

НОВАЯ МУТАЦИЯ ГЕНА АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА У ПАЦИЕНТКИ С ПОЛНОЙ ФОРМОЙ СИНДРОМА НЕЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНДРОГЕНАМ

Л.Я. ПИЛИП, Д.А. МИКИТЕНКО, И.А. СУДОМА, В.Д. ЗУКИН

Клиника репродуктивной медицины «Надия», Киев
E-mail: l.pylyp@ivf.com.ua

Синдром нечувствительности к андрогенам (синдром Морриса) возникает в случаях стойкости тканемишеней к воздействию андрогенов, что приводит к клиническим фенотипам с разными уровнями феминизации — от мужского бесплодия до нормальных наружных половых органов женского типа у пациентов с мужским кариотипом. Андрогеновый рецептор после активации андрогенами связывается с ДНК клеток-мишеней, индуцируя биологические изменения, которые приводят к развитию мужских половых органов. На сегодня известно более 800 мутаций гена андрогенового рецептора у пациентов с синдромом нечувствительности к андрогенам. Большинство мутаций локализованы в лиганд-связывающем домене. В настоящей работе приведено описание семьи с двумя женщинами с синдромом полной нечувствительности к андрогенам и кариотипом 46,XY. Проведение полноэкзомного секвенирования позволило выявить новую мутацию в экзоне 1 гена андрогенового рецептора (с.238C>T) у пробанда и ее сестры с клиническим фенотипом синдрома полной нечувствительности к андрогенам.

Ключевые слова: синдром нечувствительности к андрогенам, мутации гена андрогенового рецептора.

Введение. Андрогены играют ключевую роль в развитии и поддержании мужского фенотипа путем связывания с андрогеновым рецептором (АР) и модуляции экспрессии андрогенозависимых генов, продукты которых отвечают за дифференциацию и развитие мужских половых органов [1]. Ген АР картирован на длинном плече хромосомы X в регионе Xq11-q12, состоит из восьми экзонов, разделенных интронами размером до 26 Кб и кодирует белок, состоящий из 919 аминокислот [2, 3]. Мутации в гене АР приводят к развитию синдрома нечувствительности к андрогенам (синдром Морриса, OMIM № 300068) разной степени; выделяют мягкую, частичную или полную (тестикулярная феминизация) форму синдрома [4].

Для носителей мутации гена АР с клиническим фенотипом полной формы синдрома нечувствительности к андрогенам характерны кариотип 46,XY и аномальное развитие внешних и внутренних половых органов. Для постановки диагноза синдрома Морриса необходимыми являются клинические, гормональные и молекулярно-генетические исследования, результаты которых крайне важны для определения тактики ведения таких пациентов, включая в отдельных случаях необходимость определения пола. Значительная вариабельность клинических фенотипов у носителей одинаковых мутаций усложняет молекулярно-генетическую диагностику и консультирование пациентов с синдромом нечувствительности к андрогенам. На сегодня описано более 800 мутаций гена АР [5], на 90 % состоящих из однонуклеотидных замен, в основном нонсенс-мутаций [6]. В настоящей работе приведено описание новой нонсенс-мутации экзона 1 гена АР (с.238C>T) у пациентки с полной формой синдрома нечувствительности к андрогенам.

Материалы и методы. Женщина-пробанд (III-1) обратилась в Клинику репродуктивной медицины «Надия» (г. Киев). Сбор анамнеза и анализ родословной позволили предположить наличие заболевания с X-сцепленным рецессивным типом наследования. Цитогенетическое исследование образцов периферической крови проведено у пробанда (III-1), сестры (III-3) и матери (II-2). Выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови для молекулярно-генетических исследований осуществляли с использованием коммерческого набора Macherey-Nagel NucleoSpin® Blood kit (Германия). Проведено полноэкзомное секвенирование (CentoXome, Centogen, Германия).

Информированные согласия подписаны всеми членами семьи, исследование одобрено этическим комитетом клиники.

© Л.Я. ПИЛИП, Д.А. МИКИТЕНКО, И.А. СУДОМА, В.Д. ЗУКИН, 2017

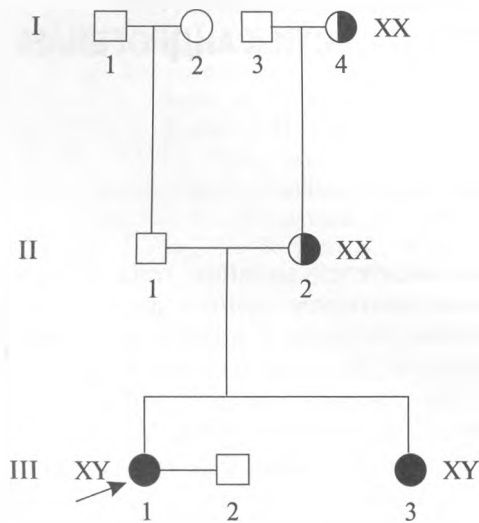


Рис. 1. Родословная семьи с синдромом тестикулярной феминизации

Результаты исследований. В клинику репродуктивной медицины «Надия» обратилась 31-летняя женщина с историей первичной аменореи и бесплодия. Рост пациентки составил 178 см, вес на момент обращения – 60 кг. Клинический осмотр выявил нормальные наружные половые органы женского типа и нормальное развитие молочных желез. Ультразвуковые исследования показали наличие короткого (6 см) влагалища и отсутствие матки. Гонады были представлены двумя структурами: левая $32 \times 31 \times 22$ мм с гетерогенной эхогенностью, напоминающей структуру яичника с фолликулами (8–10 мм), правая $29 \times 22 \times 25$ мм была размещена выше и имела более однородную структуру.

Исследования уровней гормонов показали: ФСГ – 3,79 М/Е (референтные показатели 3,5–12,5), ЛГ – 19,34 U/L (референтные показатели 2,4–12,6), общий тестостерон – 2,7 нмоль/л (референтные показатели 0,29–1,67), АМГ – 18,5 нг/мл (референтные показатели 0,01–0,9 низкий; 1,0–2,5 средний; более 2,5 – высокий).

По результатам ультразвукового и гормонального исследования поставлен первичный диагноз – синдром Рокитанского-Кюстнера-Майера-Хаузера (OMIM № 277000) и проведено медико-генетическое консультирование со сбором родословной (рис. 1).

Клинические проявления у сестры пробанда (III-3), 28 лет, соответствовали клинической картине синдрома тестикулярной феминизации (внешние половые органы женского типа, нормальное развитие молочных желез, аменорея, короткое слепое влагалище). Поскольку у матери (II-2) и бабушки (I-4) наблюдалось позднее менархе, пробанд и ее сестра не обращались для проведения исследований до возраста 28 и 31 года.

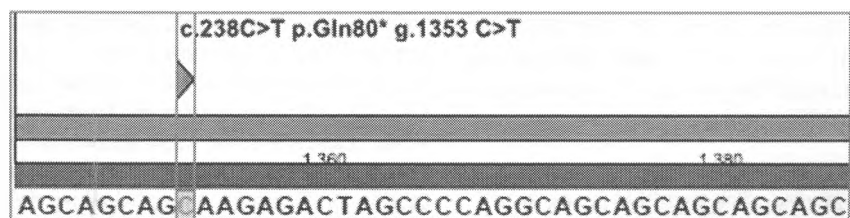
Цитогенетический анализ GTG-окрашенных метафазных хромосом лимфоцитов периферической крови с разрешением 400–550 дисков на гаплоидный геном выявил нормальный мужской кариотип (46,XY) у пробанда (III-1) и ее сестры (III-3). Мать и бабушка пробанда имели нормальный женский кариотип (46,XX).

Полноэкзомное секвенирование выявило гетерозиготную мутацию экзона 1 гена AR (с.238C>T) у матери пробанда (II-2). Пробанд (III-1) и ее сестра (III-3) были гемизиготными носителями мутации с.238C>T (рис. 2).

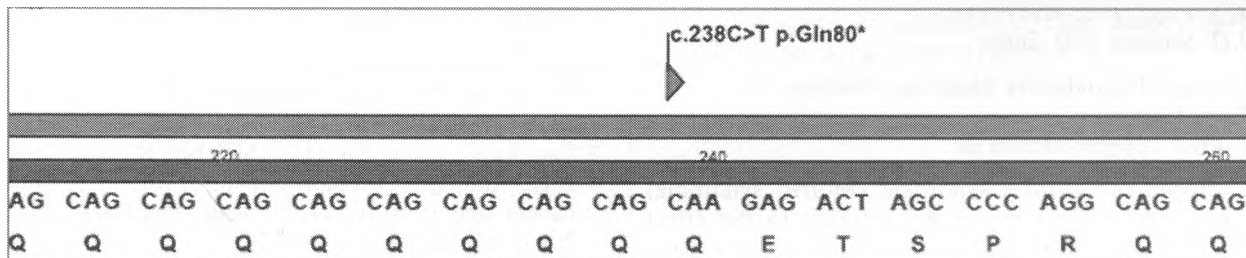
По результатам молекулярно-генетических и клинических исследований поставлен диагноз полной формы синдрома нечувствительности к андрогенам.

Обсуждение полученных данных. Синдром нечувствительности к андрогенам является наиболее частой причиной нарушения половой дифференциации у лиц с кариотипом 46,XY и встречается с частотой, варьирующей от 1:20 400 до 1:99 100 [4]. Описан ряд мутаций гена AR, приводящих к синдрому нечувствительности к андрогенам у лиц с женским фенотипом и мужским кариотипом [1, 4]. Ген AR состоит из четырех доменов: N-терминального (NTD), ДНК-связывающего (DBD), шарнирного участка (HR) и лиганд-связывающего домена (LBD) [7, 8]. NTD содержит участки активации транскрипции, кодируется экзоном 1 и является наименее консервативным из четырех доменов, что позволяет различным кофакторам связываться с рецептором [9]. DBD – домен рецептора, отвечающий за связывание с ДНК. LBD представляет сайт взаимодействия с андрогенами, которое приводит к миграции AR к поверхности ядра и активации генов-мишеней [10].

Мутации в экзонах гена AR, кодирующих разные домены рецептора, могут приводить как



а



б

Рис. 2. Мутация гена AR пробанда: а – ДНК-номенклатура (NG_009014.2(AR):g.1353C>T); б – РНК-номенклатура (NM_000044.2(AR):c.238C>T)

к синдрому частичной, так и полной нечувствительности к андрогенам. Большинство мутаций локализованы в LBD, хотя описаны мутации в каждом экзоне гена AR [5]. В нашем случае мутация NTD представлена однонуклеотидной заменой с.238C>T, следствием которой является конверсия кодона САА, кодирующего глутамин, в стоп-кодон ТАА и терминация транскрипции и трансляции.

Насколько нам известно, эта мутация описана впервые. Не дал результатов поиск мутации с.238C>T в доступных нам базах данных: The Androgen Receptor Gene Mutations Database ARDB, The ALlele FREquency Database ALFRED, The UniProt Knowledgebase UniProtKB, Database of Genomic variants, Cento MD, 1000 genomes, The Singapore Human Mutation and Polymorphism Database, Human Gene Mutation Database (HGMD). В соответствии с Mutation Tester modulator, с.238C>T является мутацией, приводящей к заболеванию [11].

Выявленная мутация локализована в полиглутаминовом участке гена AR (p.Gln80). Описаны мутации с близкой локализацией: дупликация кодона GCA (с.237_239dupGCA) [12], а также мутация с.240dupA, приводящая к сдвигу рамки считывания p.Gln80fs*83 с образованием стоп-кодона в позиции 83 [13]. Ранее также описан случай мутации в поли-

глутаминовом участке с заменой глутамина на терминирующий кодон (p.Gln60) у пациента с синдромом Морриса [14].

Клиническая картина у пробанда (III-1) и ее сестры (III-3) соответствовала клиническому фенотипу полной формы синдрома нечувствительности к андрогенам. Мать (II-2) являлась гетерозиготным носителем мутации с.238C>T и имела позднее менархе.

Следует также отметить, что полноэкзомное секвенирование позволило выявить у пробанда мутацию гена *FBNI*, которая представлена однонуклеотидной заменой с.2956G>A в гетерозиготном состоянии, ведущей к миссенс-мутации (p.Ala986Thr). Поскольку проявления синдрома Марфана (OMIM № 154700) у пациентки не были выявлены, мутацию рассматривали как вариант с неизвестным клиническим значением.

Поскольку пробанд с супругом обратились в клинику с целью преодоления бесплодия, рекомендации включали донацию ооцитов с программой суррогатного материнства.

Выводы. Нами представлен случай нонсенс-мутации с.238C>T экзона I гена AR у пациентки с клиническим фенотипом синдрома полной нечувствительности к андрогенам. Настоящее сообщение увеличивает количество описанных мутаций гена AR и является

важним с точки зрення изучения корреляций между мутациями гена AR и клиническими проявлениями разных форм синдрома нечувствительности к андрогенам.

A NOVEL ANDROGEN RECEPTOR MUTATION IN A PATIENT WITH COMPLETE ANDROGEN INSENSITIVITY SYNDROME

L.Y. Pylyp, D.O. Mykytenko,
I.O. Sudoma, V.D. Zukin

Clinic of Reproductive Medicine «Nadiya»,
Kyiv, Ukraine

E-mail: l.pylyp@ivf.com.ua

Androgen insensitivity syndrome (Morris' syndrome) occurs when target tissues are resistant to the effect of androgens resulting in phenotype with varying degrees of feminization ranging from male infertility to completely normal female external genitalia in patients with male karyotype. Androgen receptor (AR) following activation by androgenic hormones binds to DNA in cells of target tissues and induces biological changes leading to differentiation and development of male urogenital structures. To date, more than 800 mutations in AR gene have been described in patients with AIS with the majority being located in the ligand-binding domain. Here a detailed description of a family with two affected 46,XY females with complete androgen insensitivity is provided. Whole exome sequencing revealed a novel mutation in exon 1 (c.238C>T) of AR gene. The mutation was detected in a proband and her sister, both with normal male karyotype and phenotypic expression of complete androgen insensitivity syndrome.

НОВА МУТАЦІЯ ГЕНА АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА У ПАЦІЄНТКИ ІЗ СИНДРОМОМ ПОВНОЇ НЕЧУТЛИВОСТІ ДО АНДРОГЕНІВ

Л.Я. Пилип, Д.О. Микитенко,
І.О. Судома, В.Д. Зукін

Синдром нечутливості до андрогенів (синдром Морріса) виникає у випадках стійкості тканин-мішеней до дії андрогенів, призводячи до клінічних фенотипів з різними рівнями фемінізації – від чоловічого безпліддя до нормальних жіночих зовнішніх статевих органів у пацієнтів з чоловічим каріотипом. Андрогеновий рецептор після активації андрогенами зв'язується з ДНК клітин-мішеней, індукуючи біологічні зміни, які призводять до диференціації та розвитку чоловічих сечостатевих органів. На сьогодні відомо понад 800 мутацій гена андрогенового рецептора у пацієнтів з синдромом нечутливості до андрогенів, більшість з яких роз-

ташовані у ліганд-зв'язуючому домені. В даній роботі наведено детальний опис родини із двома жінками з каріотипом 46,XY та синдромом повної нечутливості до андрогенів. У результаті повноекзомного секвенування виявлено нову мутацію у екзоні 1 (с.238C>T) гена андрогенового рецептора у пробанд та її сестри з клінічним фенотипом повної форми синдрому нечутливості до андрогенів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Brinkmann, A.O., Molecular basis of androgen insensitivity, *Mol. Cell Endocrinol.*, 2011, vol. 179, no. 1–2, pp. 105–109.
2. Tan, M.H., Li, J., Xu, H.E., Melcher, K., and Yong, E.L., Androgen receptor: structure, role in prostate cancer and drug discovery, *Acta. Pharmacol. Sin.*, 2015, vol. 36, no. 1, pp. 3–23.
3. Trapman, J., Klaassen, P., Kuiper, G.G., van der Korput, J.A., Faber, P.W., van Rooij, H.C.J., Geurts van Kessel, A., Voorhorst, M.M., Mulder, E., and Brinkmann, A.O., Cloning, structure and expression of a cDNA encoding the human androgen receptor, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1988, vol. 153, no. 1, pp. 241–248.
4. Jaaskelainen, J., Molecular biology of androgen insensitivity, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2012, vol. 352, no. 1–2, pp. 4–12.
5. Gottlieb, B., Beitel, L.K., Nadarajah, A., Palioura, M., Trifiro, M. The Androgen Receptor Gene Mutations Database: 2012 update, *Hum. Mutat.*, 2012, vol. 33, no. 5, pp. 887–894.
6. Radpour, R., Falah, M., Aslani, A., Zhong, X.Y., and Saleki, A., Identification of a critical novel mutation in the exon 1 of androgen receptor gene in 2 brothers with complete androgen insensitivity syndrome, *J. Androl.*, 2009, vol. 30, no. 3, pp. 230–232.
7. Bain, D.L., Heneghan, A.F., Connaghan-Jones, K.D., and Miura, M.T., Nuclear receptor structure: Implications for function, *Annu. Rev. Physiol.*, 2007, vol. 69, no. 1, pp. 201–220.
8. Liao, G., Chen, L.Y., Zhang, A., Godavarthy, A., Xia, F., Ghosh, J.C., Li, H., and Chen, J.D., Regulation of androgen receptor activity by nuclear receptor corepressor SMRT, *J. Biol. Chem.*, 2003, vol. 278, no. 7, pp. 5052–5061.
9. Shao, J., Hou, J., Li, B., Li, D., Zhang, N., and Wang, X., Different types of androgen receptor mutations in patients with complete androgen insensitivity syndrome, *Intract. Rare Dis. Res.*, 2015, vol. 4, no. 1, pp. 54–59.
10. Galani, A., Kitsiou-Tzeli S., Sofokleous, C., Kanavakis, E., and Kaplini-Mavrou, A., Androgen insensitivity syndrome: clinical features and molecular

- defects, *Hormones*, 2008, vol. 7, no. 3, pp. 217–229.
11. Schwarz, J.M., Cooper, D.N., Schuelke, M., and Seelow, D., MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age, *Nat. Methods*, 2014, vol. 11, no. 4, pp. 361–362.
 12. Clarke, L., Zheng-Bradley, X., Smith, R., Kulesha, E., Xiao, C., Toneva, I., Vaughan, B., Preuss, D., Leinonen, R., Shumway, M., Sherry, S., Flicek, P., and 1000 Genomes Project Consortium, The 1000 Genomes Project: data management and community access, *Nat. Methods*, 2012, vol. 9, no. 5, pp. 459–462.
 13. Stenson, P.D., Ball, E.V., Mort, M., Phillips, A.D., Shaw, K., and Cooper, D., The Human Gene Mutation Database (HGMD) and its exploitation in the fields of personalized genomics and molecular evolution, *Curr. Protoc. Bioinformatics*, 2012, Chapter 1, Unite 1.13.
 14. Zoppi, S., Wilson, C.M., Harbison, M.D., Griffin, J.E., Willson, J.D., McPhaul, M.J., and Marcelli, M., Complete testicular feminization caused by amino-terminal truncation of the androgen receptor with downstream initiation, *J. Clin. Invest.*, 1993, vol. 91, no. 3, pp. 1105–1112.

Поступила 13.05.16