экзонов (Rousseau-Merck et al., 1993). Впервые мутация в *FSHR* была описана при обследовании женщин с гипергонадотропным гипогонадизмом. Скрининг мутаций в гене, кодирующем рецептор ФСГ, по всем десяти экзонам у мужчин с бесплодием показал, что дефекты ФСГ-рецепторной функции являются редкой причиной мужского бесплодия (Tuerlings et al., 1998; Allen et al., 2003). У мужчин с мутациями в этом гене отмечают нормальное половое развитие, однако для них характерны повышенный уровень ФСГ и олигозооспермия (Tapanainen et al., 1997).

Ген, кодирующий β -субъединицу ЛГ (***LHB*** – luteinizing hormone, beta polypeptide) (MIM 152780), картирован в участке q13.32 хромосомы 19 (Jameson, 1996). В гене, кодирующем β -субъединицу ЛГ, описаны две инактивирующие мутации (миссенс-мутации), которые приводят к замене глутамина на аргинин в положении 54 (Gln54Arg) полипептидной цепи и глицина на аспарагин в положении 36 (Gly36Asp). Эти мутации приводят к утрате биологической ак-

тивности гормона. При мутации первого типа теряется способность гормона связываться с рецептором клетки-мишени, а при мутации второго типа нарушается связывание двух субъединиц и, соответственно, секреция ЛГ (Weiss et al., 1992; Valdes-Socin et al., 2004). У носителей этих мутаций наблюдают низкий уровень тестостерона, задержку полового развития и остановку сперматогенеза. Изолированная недостаточность секреции ЛГ была впервые описана у мужчин с синдромом Каллманна (Lieblich et al., 1982; Wortsman and Hughes, 1996).

Помимо известных на сегодня двух инактивирующих мутаций в гене, кодирующем β -субъединицу ЛГ, выявлены два аллельных варианта – полиморфизм, обусловленный точковыми мутациями. Первый из них приводит к замене триптофана на аргинин в положении 8 полипептидной цепи, второй – к замене изолейцина на триптофан в положении 15 полипептидной цепи (Haavisto et al., 1995). Такой полиморфизм распространен в различных популяциях с частотой от 0 до 53% (Nilsson et al., 1997). У мальчиков, гомо- или гетерозиготных носителей вариантов гена, кодирующего β -субъединицу ЛГ, наблюдают задержку роста и уменьшение объема яичек. У мужчин, гетерозиготных носителей, отмечают значительное снижение концентрации тестостерона в крови (Manna et al., 2002). На данный момент точно не известно, приводит ли полиморфизм гена *LHB* к нарушению репродуктивной системы, поскольку обнаружена довольно высокая частота встречаемости этих вариантов в популяциях фертильных индивидов (Huhtaniemi, 1996; Huhtaniemi and Pettersson, 1999).

Ген, кодирующий рецептор ЛГ (***LHCGR*** – luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor) (MIM 152790), расположен в участке p21 хромосомы 2 и содержит 11 экзонов (Dufau, 1998). Наибольшее количество мутаций описано именно в гене *LHCGR*. В основном мутации выявляют в 11-м экзоне рецептора. По функциональной значимости их классифицируют на мутации, активирующие и инактивирующие рецептор. Описан широкий спектр



Рис. 2.25. Типы мутаций в гене *LHCGR* и клинические последствия мутаций

клинических проявлений этих мутаций, что обусловлено их генетическим полиморфизмом. Спектр патологических состояний, обусловленных мутациями в гене *LHCGR*, зависит от типа мутации: активирующие приводят к преждевременному половому созреванию (тестотоксикозу), аденоме клеток Лейдига, сочетающейся с преждевременным половым созреванием; инактивирующие – к нарушению половой дифференцировки, что проявляется в виде псевдогермафродитизма с гипоплазией клеток Лейдига, а также гипогонадотропного гипогонадизма и микропении (**рис. 2.25**).

Первыми среди мутаций в гене *LHCGR* были выявлены активирующие мутации, клиническое проявление которых описали в 1981 г. Г. Шедеви и соавт. Ученые идентифицировали случай семейного преждевременного полового созревания (тестотоксикоз), сопровождающегося симметричным увеличением яичек в возрасте от трех до четырех лет, а также повышенным уровнем тестостерона, низким уровнем гонадотропинов, акселерацией и развитием вторичных половых признаков в раннем возрасте (Schedewie et al., 1981; Brunner and Otten, 1999). В отдельных случаях тестотоксикоз проявляется в возрасте до одного года (Brunner and Otten, 1999). Среди активирующих мутаций в гене *LHCGR* известны как наследственные, так и возникшие *de*

novo, которые приводят к семейной или спорадической форме преждевременного полового созревания у мальчиков, соответственно. Наличие активирующих точковых мутаций в гене *LHCGR* у больных было впервые описано двумя независимыми группами исследователей в 1993 г. Ученые выявили аминокислотную замену (Asp578Gly) в шестом трансмембранном сегменте рецептора (TM6) (Kremer et al., 1993; Shenker et al., 1993). В результате этой мутации клетки Лейдига синтезируют тестостерон без стимуляции ЛГ, что обуславливает преждевременное половое созревание. У больных наиболее часто мутации выявляют в шестом трансмембранном сегменте рецептора (TM6) и фланкирующей третьей внутриклеточной петле (IL3), что позволяет считать эти участки "горячими точками" (hot spots) перестроек (Themmen and Huhtaniemi, 2000; Cheng and Leung, 2005). Помимо точковых мутаций в TM6 и IL3, известны также замены аминокислот и в других сегментах рецептора, за исключением TM4 и TM7. У пациентов с преждевременным половым созреванием наиболее часто (82-90%) выявляют точковую мутацию, приводящую к замене аспарагиновой кислоты на глутамин в положении 578 (Asp578Glu) (Gromoll et al., 1998; Kremer et al., 1999). Среди других описанных типов миссенс-мутаций, которые приводят к заменам аминокислот, отмечены Ala373Val, Leu457Arg,

Met571Ile, Thr577Ile, Ile542Leu, Cys581Arg, Asp564Gly, Ala468Val, Ala373Val, Ala572Val, Asp578Tyr, Cys581Arg, Met398Thr, Leu368Pro (Laue et al., 1995; Gromoll et al., 1998; Kremer et al., 1999; Ignacak et al., 2000; Themmen and Huhtaniemi, 2000; Themmen, 2005). Одна из перечисленных миссенс-мутаций, которая приводит к замене метионина на тирозин в положении 398 (Met398Thr), характеризуется неполной пенетрантностью, так как не у всех мужчин в семье с этой мутацией наблюдают преждевременное половое созревание (Evans et al., 1996; Ignacak et al., 2000). Возраст манифестации тестостоксикоза варьирует в зависимости от типа мутации – местоположения и характера замены нуклеотида в гене *LHCGR*. Так, у мальчиков с миссенс-мутацией, приводящей к замене Asp578Tyr, тестостоксикоз проявляется в возрасте до одного года (Muller et al., 1998; Kremer et al., 1999).

В литературе описаны также отдельные случаи преждевременного полового созревания и трансформации клеток Лейдига у мальчиков с последующим образованием аденомы. У этих больных точковая миссенс-мутация, приводящая к замене аспарагиновой кислоты на гистидин в положении 578 (Asp578His), была выявлена в самих клетках Лейдига (Liu et al., 1999; Canto et al., 2002).

Наряду с активирующими мутациями описаны различные типы инактивирующих, большинство из которых являются точковыми и происходят в 11-м экзоне. В числе первых были описаны миссенс-мутация (Ala593Pro) в 6-м трансмембранном сегменте гена *LHCGR* у пациента с мужским гермафродитизмом и гипоплазией клеток Лейдига и нонсенс-мутация (Cys545-Stop) в 11-м экзоне гена *LHCGR* с последующей потерей функции рецептора в связи с появлением стоп-кодона в остатке 545 (Kremer et al., 1995; Laue et al., 1995; Latronico et al., 1998). В дальнейшем были выявлены другие типы инактивирующих мутаций в гене *LHCGR*: большие и маленькие делеции части гена, нонсенс-мутации, которые приводят к "усечению" молекулы белка, миссенс-мутации, инсерции, приводящие к сдвигу

рамки считывания, что обуславливает синтез "усеченного" (truncated) белка. Так, делеция в 8-м экзоне приводит к полной дисфункции рецептора ЛГ. Частичная инактивация функционирования рецептора ЛГ была обнаружена у пациента с гомозиготной делецией экзона 10. Среди нонсенс-мутаций, выявленных в различных районах трансмембранного домена, описаны Trp491-Stop, Cys545-Stop, Arg554-Stop, Tyr612-Stop (Cheng and Leung, 2005; Salameh et al., 2005). Эти мутации вызывают "усечение" молекулы белка рецептора ЛГ и, соответственно, отсутствие части IL3 (фланкирующая третья внутриклеточная петля), TM6 и TM7 (трансмембранные сегменты 6 и 7 рецептора ЛГ). Делеция меньшего размера (Leu608Val609) в участке TM7 значительно, но не полностью подавляет функцию рецептора ЛГ (Latronico et al., 1998). Описаны следующие миссенс-мутации: Cys131Arg, Cys343Ser, Cys543Arg, Glu354Lys, Leu502Pro, Phe194Val (Misrahi et al., 1997; Gromoll et al., 2002; Leung et al., 2004). Большинство перечисленных мутаций выявляют у пораженных гомозиготных носителей, и только отдельные случаи описаны у компаунд гетерозигот (Laue et al., 1995; Wu et al., 1998).

В зависимости от характера повреждения инактивирующие мутации определяют целый спектр клинических проявлений, приводя к гипоплазии клеток Лейдига (синдром агенезии клеток Лейдига – первоначальное название), которая может быть выявлена в препубертатном, подростковом периодах, во взрослом возрасте, и возникает как спорадически, так и сегрегирует в семье. Принято различать две формы синдрома агенезии клеток Лейдига: тяжелую форму с мужским псевдогермафродитизмом (сопровождается низким уровнем тестостерона и высоким уровнем ЛГ, отсутствием вторичных половых признаков, отсутствием в яичках зрелых клеток Лейдига) и менее тяжелую форму агенезии клеток Лейдига без псевдогермафродитизма (спектр проявления варьирует в широких пределах – от наличия микропенис до тяжелой гипоспадии) (Toledo, 1992; Kremer et al., 1993; Zenteno et al., 1999). Фактически

гипоплазия клеток Лейдига является следствием нарушения детерминации пола и половой дифференцировки, обусловленным отсутствием выработки тестостерона или низким уровнем его продуцирования в связи с нарушением передачи сигнала рецептора ЛГ.

Степень недоразвития яичек определяется степенью нарушения дифференцировки наружных половых органов у мальчиков. Клинический полиморфизм обусловлен генетическим полиморфизмом, что отражается на степени остаточной активности рецептора ЛГ. При легких формах патологического состояния, в отличие от классического варианта мужского гермафродитизма, наблюдается гипогонадизм, наружные половые органы мужского типа имеют выраженную гипоплазию. Эти формы следует отличать от гипогонадизма у мужчин, обусловленного мутацией в гене *LHB*.

Помимо мутаций в гене *LHCGR*, выявляют также единичные нуклеотидные полиморфизмы (SNP), роль которых в возникновении патологического состояния до конца не изучена и требует дальнейшего исследования для определения возможности причинно-следственной связи с возникновением рака простаты у мужчин (Themmen, 2005).

Рассмотрим патологические состояния, связанные с нарушением репродуктивной функции у мужчин и обусловленные мутациями в генах, кодирующих гормоны, вырабатываемые гипоталамусом и гипофизом. Сниженная секреция ГнРГ приводит к снижению продуцирования ЛГ, ФСГ и стероидных гормонов, что обуславливает нарушение полового созревания и гипогонадотропный гипогонадизм (Layman, 1999; Burns and Matzuk, 2002). Как известно, гипогонадальный гипогонадизм объединяет целую группу патологических состояний, обусловленных дефицитом или нарушением действия тестостерона.

Следует отметить, что нарушение секреции тестостерона может быть вызвано дисфункцией яичек, тогда речь идет о гипергонадотропном гипогонадизме.

Секреция тестостерона может быть нарушена на всех уровнях функционирования гипоталамо-гипофизарно-гонадного тракта, в связи с чем различают первичный (гипергонадотропный) гипогонадизм (первичная тестикулярная недостаточность), возникающий в результате дисфункции яичек, и вторичный (гипогонадотропный) гипогонадизм (вторичная тестикулярная недостаточность) как результат нарушения функционирования гипоталамуса или гипофиза. Этиологические факторы гипогонадизма представлены на **рис. 2.26**.

Остановимся более подробно на **гипогонадотропном гипогонадизме**, который возникает в результате генетических нарушений на уровне гипоталамуса и гипофиза.

Гипогонадотропный гипогонадизм объединяет широкий спектр клинических проявлений, которые включают отсутствие или задержку полового созревания, снижение массы яичек, слабо выраженное пубархе, отсутствие роста волос на лице. Характерные биохимические признаки – низкий уровень тестостерона, а также сниженные уровни ЛГ и ФСГ в сыворотке крови пациента.

Установлена связь между мутациями генов, кодирующих ГнРГ, ЛГ и ФСГ, и развитием гипогонадотропного гипогонадизма (Layman, 1999; Pitteloud et al., 2002; Silveira et al., 2002; Bhagavath et al., 2006). Следует отметить, что гипогонадотропный гипогонадизм может быть одной из клинических особенностей целого ряда синдромов, в том числе связанных с импринтингом (синдром Прадера–Вилли) (**рис. 2.26**).

Как известно, аномальная секреция ГнРГ обуславливает низкие уровни содержания ФСГ и ЛГ, отсутствие или нарушение действия тестостерона и дефект сперматогенеза. Такие нарушения приводят к изолированному дефициту гонадотропных гормонов в виде отдельного заболевания, что встречается очень редко. В большинстве случаев дефицит гонадотропных гормонов сочетается с другими аномалиями развития, среди которых

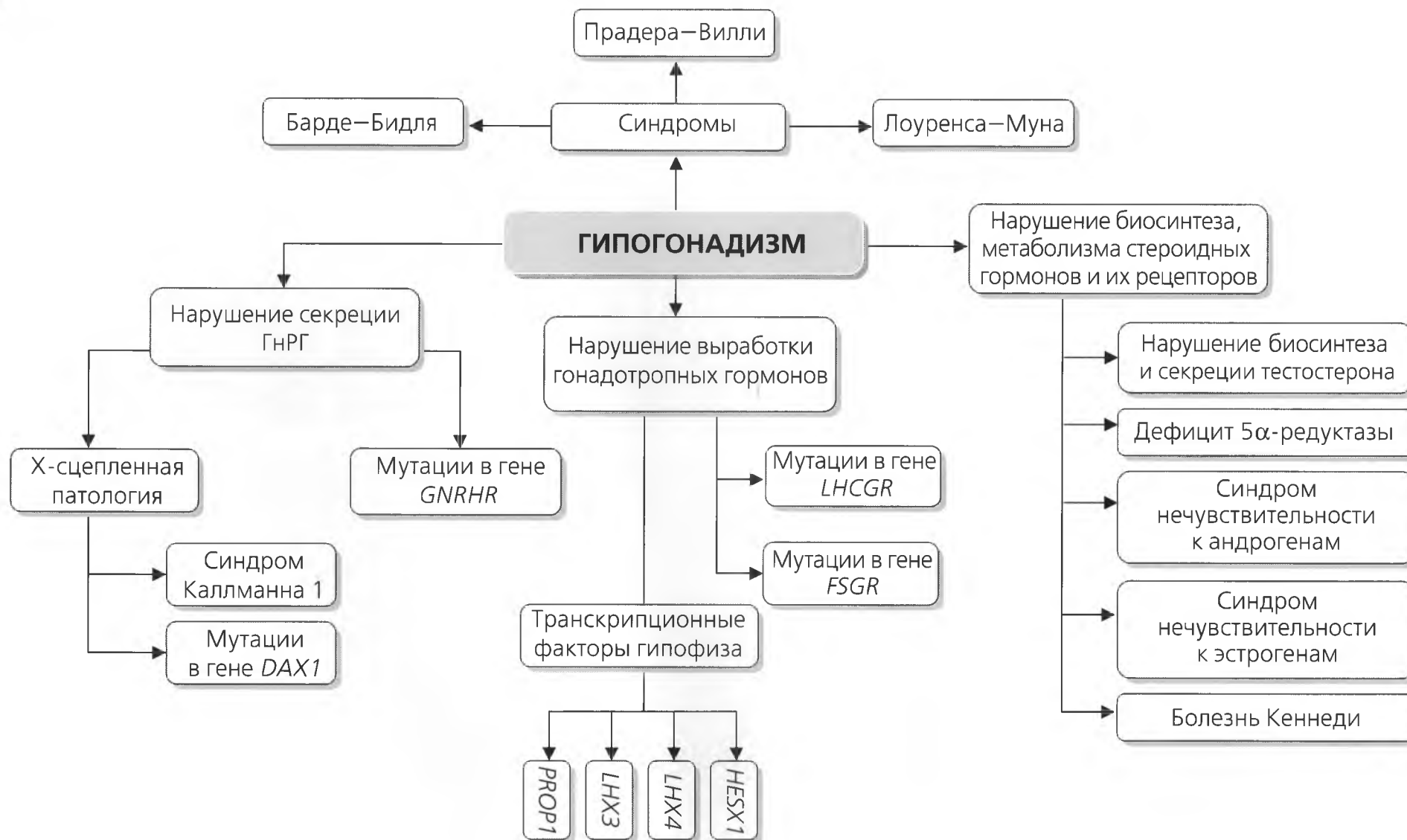


Рис. 2.26. Этиологические факторы гипогонадизма

Таблица 2.17. Перечень генов, мутации в которых обуславливают изолированный гипогонадотропный гипогонадизм

Ген	Локализация гена на хромосоме	Тип наследования	Клинические признаки
KAL1 (Kallmann syndrome-1 sequence (anosmin-1)) (MIM 308700)	Xp22.3	X-сцепленный	Синдром Каллманна 1 (MIM 308700)
FGFR1 (fibroblast growth factor receptor-1 (fms-related tyrosine kinase-2)) (MIM 136350)	8p11.2-p11.1	Аутосомно-доминантный	Синдром Каллманна 2 (MIM 147950)
PROKR2 (prokineticin receptor 2) (MIM 607123)	20p13	Аутосомно-рецессивный	Синдром Каллманна 3 (MIM 244200)
GNRHR (gonadotropin-releasing hormone receptor) (MIM 138850)	4q21.2	Аутосомно-рецессивный	Синдром Паскуалини (синдром фертильного внуха) (MIM 228300)
SNRPN (small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N) (MIM 182279)	15q12	Неменделевский тип наследования (однородительская дисомия хромосомы 15 отцовского происхождения)	Синдром Прадера–Вилли (MIM 176270)
LEP (leptin) (MIM 164160)	7q31.3	Аутосомно-рецессивный	Ожирение, бесплодие
LEPR (leptin receptor) (MIM 601007)	1p31	Аутосомно-рецессивный	Ожирение, бесплодие
DAX1 (DSS-AHC critical region on the X chromosome 1, gene 1) (MIM 300473)	Xp21.3-p21.2	X-сцепленный рецессивный	Гипоплазия коры надпочечников
HESX1 (homeobox gene expressed in ES cells) (MIM 601802)	3p21.2-p21.1	Аутосомно-доминантный	Изолированная недостаточность гормона роста

следует отметить микропению и крипторхизм.

На протяжении длительного времени гипогонадотропный гипогонадизм было принято считать идиопатическим патологическим состоянием. В настоящее время известно, что гипогонадотропный гипогонадизм может быть изолированным или входить в состав фенотипических проявлений синдромов, например, синдрома Каллманна.

Изолированный вторичный гипогонадотропный гипогонадизм, обусловленный нарушением передней доли гипофиза, возникает в результате мутаций в генах *KAL1*, *FGFR1*, *PROKR2*, *GNRHR*, *LEP*, *LEPR*, *DAX1*, *HESX1* (табл. 2.17).

Помимо изолированного вторичного гипогонадотропного гипогонадизма, выделяют комбинированный гипогонадотропный гипогонадизм, который обусловлен мутациями в генах *PROP1*, *HESX1*, *LHX3*,

PHF6, контролирующих половую дифференцировку и функционирование гонадотропинов (табл. 2.18).

Наличие у пациентов отдельных клинических признаков в сочетании с гипогонадотропным гипогонадизмом помогает клиницистам установить причины нарушения репродуктивной функции, т. е. дифференцировать диагноз и выявить пациентов с генетически обусловленной патологией. Так, аносмия или наличие в семье агенезии почки может указывать на наличие мутации в гене *KAL1*. Первичная надпочечниковая недостаточность может быть обусловлена мутациями в гене *DAX1*. Надпочечниковая недостаточность совместно с аномальным развитием гонад может быть вызвана мутациями в генах *SF1*, *WT1*, *CYP11A1*, *StAR*. В случае множественного дефицита гормонов гипофиза можно предположить наличие мутации в транскрипционных факторах, таких как *PROP1*, *LHX3*, *HESX1*. Изолиро-

Таблица 2.18. Характеристика генов, мутации в которых обуславливают комбинированный гипогонадотропный гипогонадизм

Ген	Локализация гена на хромосоме	Тип наследования	Клинические признаки	Гормоны
PROP1 (prophet of Pit1, paired-like homeodomain transcription factor) (MIM 601538)	5q	Аутосомно-рецессивный	Задержка роста, гипотиреоз, нарушение полового созревания	Гормон роста, пролактин, тиротропный гормон, ФСГ/ЛГ
HESX1 (homeobox gene expressed in ES cells) (MIM 601802)	3p21.2– p21.1	Аутосомно-рецессивный	Септооптическая дисплазия	—
LHX3 (LIM/homeodomain protein LHX1) (MIM 600577)	9q34.3	Аутосомно-рецессивный	Ригидность шейного отдела позвоночника	Гормон роста, пролактин, тиротропный гормон, ФСГ/ЛГ
PHF6 (PHD finger protein 6) (MIM 300414)	Xq26.3	Аутосомно-рецессивный	Синдром Боресона–Форсмана–Лемана, умственная отсталость, лицевые дисморфии	Гормон роста, тиротропный гормон, ФСГ/ЛГ

ванный же дефицит гормона ЛГ или ФСГ свидетельствует о мутации в генах, кодирующих β -субъединицы этих гормонов.

Выявлены мутации в генах, участвующих в секреции гормонов, у пациентов со спорадическими или семейными формами гипогонадотропного гипогонадизма (*KAL1*, *GNRHR*, *DAX1*, *HESX1*, *LHX3*, *PROP1*), а также у пациентов с аномальным половым созреванием. У последних нарушение функционирования гонадотропинов возникает в результате мутаций в генах, кодирующих β -субъединицы гормонов ЛГ и ФСГ. В настоящее время систематизированы данные о мутациях целого ряда генов, участвующих в выработке и функционировании гонадотропинов (табл. 2.17 и 2.18).

Несмотря на то, что мутации в генах встречаются довольно редко, их идентификация чрезвычайно важна для понимания роли этих генов в половом развитии и фертильности, а также их значения для диагностики нарушения репродуктивной системы человека.

Синдром Каллманна (MIM 308700, 147950, 244200) характеризуется сочетанием гонадотропного гипогонадизма с аносмией, впервые был описан в 1944 г.

Ф. Каллманном, частота встречаемости составляет 1/10000-60000 мужчин (Kallmann et al., 1944; Meschede et al., 1994a). Первичной эндокринной аномалией является нарушение гипоталамической секреции ГнРГ, при этом наблюдается низкое содержание ЛГ, ФСГ и тестостерона. При рождении у мальчиков с изолированным дефицитом ЛГ в отдельных случаях наблюдают крипторхизм. Дефицит ЛГ во время эмбрионального развития компенсируется хорионическим гонадотропином. В пубертатном периоде у мальчиков наблюдают нарушение полового развития, отмечают задержку роста и недоразвитие яичек, характерно отсутствие полового созревания. У пациентов выявляют субнормальные показатели концентрации ЛГ и тестостерона при нормальном уровне ФСГ. Отмечают гипоплазию клеток Лейдига, при проведении спермиологического анализа в эякуляте выявляют половые клетки на всех стадиях дифференциации. Вместе с основными признаками синдрома – аносмией и гипогонадизмом (размеры яичек менее 2 см в диаметре) – наблюдают также и другие аномалии, в том числе врожденную глухоту, расщелину губы и неба, черепно-лицевую асимметрию, почечную недостаточность в связи с односторон-

ней аплазией, цветовую слепоту.

Нарушение сперматогенеза при синдроме Каллманна объясняется дефицитом тестостерона. Таким пациентам назначают заместительную терапию тестостероном и ЛГ, что позволяет стимулировать сперматогенез.

Синдром Каллманна – генетически гетерогенное патологическое состояние, которое в большинстве случаев возникает спорадически, в одной трети случаев сегрегирует в семье. Описаны три типа наследования: X-сцепленный (MIM 308700) (*KAL1*), аутосомно-доминантный (MIM 147950) (*FGFR1*), аутосомно-рецессивный (MIM 244200) (*PROKR2*).

Клинические проявления синдрома варьируют в зависимости от типа наследования (Oliveira et al., 2001). Мутации гена *KAL1* обуславливают X-сцепленную форму синдрома Каллманна, который в 10-15% случаев возникает спорадически, а в 60% случаев сегрегирует в семье (Sato et al., 2004; Kim et al., 2005). Ген *KAL1* (Kallmann syndrome 1) (MIM 308700) картирован в участке p22.3 хромосомы X длиной 20 000 п.н., состоит из 14 экзонов, отвечает за синтез гликопротеина – белка anosmin-1, который играет ключевую роль в миграции гонадолиберин-секретирующих нейронов в обонятельные луковицы и впоследствии в гипоталамус (Franco et al., 1991; Bick et al., 1992). В 1992 г. была впервые выявлена мутация (делеция) этого гена (Bick et al., 1992). В настоящее время дифференцированы различные типы мутаций указанного гена у больных: делеция части гена, делеция всего гена и субмикроскопическая делеция участка Xp22.3, при которой синдром Каллманна сопровождается ихтиозом, но чаще всего встречаются точечные мутации (миссенс-мутации и нонсенс-мутации, мутации в сайте сплайсинга) (Ballabio et al., 1987; Hardelin et al., 1993а,б; Izumi et al., 2001; Massin et al., 2003). Для больных с X-сцепленной формой синдрома Каллманна характерны следующие признаки: anosmia – нарушение обоняния, горизонтальный нистагм, расщелина губы или неба, потеря слуха в 5-10% случаев, а также синкине-

зия, брахиметакарпия, односторонняя агенезия почки, гипогонадотропный гипогонадизм (Massin et al., 2003). Следует отметить, что синкинезия наблюдается в 75% случаев синдрома Каллманна как при X-сцепленном, так и аутосомно-рецессивном типах наследования (Dode et al., 2003).

При аутосомно-доминантном типе наследования синдрома Каллманна мутации происходят в гене, кодирующем рецептор фактора роста фибробластов (*FGFR1* – fibroblast growth factor receptor 1) (MIM 136350). Ген размером 55 тыс п.н. картирован в участке p11.2-12 хромосомы 8, состоит из 18 экзонов (Groth and Lardelli, 2002; Dode et al., 2003). У больных с аутосомно-доминантной формой синдрома Каллманна обнаруживают миссенс- и нонсенс-мутации, мутации в сайте сплайсинга, внутригенные инсерции и делеции. Несмотря на то, что субмикроскопические делеции в этом участке обнаружены не были, описан случай сбалансированной хромосомной перестройки у мужчины с синдромом Каллманна, в которой задействован участок p11.2 хромосомы 8 (Dode et al., 2003; Kim et al., 2005; Pitteloud et al., 2005). К настоящему времени мутации в гене *FGFR1* обнаружены примерно в 10% случаев синдрома. Для больных с аутосомно-доминантной формой синдрома Каллманна характерно как полное проявление заболевания, так и наличие отдельных признаков, включая только anosmia, только расщелину губы и/или неба с гипогонадотропным гипогонадизмом. У некоторых пациентов с мутацией гена *FGFR1* наблюдают спонтанное восстановление репродуктивной функции (Oliveira et al., 2001; Pitteloud et al., 2005).

Аутосомно-рецессивная форма синдрома Каллманна описана всего в нескольких семьях, в которых у мужчин наблюдали гипогонадотропный гипогонадизм, anosmia и расщелину губы и/или неба.

Предположительно существуют и другие гены, вовлеченные в развитие синдрома.

Синдром Паскуалини (синдром фертильного евнуха, MIM 228300) – патологическое состояние, связанное с изолированным дефицитом ЛГ. Для пациентов характерно евнухоидное телосложение с

различной степенью вирилизации и гинекомастии, яички нормального размера, отмечают олигоастенотератозоосперию. В биоптате яичка выявляют сниженное количество клеток Лейдига или их отсутствие, сперматогенез не нарушен. Единичные клетки Лейдига секретируют тестостерон в количестве, достаточном для сперматогенеза, но недостаточном для нормальной вирилизации. Содержание ФСГ в плазме крови в норме, в то время как концентрация ЛГ и тестостерона снижена. Этиология и механизмы патогенеза синдрома Паскуалини окончательно не выяснены, причиной патологического состояния считают изолированный дефицит ЛГ, что и приводит к нарушению пролиферации и дифференциации клеток Лейдига. В 2001 г. группа ученых выявила первый случай мутации в гене *GNRHR* (Glu106Arg) у 26-летнего мужчины с синдромом Паскуалини (Pitteloud et al., 2001).

Выделена отдельная группа патологических состояний, связанных с нарушениями в **orphan-ядерных рецепторах** (SF1 и DAX1), которые экспрессируются в гипоталамо-гипофизарно-гонадном тракте и коре надпочечников. Выявленные мутации в генах, кодирующих эти рецепторы, а также данные, полученные на модельных системах, подтвердили ключевую роль этих транскрипционных факторов в развитии гипоталамо-гипофизарно-гонадного тракта и его функционировании на разных уровнях, включая продуцирование гонадотропинов.

Orphan-ядерный стероидогенный фактор-1 (**SF1**), или **NR5A1** (nuclear receptor subfamily 5, group A, member 1) (MIM 184757) представляет собой транскрипционный фактор, который экспрессируется в гипоталамусе, гипофизе и коре надпочечников (Zhao et al., 2001; Achermann et al., 2002). *SF1* регулирует транскрипцию нескольких генов гипофиза, включая *GNRHR*, *LHB*, а также генов, кодирующих стероидные гормоны (Ikeda et al., 1996). Исследования на модельных системах показали отсутствие коры надпочечников и гонад у *Sf1* нокаутированных мышей, что приводит к адренортикальной недостаточности и реверсии по-

ла, а также нарушению секреции гипофизарных гонадотропинов и агенезии вентромедиального ядра гипоталамуса. У таких мышей полностью отсутствует секреция ФСГ и ЛГ. Роль *SF1* для человека менее ясна. У пациента с мутацией гена *SF1* в гетерозиготном состоянии и полной XY-реверсией пола отмечены наличие мюллеровых структур, дисгенезия яичка и нарушение работы надпочечников с сохранением продуцирования гонадотропинов (Mallet et al., 2004). Идентификация мутации в гомозиготном состоянии с потерей функции рецептора *SF1* у человека позволит прояснить роль *SF1* в функционировании гонадотропинов у человека.

Мутации или делеции гена **DAX1** (dosage sensitive sex reversal-AHC critical region of the X chromosome, gene 1) (MIM 300473) приводят к X-сцепленной врожденной гипоплазии коры надпочечников (MIM 300200). У мужчин с X-сцепленной врожденной гипоплазией коры надпочечников и гипогонадотропным гипогонадизмом развивается первичная недостаточность функционирования надпочечников в первые месяцы или первые годы после рождения, также отмечают дефицит глюкокортикоидов и минералокортикоидов. Гипогонадотропный гипогонадизм, выявляемый в пубертатном периоде, может сопровождаться крипторхизмом. Впервые врожденная гипоплазия коры надпочечников с гипогонадальным гипогонадизмом была описана в 1977 г. (Hay, 1977; Hay et al., 1981). В своих работах ученый предположил, что гипогонадизм может быть следствием недостатка или отсутствия секреции андрогенов корой надпочечников. Связь между мутацией гена *DAX1* и врожденной гипоплазией коры надпочечников с гипогонадотропным гипогонадизмом была выявлена в 1994 г. двумя независимыми группами ученых (Muscatelli et al., 1994; Zanaria et al., 1994).

Ген *DAX1* играет ключевую роль в развитии надпочечников и функционировании гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы, а экспрессия его осуществляется на ранних этапах эмбрионального развития, а после рождения – в гипоталамусе, передней доле гипофиза, коре надпочеч-

ников, яичниках, яичках (Ikeda et al., 1996; Meeks et al., 2003).

Ядерно-рецепторные белки SF1 и DAX1 действуют сопряженно (Habiby et al., 1996; Ikeda et al., 1996; Yu et al., 1998; Achermann et al., 1999; Reutens et al., 1999). Описано более 60 мутаций в гене *DAX1*, большинство из которых нонсенс-мутации либо инактивирующие мутации со сдвигом рамки считывания (Guo et al., 1995; Reutens et al., 1999; Seminara et al., 1999). Миссенс-мутации в *DAX1* менее распространены и возникают в большинстве случаев в С-терминальных участках. А. Ройтенс и соавт. одними из первых идентифицировали шесть мутаций в гене *DAX1* при врожденной гипоплазии коры надпочечников, а также выявили спектр клинических проявлений этих мутаций (Reutens et al., 1999). Описаны несколько пациентов с различными клиническими проявлениями, обусловленными мутациями в гене *DAX1*, что необходимо учитывать в связи с эффектом "дозы генов" (Hamaguchi et al., 1998; Seminara et al., 1999).

Исследования экспрессии гена *Dax1* на модельных системах позволили установить ключевую роль *DAX1* в сперматогенезе и развитии яичек у млекопитающих (Matzuk and Lamb, 2002).

Анализ мутаций гена *DAX1* необходим для установления диагноза и проведения медико-генетического консультирования.

Развитие передней доли гипофиза и дифференциация клеток в этой части гипофиза находятся под контролем **транскрипционных факторов** (*HESX1*, *SIX3*, *LHX3*, *PITX1*, *PIT1*, *PROP1*). Многие из них относятся к генам гомеобокса, время и локализация экспрессии которых строго специфичны, мутации в этих генах описывают у пациентов с сочетанным дефицитом гормонов гипофиза. Рассмотрим известные типы мутаций в этих транскрипционных факторах.

Описаны три точковые мутации в гене гомеобокса ***HESX1*** (homeobox gene expressed in ES cells) (MIM 601802), при которых наблюдают врожденную гипоплазию гипофиза в сочетании с другими врожденными пороками, в частности, с септо-оптической дисплазией и гипогона-

дотропным гипогонадизмом (синдром Морсье, MIM 182230). Для этого патологического состояния характерна следующая триада признаков: гипоплазия гипофиза, гипоплазия зрительного нерва, агенезия мозолистого тела (*corpus callosum*) и прозрачной перегородки (*septum pellucidum*) (Dattani et al., 1998). В гене *HESX1* выявлены как аутосомно-рецессивные, так и аутосомно-доминантные миссенс-мутации (Thomas et al., 2001). При синдроме Морсье гипогонадотропный гипогонадизм обусловлен дефицитом гонадотропинов.

Ген ***LHX3*** (LIM homeobox gene 3) (MIM 600577) кодирует транскрипционный фактор гомеодомена LIM (LIM homeodomain transcription factor), который содержит два аминокислотных терминальных тандемно повторяющихся мотива LIM и карбоксил-терминальный гомеодомен с ДНК-связывающей активностью. У человека мутации в гене *LHX3* приводят к патологическому состоянию, которое включает задержку роста, полный дефицит гормонов аденогипофиза, значительное ограничение вращения шейных позвонков. У четырех пациентов из двух семей с признаками сочетанного дефицита гормонов гипофиза и сохранением кортикотропной функции были выявлены мутации в гене *LHX3* в гомозиготном состоянии (Netchine et al., 2000). У одного мальчика при рождении наблюдали крипторхизм и микропению, у троих пациентов отсутствовали признаки полового созревания в возрасте 15 лет, были отмечены признаки нарушения продуцирования гонадотропинов. В первой семье у двоих пациентов наблюдалась тяжелая гипоплазия гипофиза, тогда как у одного из мужчин во второй пораженной семье вторичным признаком было увеличение аденогипофиза.

Ген ***PROP1*** (prophet of Pit1, paired-like homeodomain transcription factor) (MIM 601538) – специфичный для гипофиза транскрипционный фактор гомеодомена. Экспрессия гена *PROP1* в развивающемся гипофизе необходима для дальнейшей экспрессии *PIT1* – еще одного транскрипционного фактора, важного для онтогенеза гипофиза.

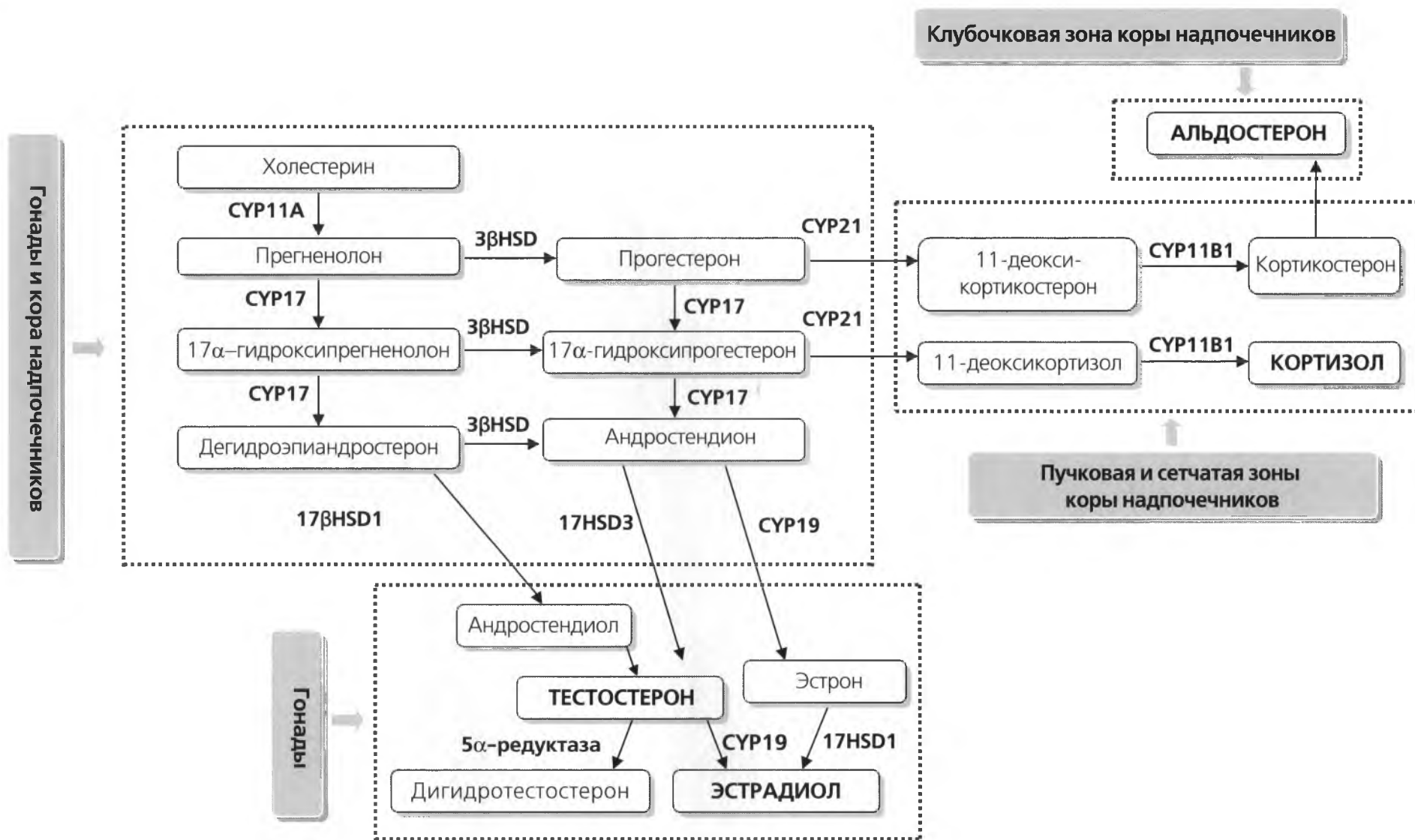


Рис. 2.27. Биосинтез стероидных гормонов в коре надпочечников и гонадах



Рис. 2.28. Диагностика интерсексуальных состояний у индивидов с кариотипом 46,XY

Инактивирующие мутации в гене *PROP1* приводят к дефициту ЛГ, ФСГ, пролактина. У пациентов наблюдают задержку роста, гипотиреоз и задержку или отсутствие полового созревания. Отмечают вариабельность проявления гипогонадотропного гипогонадизма в пределах одной семьи с одинаковым типом мутации (Cogan and Phillips, 1998; Fofanova et al., 1998; Park et al., 2004; Reynaud et al., 2004, 2005). Идентифицирован ряд мутаций в *PROP1*, включая миссенс-мутации и делеции, наиболее часто встречается делеция в экзоне 2, который является "горячей точкой" мутаций в гене *PROP1*. Р. Рейно и соавт. описали семейный случай идиопатического гипогонадотропного гипогонадизма с мутацией в гене *PROP1*: у троих братьев наблюдали крипторхизм или задержку полового созревания без каких-либо дополнительных отклонений фенотипа (Reynaud et al., 2005).

Лептин играет важную роль в метаболизме и половом созревании. Связь между избыточным весом, обменом веществ и репродуктивной функцией обсуждается уже многие годы. Роль лептина в репродуктивной функции подтверждается наличием гипогонадотропного гипогонадизма у пациентов с избыточным весом вследствие мутаций генов, кодирующих лептин или его рецептор. У *ob/ob* мышей с дефицитом лептина и *db/db* мышей с нечувствительностью к лептину, кроме ожирения тяжелой степени, отмечают нарушение полового созревания (Chua et al., 1996).

У человека мутации в гене, кодирующем лептин (**LEP** – leptin (murine obesity homolog)) (MIM 164160), наблюдались в нескольких семьях у индивидов с ожирением, гипогонадотропным гипогонадизмом, гиперинсулинемией (Montague et al., 1997; Strobel et al., 1998). Таким образом,

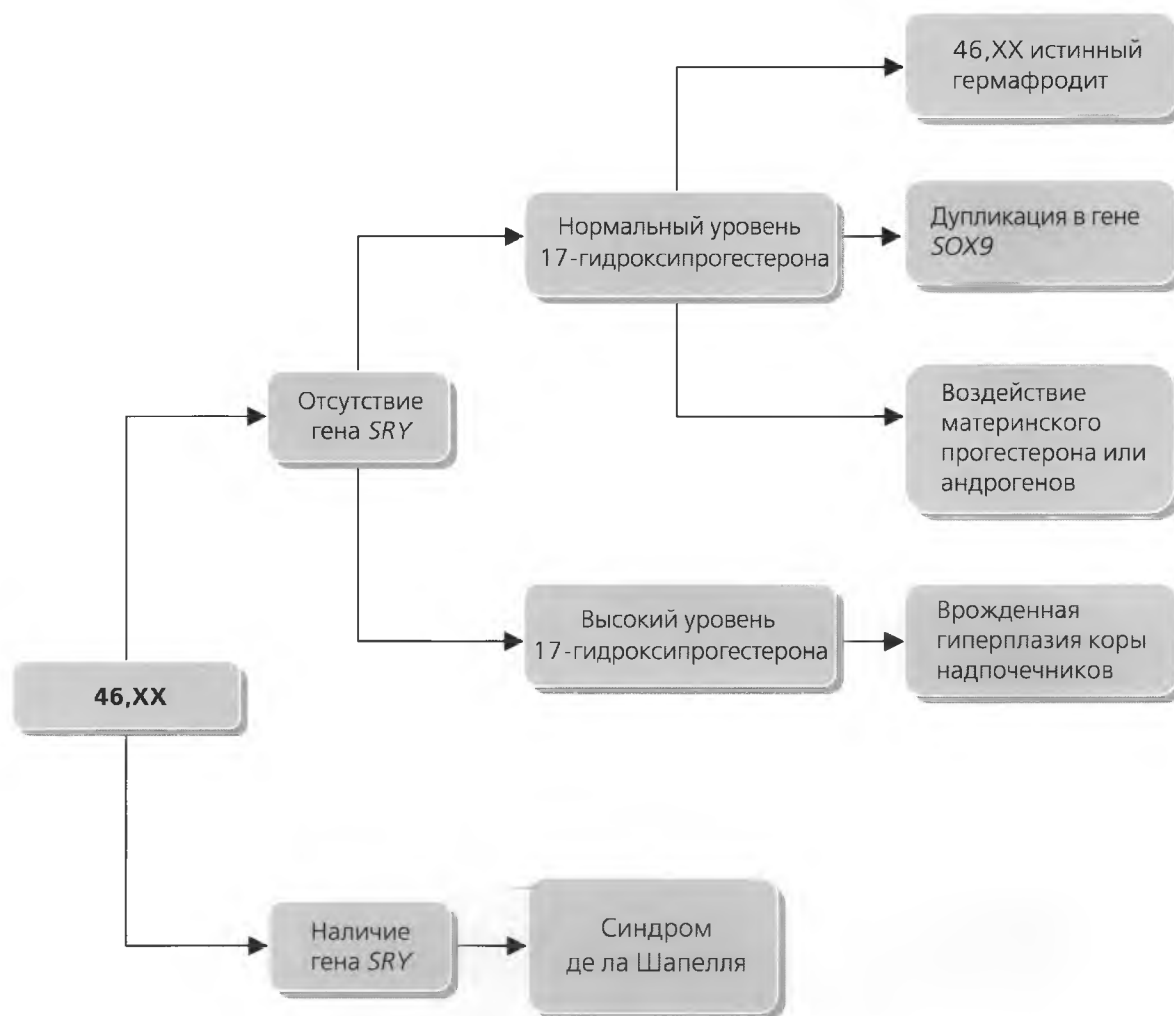


Рис. 2.29. Диагностика интерсексуальных состояний у индивидов с кариотипом 46,XX

нарушения в гене *LEP* у человека ассоциируют с ожирением тяжелой степени, гиперфагией и гиперинсулинемией; тип наследования – аутосомно-рецессивный.

Рассмотрим гены, которые кодируют ферменты, принимающие участие в биосинтезе, метаболизме и действии половых гормонов, и мутации в них.

К группе стероидных гормонов относятся андрогены (тестостерон, 5α -дигидротестостерон), эстрогены (эстрадиол, эстрон и др.), прогестерон, кортизол, альдостерон и др. Стероидные гормоны образуются из холестерина в коре надпочечников (кортикостероиды) и в яичках (половые стероиды) (рис. 2.27).

Нарушения на каждом этапе превращения холестерина в тестостерон приводят к развитию патологических состояний. Мутации в генах, кодирующих ферменты, ко-

торые участвуют в биосинтезе и метаболизме стероидных гормонов, приводят к блокированию их секреции и, как следствие, – к накоплению предшественников и отсутствию конечных продуктов. Нарушения биосинтеза, метаболизма и действия стероидных гормонов обуславливают возникновение целого ряда патологических состояний, объединенных под общим названием "мужской псевдогермафродитизм", при котором яички дифференцируются, продуцируют АМГ, однако образование андрогенов не происходит. У индивидов с кариотипом 46,XY и яичками наблюдают аномалии мужского фенотипа, полная маскулинизация не происходит: наружные половые органы сформированы по женскому типу или имеют двойственное строение, производные мюллеровых протоков отсутствуют.

Нарушение биосинтеза стероидных гор-

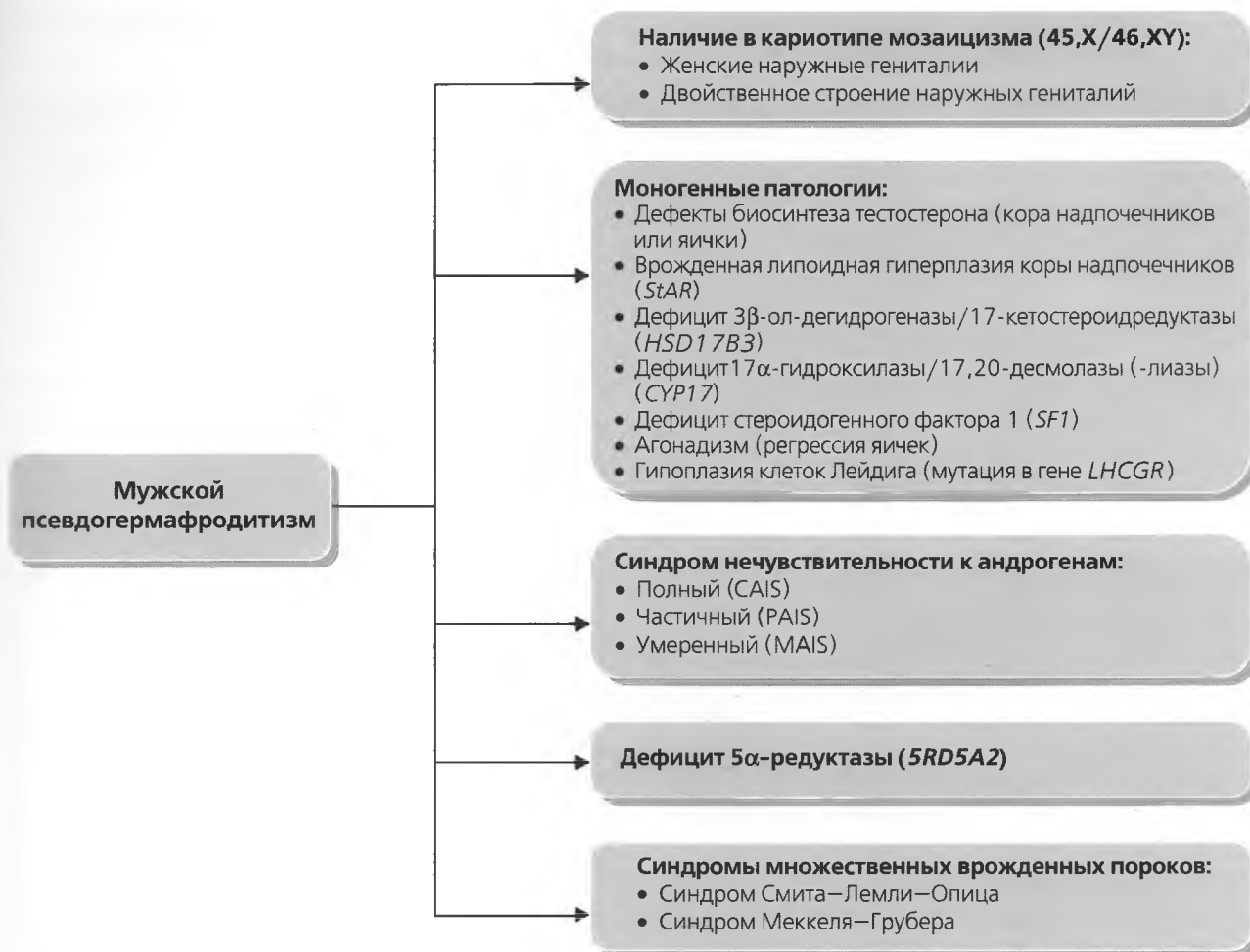


Рис. 2.30. Этиология мужского псевдогермафродитизма

монов во внутриутробном периоде развития организма является одной из причин возникновения мужского псевдогермафродитизма (или синдрома ложного мужского гермафродитизма) в сочетании с другими аномалиями – сочетанной недостаточностью как андрогенов, так и глюко- и минералокортикоидов. Нарушения биосинтеза стероидных гормонов на более поздних стадиях развития организма вызывают изолированный мужской псевдогермафродитизм.

Факторы, лежащие в основе мужского псевдогермафродитизма представлены на **рис. 2.28-2.30**.

Среди этиологических факторов, лежащих в основе мужского псевдогермафродитизма, большую часть составляют нарушения биосинтеза стероидных гормонов (**рис. 2.30**).

За два прошедших десятилетия были вы-

явлены нарушения в ферментных системах, обеспечивающих биосинтез стероидных гормонов и их метаболизм в органах-мишенях, в основе которых лежат генетические факторы: нарушения биосинтеза стероидных гормонов обусловлены мутациями в генах *StAR*, *CYP21*, *CYP17*; дефекты метаболизма стероидных гормонов – мутациями в генах *SRD5*, *SRD5A*; нарушения действия стероидных гормонов – мутациями в генах *AR* и *ESR1*. Рассмотрим типы мутаций, которые происходят на разных уровнях биосинтеза, метаболизма и действия стероидных гормонов.

В биосинтезе стероидных гормонов принимают участие ферменты, которые условно делятся на две большие группы (цитохром P450 оксидазы и гидроксистероиддегидрогеназы) (**табл. 2.19**). Группа цитохром P450 оксидаз включает: P450c11, P450c17, P450c21 и P450aro. Различают два биохимических класса P450 оксидаз: тип I содержится в мито-

Таблица 2.19. Гены, кодирующие ферменты, которые принимают участие в биосинтезе стероидных гормонов

Ген	Локализация гена на хромосоме	Название белка (молекулярная масса)	Тканеспецифическая экспрессия
CYP11A1 (cytochrome P450, subfamily XIA, polypeptide 1 (cholesterol side chain cleavage enzyme)) (MIM 118485)	15q23-q24	CYP11A1 (56 кДа)	Кора надпочечников, яички
CYP11B1 (cytochrome P450, subfamily XIB, polypeptide 1) (MIM 610613)	8q21	CYP11B1 (50 кДа)	Кора надпочечников
CYP11B2 (cytochrome P450, subfamily XIB, polypeptide 2) (MIM 124080)	8q21	CYP11B2 (48,5 кДа)	Кора надпочечников (клубочковая зона)
CYP17 (cytochrome P450, family 17, subfamily A, polypeptide 1) (MIM 609300)	10q24.3	CYP17 (57 кДа)	Клетки Лейдига, кора надпочечников
CYP19 (cytochrome P450, family 19, subfamily A, polypeptide 1 (aromatization of androgens)) (MIM 107910)	15q21.1	CYP19 (58 кДа)	Клетки Лейдига, жировая ткань, костная ткань
CYP21 (cytochrome P450, family 21, subfamily A, polypeptide 2) (MIM 201910)	6p21.3	CYP21 (56 кДа)	Кора надпочечников
HSD17B1 (hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 1) (MIM 109684)	17q11q21	17HSD1(35 кДа)	—
HSD17B3 (hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 3) (MIM 605573)	9q22	17HSD3(34,5 кДа)	Яички
HSD3B1 (hydroxy-delta-5-steroid dehydrogenase, 3 beta-and steroid delta-isomerase, type 1 (placental, peripheral)) (MIM 109715)	1p13.1	3b HSDI	Кожа
HSD3B2 (hydroxy-delta-5-steroid dehydrogenase, 3 beta-and steroid delta-isomerase, type 2 (adrenal, gonadal)) (MIM 201810)	1p13.1	3b HSDII	Клетки Лейдига, кора надпочечников

хондриях, тип II – в эндоплазматической сети. P450c11 (P450c11 и P450c11AS) содержится в митохондриях клеток коры надпочечников, участвует в биосинтезе 11 β -гидроксилазы коры надпочечников. P450c17 содержится в эндоплазматической сети коры надпочечников, гонадах и головном мозге эмбрионов, катализирует активность 17 β -гидроксилазы и 17,20-лиазы. С помощью 17,20-лиазы происходит синтез дегидроэпиандростерона. Цитохром P450c21 обнаружен в эндоплазматической сети клеток коры надпочечников, участвует в 21-гидроксилировании глюкокортикоидов и минералокортикоидов. P450aro выявлен в эндоплазматической сети клеток коры надпочечников, участвует в превращении андрогенов в

эстрогены.

В рамках проекта "Геном человека" идентифицированы 57 генов, кодирующих ферменты семейства P450. Семь генов отвечают за экспрессию ферментов типа I (один из них участвует в биосинтезе стероидных гормонов – CYP11A1), тогда как остальные – за экспрессию ферментов типа II (Miller, 2005).

Кроме группы P450, в биосинтезе стероидных гормонов участвуют гидроксистероиддегидрогеназы молекулярной массой 35-45 кДа, не содержащие гем-группы. Каждая реакция, в которой задействована эта группа ферментов, проходит с участием двух или более изоферментов. Различают два семейства гид-

роксистероиддегидрогеназы: дегидрогеназы с короткой цепью, которые включают 3α -гидроксистероиддегидрогеназу/изомеразу, две 11β -гидроксистероиддегидрогеназы, серию 17β -гидроксистероиддегидрогеназ; семейство альдо-кеторедуктаз, которое включает 3α -гидроксистероиддегидрогеназу, 20α -гидроксистероиддегидрогеназу, 17β -гидроксистероиддегидрогеназу, тип 5.

Мутации в генах, кодирующих белки этих двух групп, приводят к тяжелым клиническим последствиям, в том числе мужскому псевдогермафродитизму.

Цитохром P450scs (или CYP11A1) содержится в митохондриях клеток коры надпочечников, яичников, яичек, плаценты и является ключевым регулятором стероидогенеза, это единственный фермент, отвечающий за метаболизм холестерина в прегненолон, который необходим для биосинтеза глюкокортикоидов, минералокортикоидов и половых гормонов во время пренатального и постнатального развития. Цитохром P450scs кодируется геном **CYP11A1** (cytochrome P450, subfamily XIA, polypeptide 1 (cholesterol side chain cleavage enzyme)) (MIM 118485) длиной 29 тыс п.н., содержащим девять экзонов и восемь интронов. Ген картирован в участке q23-q24 хромосомы 15, экспрессируется в коре надпочечников, яичниках, клетках Лейдига яичек и плаценте (Chung et al., 1986). Пик экспрессии **CYP11A1** приходится на 15-ю неделю внутриутробного развития с постепенным снижением до 26-й недели, а после рождения ребенка экспрессия гена отмечается с началом развития вторичных половых признаков. Известны случаи мутаций в гене **CYP11A1** – инсерции и делеции. В большинстве случаев плоды, гомозиготные носители мутации в гене **CYP11A1**, спонтанно элиминируются, поскольку эти мутации препятствуют выработке прогестерона плацентой (Miller and Strauss, 1999; Tajima et al., 2001; Katsumata et al., 2002; Hiort et al., 2005).

Нарушение метаболизма холестерина в прегненолон в коре надпочечников приводит к аккумуляции холестерина и врожденной липоидной гиперплазии коры

надпочечников, половому дисморфизму (мужской псевдогермафродитизм): индивиды с кариотипом 46,XY имеют женские наружные половые органы, яички расположены интраабдоминально.

Мужской псевдогермафродитизм с врожденной липоидной гиперплазией коры надпочечников (MIM 201710) развивается в случае нарушения стероидогенеза в коре надпочечников: клетки коры надпочечников наполняются холестерином и эфирами холестерина, что ведет к развитию синдрома потери соли (гипонатриемия, гиперкалиемия), ацидозу и гибели в детском возрасте. В настоящее время пациенты могут доживать до взрослого возраста благодаря минералокортикоид- и глюкокортикоид-заместительной терапии.

Патологическое состояние было впервые детально описано в 1955 г. (Prader and Gurtner, 1955; Prader and Siebenmann, 1957; Prader and Anders, 1962; Miller, 1997). Помимо гиперплазии коры надпочечников, у индивидов с генетическим мужским полом (кариотип 46,XY) наружные половые органы формируются по женскому типу или имеют двойственное строение, что объясняется нарушением синтеза тестостерона в пренатальном периоде развития организма (Bose et al., 1996; Miller, 1997). Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу, чаще встречается у мужчин в Японии и Палестине.

В большинстве случаев нарушения на ранних этапах биосинтеза стероидных гормонов, а именно метаболизма холестерина в прегненолон, обусловлены изменениями в белке StAR, кодирующий его ген **StAR** (steroidogenic acute regulator) (MIM 600617) картирован в районе p11.2 хромосомы 8, содержит семь экзонов, его размер составляет 8 тыс п.н. (Clark et al., 1994). Функция StAR заключается в обеспечении транспорта холестерина в митохондрии – с внешней митохондриальной мембраны во внутреннюю, где содержится цитохром P450scs (**CYP11A1**), с помощью которого холестерин превращается в прегненолон (Bose et al., 1996).

Мутации в гене **StAR** были впервые выяв-

лены в 1995 г. и являются наиболее распространенной причиной возникновения врожденной липоидной гиперплазии коры надпочечников, а также одной из причин возникновения мужского псевдогермафродитизма (Lin et al., 1995; Bose et al., 1996; Katsumata et al., 2002; Bhangoo et al., 2005). Описано около 30 мутаций в гене *StAR*, которые обнаруживают во всех экзонах и даже интронах, большинство из них затрагивают экзоны 5-7. Большинство мутаций обуславливают преждевременное окончание трансляции или сдвиг рамки считывания, и тем самым существенно изменяют структуру белка *StAR*, который теряет свою активность. Описаны только две мутации, которые приводят к сохранению остаточной активности белка (от 10 до 30%) (Bose et al., 1996; Nakae et al., 1997). Выявлены нонсенс-мутации и мутации со сдвигом рамки считывания, а также пять мутаций, обуславливающих аномальный сплайсинг первичной мРНК, с последующим усечением большей части белка *StAR*, включая N-терминальный район (Okuyama et al., 1997; Bose et al., 2000; Achermann et al., 2001b; Achermann and Jameson, 2003).

Цитохром P450c17 (или *CYP17*) – ферментный комплекс, который содержится в эндоплазматической сети клеток коры надпочечников, гонад эмбрионов, является важным регулятором стероидогенеза и принимает участие в активности двух ферментов – 17α -гидроксилазы и $17,20$ -десмолазы (-лиазы).

Ген ***CYP17*** (cytochrome P450, family 17, subfamily A, polypeptide 1) (MIM 609300) кодирует два фермента – 17α -гидроксилазу и $17,20$ -лиазу; картирован в участке q24.3 хромосомы 10, содержит восемь экзонов, семь интронов, его размер составляет 6,4 тыс п.н. Ген экспрессируется в клетках коры надпочечников и гонадах (в клетках Лейдига яичек) (Chung et al., 1986; Voutilainen and Miller, 1986; Fan et al., 1992). *CYP17* подобен гену *CYP21*, однако в нем отсутствует псевдоген. Описано более 40 мутаций в кодирующих участках гена *CYP17*, среди них миссенс-мутации, инсерции, делеции и нарушения сплайсинга (Geller et al., 1997, 1999; Martin et al., 2003; Sherbet et al., 2003;

Costa-Santos et al., 2004a,b; Mussig et al., 2005; Yang et al., 2006). В большинстве случаев эти мутации нарушают функционирование *CYP17*.

Поскольку один и тот же ген отвечает за функционирование двух ферментов – 17α -гидроксилазы и $17,20$ -лиазы; мутации в гене *CYP17* обуславливают полный или частичный (сочетанный или изолированный) дефицит 17α -гидроксилазы и/или $17,20$ -лиазы (Ahlgren et al., 1992; Van Den Akker et al., 2002; Mussig et al., 2005). Различают изолированный дефицит 17α -гидроксилазы, изолированный дефицит $17,20$ -лиазы, сочетанный дефицит 17α -гидроксилазы/ $17,20$ -лиазы.

Изолированный дефицит $17,20$ -лиазы приводит к отсутствию активности фермента, к нарушению выработки тестостерона и проявлению мужского псевдогермафродитизма, отсутствию вторичных половых признаков, гипергонадотропному гипогонадизму у обоих генетических полов, неполной маскулинизации, наблюдается мужской гонадный и генетический пол (New, 1970; Geller et al., 1997). У больных с рождения отмечают интерсексуальное строение наружных половых органов. Степень клинического проявления зависит от тяжести ферментативного дефекта и широко варьирует – от резкого уменьшения размеров полового члена (микропения) до близкого к женскому строения наружных половых органов с гипертрофированным клитором и единым урогенитальным отверстием. Яички нередко опущены в расщепленную мошонку, однако возможен крипторхизм. В пост-пубертатном периоде у больных наблюдают выраженный гипогонадизм, бесплодие.

Сочетанный дефицит 17α -гидроксилазы/ $17,20$ -лиазы выявляют у лиц с мужским псевдогермафродитизмом и кариотипом 46,XY, двойственными гениталиями, у некоторых индивидов наблюдают наружные гениталии, сформированные по женскому типу. Характерны также следующие признаки: неполная маскулинизация наружных половых органов, мужские половые протоки, мужской гонадный и генетический пол, дефицит андро-

генов (Heremans et al., 1976; Martin et al., 2003).

Цитохром P450c21 (или CYP21A2) содержится в эндоплазматической сети клеток коры надпочечников, участвует в 21-гидроксилировании глюкокортикоидов и минералокортикоидов. Фермент 21-гидроксилаза принимает участие в превращении прогестерона в 11-деоксикортикостерон и 17-гидроксипрогестерона в 11-деоксикортизол (**рис. 2.27**).

Белок CYP21 молекулярной массой 52 кДа содержит 494 аминокислоты. Ген, кодирующий CYP21 (**CYP21** – cytochrome P450, family 21, subfamily A, polypeptide 2) (MIM 201910), расположен внутри высокополиморфного комплекса гистосовместимости HLA и картирован в участке p21.3 хромосомы 6 (Carroll et al., 1985; White et al., 1985). Локус 21-гидроксилазы имеет сложную структуру и содержит активный ген *CYP21*, а также неактивный псевдоген *CYP21P*. Ген *CYP21* является одним из самых полиморфных генов человека (Cargill et al., 1999). Спонтанные рекомбинации между *CYP21* и *CYP21P* встречаются с частотой от 1/1000 до 1/100 000 клеток (Tusie-Luna and White, 1995). Фенотипические проявления мутаций в гене *CYP21* детально изучены в различных популяциях и этнических группах.

Оба гена (*CYP21* и *CYP21P*) содержат по десять экзонов, идентичность которых составляет 98%, а в интронах – 96% (White et al., 1986). Несмотря на то, что идентичность двух генов составляет 98%, псевдоген *CYP21P* может накапливать несколько мутаций, которые полностью инактивируют продукт гена (Higashi et al., 1986). К этим мутациям относятся делеция размером 8 п.н. в экзоне 3, сдвиг рамки считывания в экзоне 7 и нонсенс-мутация в экзоне 8, а также мутации процесса сплайсинга (Tusie-Luna and White, 1995; White and Speiser, 2000).

Нарушение 21-гидроксилирования может возникать в результате целого ряда мутаций, которые включают делецию всего гена, конверсии гена, мутации в интронах, мутации со сдвигом рамки

считывания и точковые мутации, которые приводят к варьированию степени активности фермента.

Большинство мутаций, которые приводят к дефициту 21-гидроксилирования, возникают в результате двух типов рекомбинаций между *CYP21* и *CYP21P*. Около 75% случаев мутаций составляют делеции, которые происходят в псевдогене и переносятся в активный ген во время митотического деления (конверсия гена). Примерно 20% случаев составляют делеции участка гена размером 30 п.н., находящегося вблизи 3'-конца псевдогена и 5'-конца активного гена, в результате образуется функционирующий химерный псевдоген. Остальные 5% случаев составляют мутации других типов (White et al., 1988; Baumgartner-Parzer et al., 2001; Lajic et al., 2002; Krone et al., 2005).

Мутации в гене *CYP21* подразделяют на три группы в зависимости от уровня активности фермента. Первая группа включает мутации типа делеций или нонсенс-мутации, которые полностью лишают фермент активности. Мутации второй группы, в которую входят в основном миссенс-мутации Ile172Asn, приводят к снижению активности фермента на 1-2%. При этих мутациях сохраняется синтез адекватного количества альдостерона, и поэтому их выявляют у пациентов с простой формой вирилизации (SV-CAH). Третья группа включает такие мутации, как Val281Leu, Pro30Leu, которые приводят к продуцированию ферментов с уровнем активности от 20 до 60%. Такие мутации связаны с неклассическими проявлениями заболевания (поздняя манифестация).

Соответственно, в результате сниженной активности или отсутствия фермента стероид-21-гидроксилазы возникают заболевания, объединенные под названием **"врожденная гиперплазия коры надпочечников"** (congenital adrenal hyperplasia, MIM 201910). Сниженная активность фермента или ее отсутствие приводит к недостатку кортизола, а также повышению уровня секреции адренокортикотропного гормона и, соответственно, к избыточной продукции андро-



Рис. 2.31. Двухэтапная стратегия скрининга врожденной гиперплазии коры надпочечников у новорожденных, обусловленной дефицитом 21-гидроксилазы

генов. Постоянный дефицит кортизола стимулирует выработку адренокортикотропного гормона по принципу обратной связи, что в свою очередь приводит к гиперплазии коры надпочечников и избыточной продукции андрогенов. У новорожденных мужского пола избыток андрогенов во время пренатального развития вызывает макрогонитосомию, а в постнатальном периоде наступает преждевременное половое созревание.

Врожденная гиперплазия коры надпочечников была впервые описана в 1865 г. (Е.А. Беникова и др., 1993). Частота встречаемости заболевания варьирует в различных популяциях, в большинстве популяций классический дефицит 21-гидроксилазы встречается с частотой 1/12 000-15 000 новорожденных (Therrell, 2001). Частота возникновения неклассической формы этого патологического состояния точно неизвестна и приблизительно составляет 0,2%, однако повышена в отдельных популяциях (среди евреев ашкенази – 1/27 новорожденных) (Speiser et al., 1985; Baumgartner-Parzer et al., 2005).

Существуют четыре формы заболевания: классическая сольтеряющая форма (SW-CAH), классическая вирильная форма (CV-CAH), легкая неклассическая форма (NC-CAH), скрытая форма.

Клинические признаки патологического состояния включают наличие двойственных гениталий у девочек и преждевременное половое созревание у представителей обоих полов в связи с высокой концентрацией андрогенов, вырабатываемых корой надпочечников, а также в результате дополнительной чрезмерной выработки натрия почками при сольтеряющей форме.

Форма заболевания зависит от типа мутации и, соответственно, от уровня активности фермента. Так, классическая сольтеряющая форма в основном обусловлена мутациями, которые приводят либо к полному отсутствию активности фермента, либо к ее наличию в 1% случаев. В то же время классическая вирильная форма связана с мутациями, при которых сохраняется менее 10% активнос-

ти фермента, и, наконец, при неклассической форме активность фермента сохраняется в 20-50% случаев.

Несмотря на то, что частота встречаемости заболевания достаточно высока, а его тяжесть значительна, существующие молекулярно-генетические методы позволяют проводить как пре-, так и постнатальную диагностику. Сегодня во многих странах проводится скрининг новорожденных на наличие мутации в гене *CYP21* (Speiser and White, 2003; Kosel et al., 2005).

Сольтеряющая форма дефицита стероидной 21-гидроксилазы составляет более 1/3 случаев возникновения гиперплазии коры надпочечников и обусловлена блокированием синтеза глюкокортикоидов, минералокортикоидов. Потеря соли возникает через 1-8 недель после рождения, наблюдают резкую задержку физического развития, синдром потери соли, удержание калия, гиперплазию коры надпочечников, гипотензию, что ведет к сердечно-мышечному коллапсу и гибели в течение месяца после рождения при отсутствии соответствующего лечения.

Вирильная форма обусловлена неполным дефицитом 21-гидроксилазы, блокируется синтез только глюкокортикоидов, при этом сохраняется синтез минералокортикоидов. Снижение уровня кортизола приводит к гормональному дисбалансу в сторону увеличения количества андрогенов, продуцируемых корой надпочечников, на ранних сроках внутриутробного развития организма.

Легкая неклассическая, или поздняя, форма проявляется в период пубертата, чаще встречается в определенных популяциях: евреи ашкенази (3,7%), испанцы (1,9%), итальянцы (0,3%). Клинические признаки включают: гирсутизм, преждевременное половое созревание у детей, акне.

На **рис. 2.31** представлен алгоритм проведения медико-генетического консультирования семей с данным заболеванием.

Ферменты группы 17 β -гидроксистероиддегидрогеназ, а именно 17 β -гидрокси-

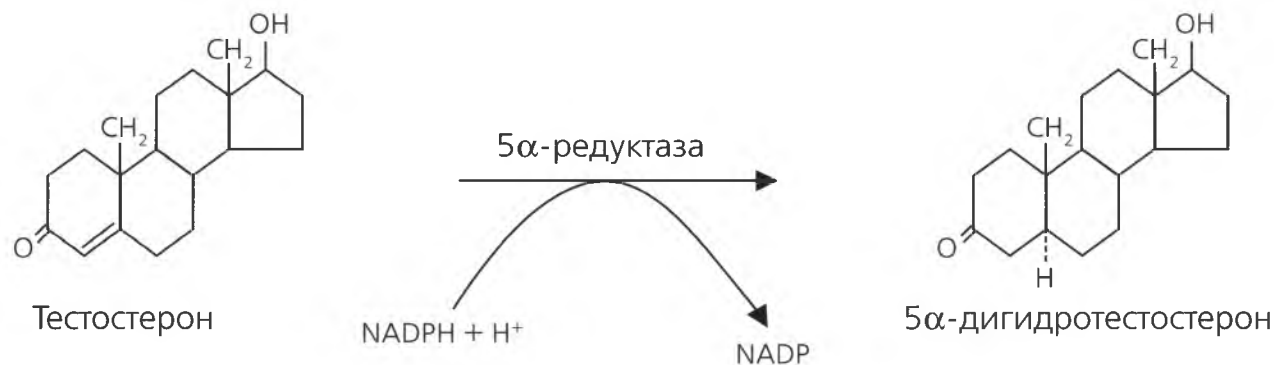


Рис. 2.32. Метаболизм тестостерона в 5α-дигидротестостерон

стероиддегидрогеназа-III, вырабатываются только в яичках. Мутации в гене, кодирующем этот фермент, обуславливают классический синдром мужского псевдогермафродитизма, который часто называют дефицитом 17-кетостероидредуктазы, впервые был описан в 1971 г. (Saez et al., 1971; Geissler et al., 1994).

Фермент 17β-гидроксистероиддегидрогеназа (17β-Hydroxysteroid dehydrogenase – HSD17B3), часто называемый 17-кетостероидредуктазой, обнаружен в лизосомах, участвует в превращении дегидроэпиандростерона в тестостерон. Ген **HSD17B3** (hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 3) (MIM 605573), кодирующий указанный выше фермент, локализован в участке q22 хромосомы 9, содержит 11 экзонов (Geissler et al., 1994). Наиболее распространенный тип мутаций, возникающих при дефиците фермента, – миссенс-мутация в экзоне 3, приводящая к снижению активности фермента на 15-20% от нормального уровня, часто встречается среди этнической группы арабов сектора Газа.

В других популяциях выявляют различные мутации во всех 11 экзонах, чаще в участках вблизи 3'-конца, особенно в экзонах 9 и 10, среди них: сдвиг рамки считывания, мутации сплайсинга (экзон 3), нонсенс-мутации или стоп-мутации, последние приводят к отсутствию ферментативной активности 17β-гидроксистероиддегидрогеназы (Andersson et al., 1996; Boehmer et al., 1999; Lindqvist et al., 2001).

У пациентов с дефицитом 17β-гидроксистероиддегидрогеназы наблюдают

мужской генетический и гонадный пол, отмечают также слепое влагалище, отсутствие матки. Удовлетворительно развитые яички расположены в паховых каналах или больших половых губах. В пубертатном периоде происходит вирилизация за счет экстрагонадного (в коре надпочечников) превращения андростендиона в тестостерон, а также снижение уровня тестостерона в плазме крови и повышение уровня предшественников тестостерона (андростендиона и дегидроэпиандростерона), что обуславливает развитие гинекомастии у больных.

В метаболизме стероидных гормонов, а именно превращении тестостерона в 5α-дигидротестостерон, принимает участие фермент 5α-редуктаза (**рис. 2.32**).

Дигидротестостерон необходим в эмбриональном периоде для инициации дифференцировки и развития уrogenитального синуса в простату, дифференцировки наружных половых органов; в постнатальном периоде – для полового созревания.

Ферменту 5α-редуктаза присущи две изоформы – SRD5A1 и SRD5A2, кодируемые соответственно генами **SRD5A1** (steroid-5-alpha-reductase, alpha polypeptide 1 (3-oxo-5 alpha-steroid delta 4-dehydrogenase alpha 1)) (MIM 184753) и **SRD5A2** (steroid-5-alpha-reductase, alpha polypeptide 2 (3-oxo-5 alpha-steroid delta 4-dehydrogenase alpha 2)) (MIM 607306). Этот фермент экспрессируется в гонадах, а также простате. Ген **SRD5A2** локализован в участке p23 хромосомы 2 и содержит пять экзонов (Thigpen et al.,

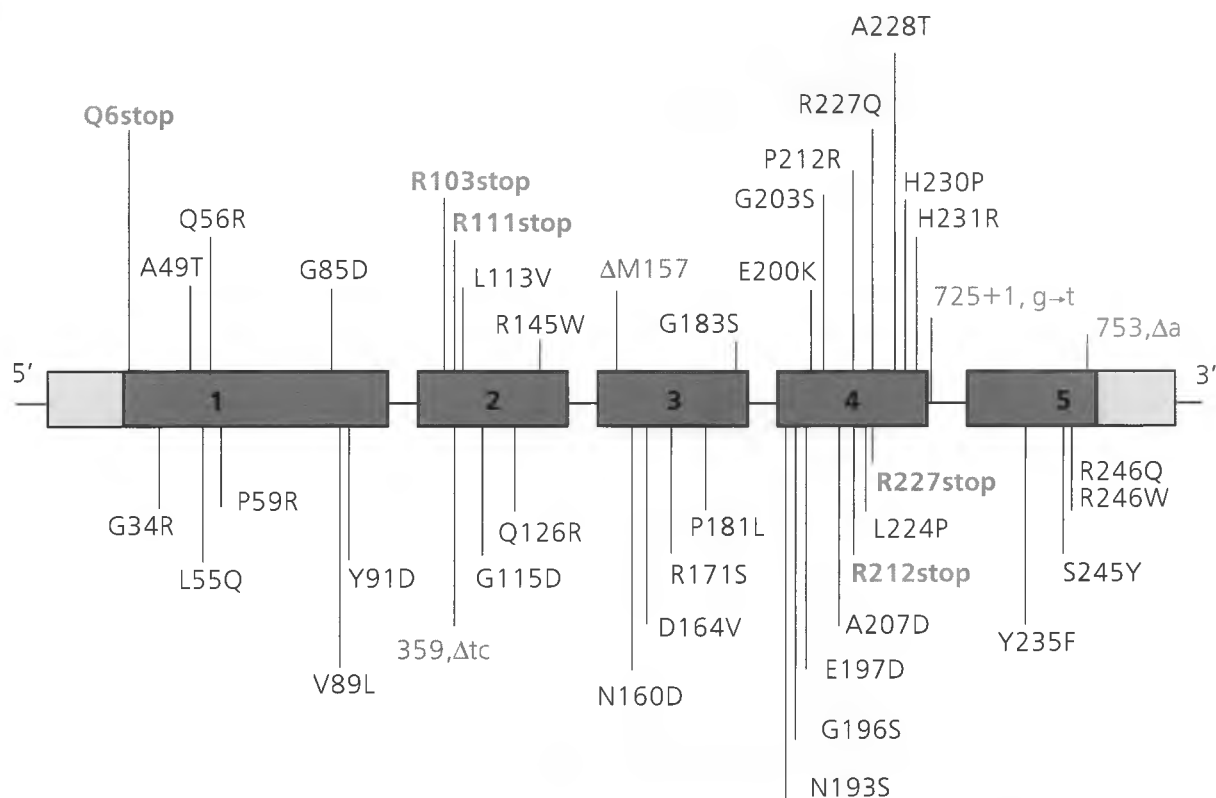


Рис. 2.33. Мутации в гене 5 α -редуктазы (участок р23 хромосомы 2)

1992, 1993). Мутации в гене *SRD5A2* приводят к проявлению неполного мужского псевдогермафродитизма второго типа (Jenkins et al., 1992; Vilchis et al., 1997; Sasaki et al., 2003). Описаны 42 мутации в этом гене у пациентов с синдромом дефицита 5 α -редуктазы 2, у которых активность фермента снижена или отсутствует. У этих пациентов выявляют инактивирующие мутации во всех пяти экзонах, большинство из которых являются точковыми мутациями, из них чаще встречаются миссенс-мутации (Vilchis et al., 1997, 2000; Mazen et al., 2003) (**рис. 2.33**).

Одним из проявлений нарушения на уровне метаболизма стероидных гормонов (превращение тестостерона в дигидротестостерон в связи с дефицитом 5 α -редуктазы) является псевдовагинальная промежностно-мошоночная гипоспадия. **Псевдовагинальная промежностно-мошоночная гипоспадия (PPSH)** (MIM 264600) представляет собой мужской псевдогермафродитизм с аутосомно-рецессивным типом наследования, при котором отсутствие или

дефицит 5 α -редуктазы, а именно ее второй изоформы обуславливает у пациентов с кариотипом 46,XY неполную вирилизацию наружных половых органов, гипоспадию с наличием псевдовлагалища, гипоплазию предстательной железы, крипторхизм, отмечают также блокирование сперматогенеза на ранних этапах дифференцировки герминативных клеток вследствие повышенной температуры яичек, находящихся в паховом канале. Это патологическое состояние впервые было описано в 1955 г. у трех братьев, родители которых состояли в близкородственном браке (De Vaal, 1955).

Большинство пациентов являются гомозиготными носителями точковых мутаций и около 40% – компаунд-гетерозиготами (Vilchis et al., 2000; Fernandez-Cancio et al., 2004; Bahceci et al., 2005). Описаны также два случая однородительской дисомии отцовского происхождения мутации в гене *SRD5A2* (Chavez et al., 2000). Мутацию гена *SRD5A2* и полиморфизм в экзоне 1 этого гена со снижением активности фермента приблизительно на 30% выявляют у пациентов с микропенией