

Molekularne podłoże determinacji płci człowieka oraz zaburzenia tego procesu z uwzględnieniem roli wybranych genów

Jakub Czarny

Studenckie Koło Naukowe Genetyki Medycznej

Katedra i Zakład Genetyki Medycznej

Wydział Lekarski

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

jakub01cz1@gmail.com

Praca napisana pod opieką dr n.med. Katarzyny Wołyńskiej

Rozwój płciowy płodu, w tym proces determinacji płci, regulowany jest przez szereg genów zlokalizowanych zarówno na chromosomach płci, np. *SRY* (chrom. Y) czy *STARD8* (chrom. X), jak i na autosomach np. *WT1*, *GATA4*, *NR5A1*, *DMRT1*, *SOX9*, *STARD1*. Mutacje tych genów powodują zaburzenia rozwoju płciowego o szerokim spektrum fenotypowym. Ponadto w przypadku mutacji niektórych z tych genów obserwuje się zaburzenia ogólnorozwojowe, np. niedorozwój umysłowy, autyzm, zaburzenia układu krążenia (m.in. niedorozwój przegrody komór), wrodzone dystrofie mięśniowe, heterotaksje, a także inne liczne rozwojowe zmiany wielonarządowe. Należy zatem pamiętać, że mutacje genów kontrolujących determinację płci odpowiadają nie tylko za rozwój układu płciowego człowieka, ale także wpływają na szereg innych procesów rozwojowych, w tym prawidłową organogenezę.

Wpływ wydzielania hormonów płciowych i ekspresji genu *SRY* na determinację płci u ludzi

Płeć fenotypowa jest bezpośrednio determinowana przez hormony wydzielane przez płód, a później przez narodzony organizm ludzki. Najistotniejsze są hormony wydzielane przez gonady, w tym androgeny (w tym testosteron), estrogeny (w tym estradiol) oraz progestageny (w tym progesteron). Proces determinacji płci rozpoczyna się już w czwartym tygodniu życia płodowego od uformowania

niezróżnicowanych grzebieni moczowo-płciowych zasiedlanych w piątym tygodniu przez pierwotne komórki płciowe wyróżnicowane z macierzystych komórek gametogenicznych [1-3].

Od 6 tygodnia życia płodowego zaczyna ulegać ekspresji gen *SRY* prawidłowo zlokalizowany na chromosomie Y, kodujący czynnik determinujący rozwój jądra (ang. *testis-determining factor*, TDF), tj. czynnik transkrypcyjny, wiążący DNA i regulujący inne czynniki transkrypcyjne, w tym *SOX9*. Ekspresja *SRY* przyczynia się do rozwoju

pierwotnych sznurów płciowych przekształcających się następnie w kanaliki nasienne. W centralnej części tworzą się jeszcze niezróżnicowane gonady, przekształcające się w przypadku fenotypu męskiego w jądra. Wówczas przekształcone, pobudzone komórki Leydiga wydzielają testosteron, a komórki Sertolego hormon antymüllerowski (ang. *anti-Müllerian Hormone*, AMH). W ten sposób dochodzi do wyindukowania rozwoju męskich narządów rozrodczych i zapobiegania rozwojowi żeńskich narządów rozrodczych [1-3].

W przypadku braku genu *SRY* inicjowany jest rozwój fenotypowej płci żeńskiej, wykształcane są komórki warstwy ziarnistej i komórki osłonki pęcherzyka Graafa otaczające komórki macierzyste. Równoległe wytwarzane są pary przewodów Wolffa oraz Müllera z nabłonka mezodermalnego, w wyniku wgłębienia wtórnej jamy ciała, równoległe do przewodów przyśródnerczowych. Jednak pod wpływem hormonów są odpowiednio przekształcane. U zarodków XY komórki Sertolego wytwarzają AMH, który powoduje zanik przewodów Müllera, a komórki Leydiga przez wytwarzanie testosteronu indukują różnicowanie najądrzy, nasieniowodów, gruczołu krokowego z przewodu Wolffa, którego pozostałością jest przewód Gartnera. Z kolei 5 α -dihydrotestosteron (DHT) indukuje wykształcanie się zewnętrznych narządów płciowych męskich. Tymczasem u zarodków XX, z powodu braku AMH wykształcają się jajowody, macica, pochwa z przewodów Müllera, którego pozostałością jest przyczeppek

najądrza. W obu przypadkach pozostałości nie pełnią żadnej znaczącej funkcji [1, 2, 4-6].

Jednocześnie warto wspomnieć o przypadkach translokacji *SRY X/Y*, której efektem mogą być różne fenotypy płciowe dziedziczone przez wiele pokoleń (udokumentowane trzy), co wskazuje, że mimo obecności genu *SRY* takie kobiety mogą pozostawać płodne. Potencjalnej przyczyny upatruje się w różnym stopniu redukcji ekspresji *SRY* przez inaktywację chromosomu X lub bliskością miejsca translokacji [7].

Jednocześnie przy utracie genu *SRY* na krótkim ramieniu chromosomu Y (Yp11.2) (ewentualnie uszkodzeniu chromosomu X) u kobiety z kariotypem 46,XY występuje czysta dysgeneza gonad 46,XY, dawniej zespół Swyera (ang. *Swyer syndrome, gonadal dysgenesis, XY female type, GDXY*). Przypomina czystą dysgenezę gonad (tj. nieprawidłowo rozwinięte gonady) 46,XX, występują żeńskie wewnętrzne narządy płciowe (macica, jajowody, pochwa), a wzrost zachodzi prawidłowo. Brak jest jednak trzeciorzędowych cech płciowych, przez co obserwuje się pierwotny brak miesiączki, tj. nie występuje w ciągu całego życia. Obustronnie nie stwierdza się jajników, lecz łącznotkankowe podścielisko gonady (brak czynności hormonalnych) [2, 8].

Geny odpowiedzialne za determinację i rozwój płci u ludzi

Na początku należy zaznaczyć, że opis zaburzeń determinacji płci zawarty

w artykule dotyczy zazwyczaj jednoczesnego występowania fenotypu żeńskiego i genotypu 46,XY lub zaburzeń rozwoju płciowego u kobiet 46,XX. Według dawnego założenia dotyczącego determinacji płci, brak czynników determinujących płęć męską, zwłaszcza genu *SRY*, prowadzi do kształtowania się płci żeńskiej. Aktualnie podejrzewa się, że na determinację płci żeńskiej ma wpływ szlak WNT/RSPO1/ β -katenina i ekspresja genu *FOXL2* (ang. *Forkhead box L2*). Jest to stosunkowo nowe odkrycie i w niniejszej pracy nie rozwinięto tego aspektu [1].

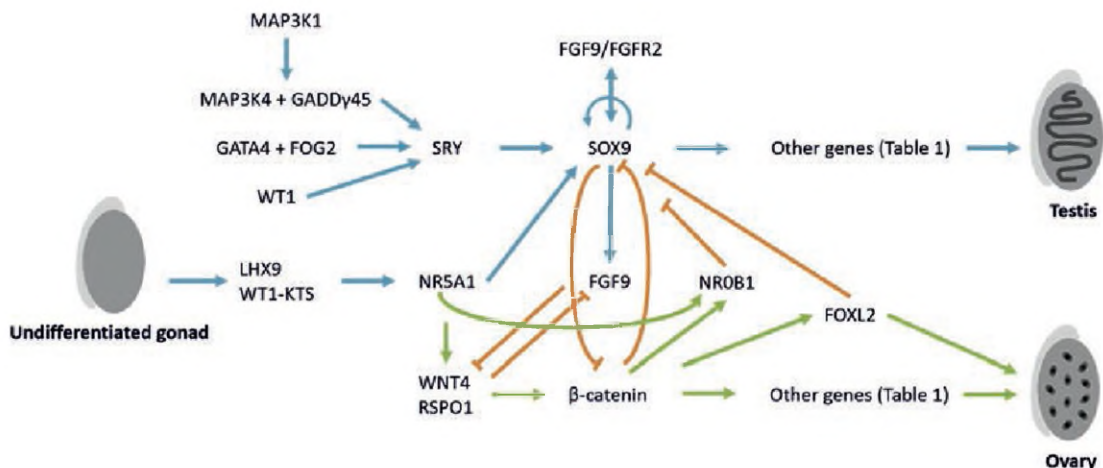
Aby zachować, m.in. równowagę między proliferacją i apoptozą komórek, ekspresja genów zarówno zlokalizowanych na chromosomach płci, jak i autosomach (w tym genów homeotycznych kontrolujących rozwój morfologiczny w początkowych fazach rozwoju zarodka) jest regulowana przez szereg czynników transkrypcyjnych, takich jak *WT1* czy *NR5A1*.

Regulacja *SRY* rozpoczyna się w 41 dniu życia płodowego. Zaburzenia w regulacji jego ekspresji skutkują za-

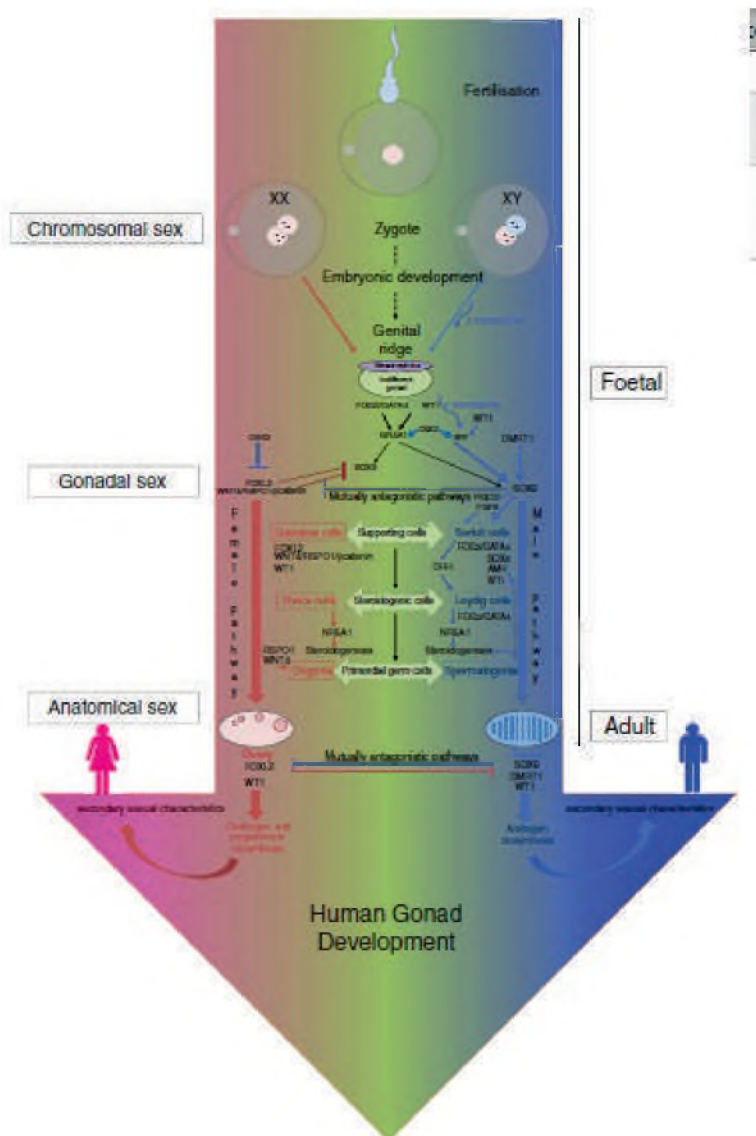
burzeniami determinacji płci (DSD, ang. *disorders of sex determination*) u osobników 46,XY i dysgenezą gonad [1, 2, 5].

Gen *WT1*

Gen *WT1* (ang. *Wilms tumor 1*), zlokalizowany w obrębie krótkiego ramienia chromosomu 11 (region 11p13) wpływa na wzrost i rozwój komórek, a także różne etapy funkcjonowania organizmu, w tym embriogenezę. W rozwoju zarodkowym ekspresja *WT1* zachodzi głównie w układzie moczowo-płciowym, osiągając najwyższy poziom podczas rozwoju nerek w życiu dorosłym wysoki poziom ekspresji *WT1* obserwuje się także w ośrodkowym układzie nerwowym i w tkankach związanych z hematopoezą, w tym w szpiku kostnym i węzłach chłonnych. Poniżej opisano schorzenia wywołane wrodzonymi mutacjami w obrębie tego genu. Nabyte mutacje natomiast występują w ostrej i przewlekłej białaczce szpikowej, w zespole mielodysplastycznym i innych nowotworach układu krwiotwórczego, np. w ostrych białaczkach limfoblastycz-



Ryc. 1. Genetyczna determinacja płci i regulacja ekspresji genów z nią związanych [1]



Ryc. 2. Genetyczna determinacja płci i wpływ ekspresji genów na wykształcanie określonych struktur [4]

nych. Zwiększona ekspresja tego genu, bez jego mutacji, jest stwierdzana w białaczkach i guzach litych. Jeden z produktów izoform produktu ekspresji genu *WT1*, tj. *WT1*βKTS (powstały w wyniku alternatywnego splicingu, skutkującego obecnością w powstałym białku obecne aminokwasów KTS(+)), zaangażowany jest w regulację ekspresji genu *SRY*, a przez to w rozwój gonad. Ta izoform-

ma nie jest bezpośrednim aktywatorem transkrypcyjnym genu *SRY*, ale pełni rolę stabilizatora posttranskrypcyjnego mRNA *SRY*. Mutacje w obrębie izoformy mogą prowadzić do zespołu Frasiera (powstawanie zmniejszonej ilości izoformy KTS(+) do KTS(-) w stosunku 2:1), Denys-Drasha lub WAGR [9]. Na obraz kliniczny zespołu Denysa-Drasha (DDS) składają się następujące

objawy: nefroblastoma (zwykle rozlane stwardnienie mezangium), męskie obojnactwo rzekome (ang. *dysgenetic male pseudohermaphroditism* (46,XY GD)), w tym dysgenезja gonad (ang. *(ovo)testicular gonadal dysgenesis*), zaburzenia pracy kłębuszków nerkowych, steroidooporny zespół nerczykowy, dysfunkcja gruczołu tarczowego i często wiele innych dysfunkcji wielu narządów [9, 10].

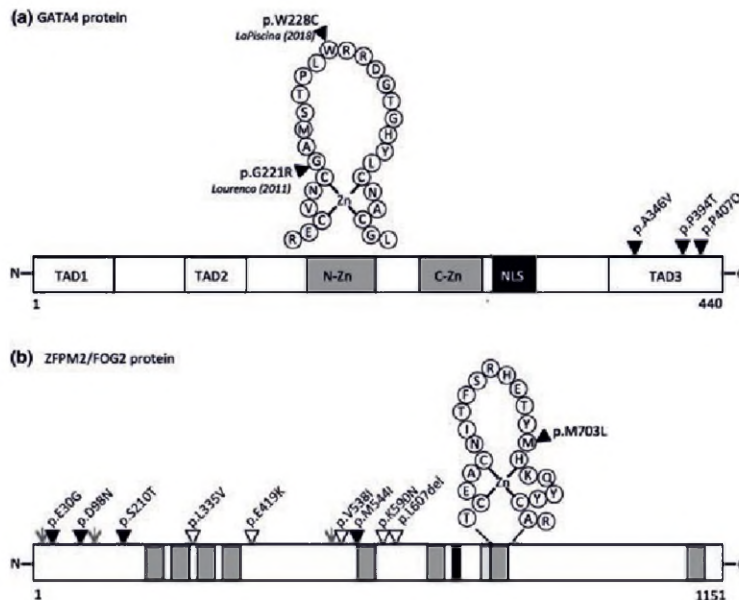
U większości pacjentów z powyżej opisanymi zaburzeniami występowały mutacje w obrębie egzonów 6-9 oraz intronów 6-9 genu *WT1*, a najczęstsza z nich to mutacja c.1180C>T (p.Arg394Trp - na szczycie palca cynkowego ZF3, co może odrywać kluczową rolę w wiązaniu białka, a przez to w regulacji ekspresji *SRY*). Mutacje w obrębie tego genu mogą przyczynić się do gonadoblastomy (rozrodczak zarodkowy, czyli guz nowotworowy najczęściej powstający w dysgenetycznych gonadach, u osób z fenotypowymi zaburzeniami płci, zbudowany z dużych komórek, podobnych do komórek nasieniaka lub rozrodczaka oraz z małych komórek podobnych do komórek Sertolego i komórek warstwy ziarnistej; często stanowi podłoże dla rozwoju złośliwych nowotworów zarodkowych)) czy wykształcenia aplastycznych lub dysgenetycznych jąder, choć w przypadku 46,XY nie jest to regulą, gdyż udokumentowano przypadki rozwijania się prawidłowo zbudowanych jąder. U pacjentów z DDS z wykształconymi jądrami obserwuje się produkcję testosteronu i hormonu antymüllerowskiego, ale jest to proces opóźniony, a przez to działanie wypro-

dukowanych hormonów jest nieskuteczne. [9,11,12,13]

Z kolei mikrodelecje w obrębie rejonu 11p13, m.in. w obrębie loci genów *PAX6* (odpowiedzialny za aniridię, tj. wrodzoną beztęczętkowość) i *WT1* (odpowiedzialny za pozostałe objawy) odpowiadają za syndrom **WAGR** (ang. *Wilms tumour, aniridia, genitourinary anomalies and mental retardation*: nefroblastoma, wrodzona beztęczętkowość, nieprawidłowości w obrębie układu moczowo-płciowe, opóźniony rozwój umysłowy) [9, 10].

Gen *GATA4*

Kolejnym czynnikiem transkrypcyjnym aktywującym ekspresję *SRY* jest białko *GATA4* kodowane przez gen o tej samej nazwie zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 8 w regionie 8p23.1 oraz jego kofaktor Friend of *GATA-2* (*FOG2/ZFPM2*). W wyniku transkrypcji genu *GATA-4*, a następnie alternatywnego splicingu pre-mRNA powstaje wiele wariantów tego białka. W trakcie rozwoju kompleks *GATA4/FOG2* jest zaangażowany w regulację genów: *SRY-Box 9 (SOX9)*, *Mis*, *Dhh* - niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania komórek Sertolego; *p450scc*, *3bHSD* i *p450c17*. Te natomiast są niezbędne do prawidłowej biosyntezy steroidów w komórkach Leydiga oraz AMH. Warto zaznaczyć, że kompleks ten rozpoznaje promotory także wielu innych genów. Białko *GATA4* powstałe wskutek ekspresji genu *GATA4* wpływa bezpośrednio na embriogenezę, gonadogenezę (w tym determinację płci męskiej), prawidłowe wykształcanie serca, naczyń wień-



Ryc. 3. Domeny białek GATA4 i białka ZFPM2/FOG2 z potencjalnymi mutacjami [10]

cowych nasierdza i proliferację kardiomiocytów, morfogenezę brzuszną. Co do wpływu na różnicowanie kardiomiocytów naukowcy nie są zgodni. Ponadto białko GATA4 hamuje ekspresję tzw. genów wsierdziowych i śródbłonkowych. Ponadto jest zaangażowany w indukowanie ekspresji sercowo-specyficznych genów z udziałem białek morfogenetycznych kości (ang. *bone morphogenetic protein*, BMP) [6, 14-18].

Mutacje w obrębie genu *GATA4* i *FOG2* (np. heterozygotyczny wariant c.1206T>A [p.Ser402Arg] czy też c.779G>A (p.Arg260Gln); homozygotyczny wariant c.1631G>A (p.Met544Ile) - dotyczą obrębu motywu palca cynkowego) mogą prowadzić do nieprawidłowej budowy układu sercowo-naczyniowego (częste ubytki przegrody międzykomorowej czy ostra wrodzona choroba serca u noworodków, niewydolności serca, kardiomiopatie u dorosłych; przy *FOG2* -/-tetralogia Fallota), wrodzonej prze-

pukliny przeponowej, heterotaksji, zespołu wielotorbielowatych jajników, niektórych nowotworów oraz zaburzeń ekspresji genu *SRY* i genów kodujących enzymy regulujące syntezę testosteronu, a przez to nieprawidłowego formowania przewodów nasiennych czy dysgenezy gonad (aplastyczność gonad). Mutacja ta może prowadzić także do zaburzeń rozwoju, takich jak opóźniony wzrost i rozwój organizmu [14, 15, 18].

Gen *NR5A1*

Gen czynnika 1 grupy A podrodziny 5 receptora jądrowego *NR5A1* (ang. *nuclear receptor subfamily 5 group A member 1*) zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 9 (region 9q33.3) [1] koduje czynnik steroidogeniczny SF-1 (ang. *steroidogenic factor 1*) zaangażowany w proces determinacji płci. Pierwotnie uważano go za gen kodujący hydroksylazy steroidowe związane z cytochromem P450 [3], jednak obecnie utożsamia się go z rolą

Patient Id	Karyotype	Ancestry	External genitalia	Gonads	Sex of rearing	Other DSD variant	cDNA: NM_002052.4	Protein: NP_002043	Zygosity	Inherit.	ClinVar: Condition	Variant class ¹
<i>Variants identified in GATA4</i>												
1	46,XY	EUR	Micropenis, cryptorchidism	Testis Immature tubules, Sertoli-only phenotype, spermatogonia absent, calcifications present	Male	N	c.634G > C	p.W228C	het	M(D) A(D)	n/a	P
2	46,XY	KHM	Perineal hypospadias, chordee and penoscrotal transposition	Bilateral descended testes	Male	N	c.1037C > T	p.A346V	het	n/a	AVSD4	LB
3 ^b	46,XY	PAK	Perineal hypospadias	Unknown	Male	Y ^b	c.1180C > A	p.P394T	het	n/a	AVSD4	B
4 ^c	46,XY	EUR	Female (no virilization)	Inguinal bilateral testis, no uterus	Female	Y ^c	c.1180C > A	p.P394T	het	n/a		B
5 ^d	46,XY	IDN	Penile hypospadias, imperforate anus	Bilateral descended testes	Male	N	c.1220C > A	p.P407Q	het	n/a	TOF, AVSD4, ASD2, VSD1	B
6	46,XY	IDN	Scrotal hypospadias	Testes palpable, hypoplastic uterus	Male	N	c.1220C > A	p.P407Q	het	n/a		LB
7	46,XY	IDN	Perineal hypospadias	Bilateral inguinal testes	Male	N	c.1220C > A	p.P407Q	het	n/a		LB
Patient id	Karyotype	Ancestry	External genitalia	Gonads	Sex of rearing	Other DSD variant	cDNA NM_012082.3	Protein NP_036214	Zygosity	Inherit.	ClinVar: Condition	Variant class ¹
<i>Variants identified in ZFPM2/FOG2</i>												
8	46,XY	PAK	Perineal hypospadias	Unknown	Male	N	c.89A > G; c.1612G > A	p.E30G; p.V52I	het	n/a	SRXY9; TOF; DORV; DH3	LB VUS
9	46,XY	EUR	Ambiguous (female after surgery)	Ovotesticular	Female	N	c.89A > G; c.1255G > A	p.E30G; p.E419K	het	n/a	SRXY9; TOF; DORV; DH3	LB VUS
10	46,XY	IDN	Perineal hypospadias	Testis not found, indications of decreased gonadal function	Male	N	c.202G > A	p.D68N	het	n/a	SRXY9	B
11	46,XY	EUR	Female	Streak gonads, müllerian structures present	Female	N	c.202G > A	p.D68N	het	n/a		B
12	46,XY	EUR	Ambiguous	Ovotesticular	Female	N	c.620G > C	p.S210T	het	M(1); F(0)	SRXY9	B
3 ^b	46,XY	PAK	Perineal hypospadias	Unknown	Male	Y ^b	c.1003C > G	p.L355V	het	n/a	n/a	B
13	46,XY	EUR	Female, blind vagina and rudimentary uterus	Gonadal agenesis	Female	N	c.1632G > A	p.M544I	het	n/a	SRXY9	LB
14	46,XY	PAK	Perineal hypospadias	Unknown	Male	N	c.1770G > C	p.K590N	het	n/a	n/a	VUS
15 ^e	46,XY	KHM	Micropenis, penoscrotal hypospadias	Bilateral descended testes	Male	Y ^e	c.1818_1820del	p.L607del	het	M(0)	n/a	VUS
16 ^f	46,XY	IDN	Clitoromegaly, one perineal opening	Inguinal, atrophic dysgenetic testes, carcinoma in situ and seminoma	Female	Y ^f	c.2107A > C	p.M703L	het	n/a	DH3; DORV	B

Notes: Ancestry: EUR (European); KHM (Cambodian); PAK (Pakistani); IDN (Indonesian).

Inherit. (inheritance): M (maternal), F (paternal), A (affected family member), () variant allele not present, (1) variant allele present; n/a) data not available.

ClinVar annotation and associated OMIM phenotype: AVSD4 (Atrioventricular septal defect 4; MIM# 614430); TOF (Tetralogy of Fallot; MIM# 187500); VSD1 (Ventricular septal defect 1; MIM# 614429); VSD2 (Atrial septal defect 2; MIM# 609941); VSD1 (Ventricular septal defect 1; MIM# 614429); DORV (doubly outlet right ventricle); DH3 (Diaphragmatic hernia 3; MIM# 610187); SRXY9 (46,XY Sex reversal 9; MIM# 614067); TOF (Tetralogy of Fallot; MIM# 187500); (n/a) variant not reported in ClinVar.

¹Variant class. (Variant classification: P (pathogenic), B (benign), LB (likely benign), VUS (variant of unknown significance)) according to curation, see Table S2.

²Case 3 has a *GATA4* and *FOG2* missense variant.

³Patients with variants in other DSD genes (see Table S1 for variant details).

⁴Case 5: multiple congenital anomalies noted (dysmorphic facial features, hypertrichosis, web neck, low posterior hairline, clinodactyly of 4-5th toes, not investigated for CHD).

Ryc. 4. Wybrane mutacje genu GATA4 [14]

w regulacji hormonalnej. Produkt genu *NR5A1* bierze udział w rozwoju nie-
zróżnicowanej gonady, funkcjonowaniu i różnicowaniu, m.in. komórek Sertolego, steroidogenezie, regulacji osi podwzgórze-przysadka. W ludzkich zarodkach ulega ekspresji między 32

a 33 dniem życia zarodkowego, a następnie także w komórkach somatycznych pierwotnych jąder. Razem z białkiem SRY może łączyć się z elementem regulatorowym *TESCO* (ang. *testis-specific enhancer of Sox9 core*), m.in. w celu utrzymania ekspresji

genu *SOX9* (9p24.3), którego mutacje, np. p.Pro108Leu, p.Trp143Arg, p.Arg152Pro, p.Pro170Arg oraz jednego z jego 3 enhancerów, eALDI aktywowanego przez białka SRY i SF1, powodują zaburzenia procesu determinacji płci męskiej, w tym częściową lub całkowitą dysgenezę gonad u osobników 46,XY. Gdy komórki Sertolego są funkcjonalne i spełniają już swoją funkcję, gen *NR5A1* jest aktywowany, powodując wydzielanie hormonu AMH, a przez to indukcję zaniku przewodów Müllera w męskich płodach. Ulegając ekspresji w jądrze brzuszno-przyśrodkowym podwzgórza oraz przysadki, gen oddziałuje z genami kodującymi hormon gonadotropowy (GnRH), luteinizujący (LH) i folikulotropowy (FSH) [1, 4, 19].

Mutacje *NR5A1* (m.in. p.Arg92Trp, p.Arg92Gln) skutkują zaburzeniami determinacji płci zarówno 46,XY, jak i 46,XX, co wiąże się w pierwszym przypadku z niepłodnością męską, a w drugim z przedwczesnym wygasaniem czynności jajników (POF, ang. *premature ovarian failure*). Podejrzewa się pośredni wpływ *NR5A1* na dysgenezę gonad poprzez jego inhibicję przez nadekspresję genu *NROB1*, co stopniowo redukuje steroidogenezę i jednocześnie wzmacnia produkcję AMH [20].

Gen *DMRT1*

Gen *DMRT1* zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 9 w regionie 9p24.3 koduje czynnik transkrypcyjny DMRT1 (ang. *doublesex and mab-3 related transcription factor 1*), regulujący funkcjonowanie komórek Sertole-

go. Podobnie jak dwa inne białka z rodziny DMRT białko DMRT1 posiada domenę DM (ang. *zinc finger-like DNA-binding motif*) zdolną do łączenia się z DNA, pełniącą konserwatywną funkcję w procesie determinacji płci u kręgowców. Główna lokalizacja, gdzie białko DMRT1 jest produkowane, to komórki Sertolego i sznury rdzenne jądra. W przypadku mutacji tego białka wszystkie te struktury są wykształcone częściowo lub całkowicie nieprawidłowo. Ekspresja genu *DMRT1*, który jest kluczowy do wykształcenia cech męskich, indukuje rozwój płciowy, w tym formowanie się jąder. Ponadto białko DMRT1 hamuje proces mejozy w komórkach spermatogenicznych przez inhibicję genu *Stra8* (ang. *signaled by retinoic acid 8*) biorącego udział w aktywacji transkrypcji premejotycznej przy udziale kwasu retinowego oraz receptora kwasu retinowego (ang. *retinoic acid receptor, RARα*). Ponadto aktywuje mitozę, promując aktywację genów różnicowania komórek spermatogenicznych, np. *SOHLH1*.

Umożliwia to komórkom jąder produkcję większej ilości plemników po procesie różnicowania. DMRT1 odgrywa też zasadniczą funkcję w postnatalnym utrzymaniu rozwoju płciowego męskiego i zatrzymywaniu procesu feminizacji przez represję transkrypcji promotorów związanych z genami charakterystycznymi dla płci żeńskiej, m.in. *FOXL2* i aktywację genów specyficznych dla płci męskiej. Inne funkcje genu *DMRT1* to supresja niektórych nowotworów i regulacja oogenezy. U płodów ekspresję wykryto

w komórkach gonad bipotencjalnych już w 6 tygodniu ciąży. W dorosłych organizmach ludzkich gen *DMRT1* ulega ekspresji tylko w jądrach, w tym komórkach Sertolego, gdzie ekspresja zachodzi w 8.-20., 22.-40. tygodniach ciąży, dzieciństwie i okresie dojrzałości płciowej [21].

Mutacje genu już w stanie heterozygotycznym prowadzą do zaburzeń rozwoju zarodkowego, nadmiernej proliferacji komórek germinalnych, nieprawidłowej mejozy, mitozy, migracji komórek oraz nieprawidłowego rozwoju jąder, feminizacji XY, a przez to odwrócenia płci 46,XY i dysgenezji gonad, niepłodności. Stąd też, do prawidłowego rozwoju płciowego konieczne jest występowanie 2 prawidłowych alleli genu *DMRT1* [21].

Jedną z częściej opisywanych mutacji jest heterozygotyczny wariant p.Arg80Ser (inna to p.Tyr84Cys) ściśle powiązany z dysgenezją gonad 46,XY, która powoduje zmianę oddziaływania i rozpoznawania białka *DMRT1* z helisą DNA. Zmiana zlokalizowana jest w konserwatywnym regionie, który może tym samym odgrywać kluczową rolę w procesie determinacji płci.

Delecja tego genu jest często powiązana z delecją krótkiego ramienia chromosomu 9 i długiego ramienia chromosomu 10. Zespół delecji krótkiego ramienia chromosomu 9 cechuje m.in. opóźniony rozwój umysłowy, zniekształcenia czaszki i twarzy, jednak te elementy obrazu klinicznego nie występują przy mniejszych delecjach subteloemerycznych (9p21-24) w obrębie tego obszaru. Objawem charakterystycznym w obu przypadkach jest

natomiast dysgenezja gonad. U osobników 46,XY często dochodzi do częściowego lub całkowitego odwrócenia płci polegającego, m.in. na wykształceniu mieszanych lub żeńskich narządów rozrodczych zewnętrznych oraz wewnętrznych (częściowa lub całkowita dysgenezja gonad) [22].

Geny *STARD1* oraz *STARD8*

Geny należące do rodziny *STAR* (ang. *steroidogenic acute regulatory*) kodują białka zawierające domenę zdolną do wiązania lipidów (ang. *steroidogenic acute regulatory (STAR) protein-related lipid transfer*). Białko *STARD1* kodowane przez gen *STARD1* zlokalizowany na krótszym ramieniu chromosomu 8 (region 8p11.23) zawiera domenę *START* wiążącą cholesterol i transportującą go z zewnętrznej błony mitochondrialnej do wewnętrznej, gdzie ma miejsce I etap enzymatycznej syntezy steroidów [23-26], co ma kluczowe znaczenie w biosyntezie steroidowych hormonów płciowych w organizmie ludzkim, w tym testosteronu. Białka te zawierają konserwatywną sekwencję 210 aminokwasów zawierającą α/β helisy tworzącą hydrofobową kieszeń do wiązania ligandów, takich jak cholesterol, fosfolipidy, sfingolipidy i niektóre kwasy tłuszczowe.

Geny *STAR* ulegają ekspresji w komórkach produkujących steroidy, w tym komórkach Leydiga w jądrach, komórkach ciała żółtego w jajnikach oraz w komórkach kory nadnerczy. Mutacje genów *STAR* skutkują blokadą syntezy steroidów, powodując wrodzony tłuszczowy przerost nadnerczy i zaburzenia determinacji płci 46,XY [27, 28]. Jed-

nocześnie prowadzi to do akumulacji kropeł cholesterolu w obrębie cytoplazmy komórek Leydiga i kory nadnerczy.

Gen *STARD8* zlokalizowany na chromosomie X w regionie Xq13.1 koduje białko z podrodziny aktywatorów Rho GTP-az zawierające specyficzną domenę regulującą transport lipidów. Zlokalizowane jest ono w zespoleniach ogniskowych i może być zaangażowane w regulację funkcjonowania niektórych elementów komórkowych. Odpowiada również za prawidłową dystrybucję lipidów w komórce. Jest to też antyonkogen, inaczej gen supresorowy - działa hamująco na procesy proliferacji komórkowej bądź stabilizującą na procesy utrzymujące stabilność genetyczną komórki i zapobiegawystępowaniu niektórych nowotworów. Wg GeneCards, niektóre mutacje (np. p.Ser993Asn) w jego obrębie mogą skutkować dysplazją czaszkowo-czołowo-nosową, ale też dysgenезją gonad 46,XY (typowe objawy to: wykształcenie typowych narządów rozrodczych żeńskich zewnętrznych i wewnętrznych; niskie stężenia estradiolu i testosteronu we krwi, wysokie stężenia gonadotropin we krwi) [1, 26, 29].

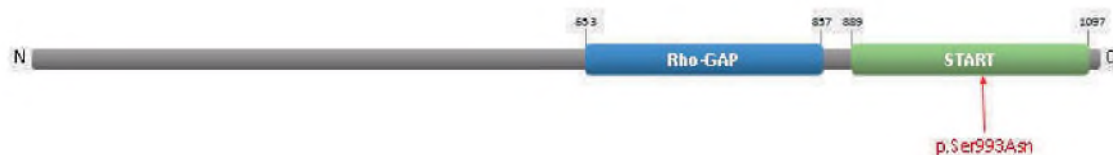
Podsumowanie

W niniejszym artykule omówiono wybrane aspekty skutków mutacji niektó-

rych genów biorących udział bezpośrednio lub pośrednio w procesie determinacji płci. Z powodu złożoności zjawiska często niemożliwe jest jednoznaczne określenie bezpośredniej przyczyny określonego objawu klinicznego. Stwierdzenie wpływu określonej mutacji na zaburzenia determinacji płci bez określenia schematu dziedziczenia w obrębie nawet trzech pokoleń może okazać się niewystarczające. Wymaga to szczególnych badań, w tym funkcjonalnych, a w celu doprecyzowania funkcji genu - ścisłej współpracy z wieloma różnymi specjalistami, zwłaszcza z zakresu andrologii i endokrynologii. Niekiedy choroby determinowane są, np. mutacjami genów, które nie kodują enzymów szlaku syntezy hormonów, lecz ich receptory (np. AR). Mimo poznania wielu mechanizmów składających się na determinację płci i rozwój płciowy potrzebne są dalsze badania zgłębiające ich podłoże genetyczne i metaboliczne.

Bibliografia

- [1] Baetens D, Verdin H, De baere E, Cools M. Update on the genetics of differences of sex development (DSD). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2019;33(3):101271.
- [2] Nistal M, Paniagua R, González-peramato P, Reyes-múgica M. Perspectives in Pediatric Pathology, Chapter 5. Gonadal Dysgenesis. *Pediatr Dev Pathol.* 2015;18(4):259-78.
- [3] Croft B, Ohnesorg T, Hewitt J, et al. Author



Ryc. 5. Opisana mutacja STARD8

Correction: Human sex reversal is caused by duplication or deletion of core enhancers upstream of SOX9. *Nat Commun.* 2019;10(1):3351.

[4] Bashamboo A, Eozenou C, Rojo S, Mcelreavey K. Anomalies in human sex determination provide unique insights into the complex genetic interactions of early gonad development. *Clin Genet.* 2017;91(2):143-156.

[5] Buonocore F, Clifford-mobley O, King TFJ, et al. Next-Generation Sequencing Reveals Novel Genetic Variants (SRY, DMRT1, NR5A1, DHH, DHX37) in Adults With 46,XY DSD. *J Endocr Soc.* 2019;3(12):2341-2360.

[6] Piprek RP. Genetic mechanisms underlying male sex determination in mammals. *J Appl Genet.* 2009;50(4):347-60.

[7] Sharp A, Kusz K, Jaruzelska J, Szarras-czapnik M, Wolski J, Jacobs P. Familial X/Y translocations associated with variable sexual phenotype. *J Med Genet.* 2004;41(6):440-4.

[8] Swyer GI. Male pseudohermaphroditism: a hitherto undescribed form. *Br Med J.* 1955;2(4941):709-12.

[9] Bielińska E, Matiakowska K, Haus O. Heterogeneity of human WT1 gene. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2017;71:595-601.

[10] Vankalakunti M, Jha PK, Madraki RM, Siddini V, Babu K, Ballal SH. Diffuse mesangial sclerosis - Report of two cases. *Indian J Nephrol.* 2012;22(3):213-6.

[11] Köhler B, Biebermann H, Friedsam V, et al. Analysis of the Wilms' tumor suppressor gene (WT1) in patients 46,XY disorders of sex development. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):E1131-6.

[12] Mazen I, Hassan H, Kamel A, Mekawy M, Mcelreavey K, Essawi M. WT1 Gene Mutation, p.R462W, in a 46,XY DSD Patient from Egypt with Gonadoblastoma and Review of the Literature. *Sex Dev.* 2017;11(5-6):280-283.

[13] Andrade JG, Guaragna MS, Soardi FC, Guerra-júnior G, Mello MP, Maciel-guerra AT. Clinical and genetic findings of five patients with WT1-related disorders. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2008;52(8):1236-43.

[14] Van den berghe JA, Robevska G, Eggers S, et al. Analysis of variants in GATA4 and FOG2/ZFPM2 demonstrates benign contribution to 46,XY disorders of sex development. *Mol Genet Genomic Med.* 2020;8(3):e1095.

[15] Tevosian SG, Deconinck AE, Tanaka M, et al. FOG-2, a cofactor for GATA transcription fac-

tors, is essential for heart morphogenesis and development of coronary vessels from epicardium. *Cell.* 2000;101(7):729-39.

[16] Crispino JD, Lodish MB, Thurberg BL, et al. Proper coronary vascular development and heart morphogenesis depend on interaction of GATA-4 with FOG cofactors. *Genes Dev.* 2001;15(7):839-44.

[17] Molkenin JD, Lin Q, Duncan SA, Olson EN. Requirement of the transcription factor GATA4 for heart tube formation and ventral morphogenesis. *Genes Dev.* 1997;11(8):1061-72.

[18] Tevosian SG, Albrecht KH, Crispino JD, Fujiwara Y, Eicher EM, Orkin SH. Gonadal differentiation, sex determination and normal Sry expression in mice require direct interaction between transcription partners GATA4 and FOG2. *Development.* 2002;129(19):4627-34.

[19] Meyer J, Südbek P, Held M, et al. Mutational analysis of the SOX9 gene in campomelic dysplasia and autosomal sex reversal: lack of genotype/phenotype correlations. *Hum Mol Genet.* 1997;6(1):91-8.

[20] Barbaro M, Cook J, Lagerstedt-robinson K, Wedell A. Multigeneration Inheritance through Fertile XX Carriers of an NR0B1 (DAX1) Locus Duplication in a Kindred of Females with Isolated XY Gonadal Dysgenesis. *Int J Endocrinol.* 2012;2012:504904.

[21] Huang S, Ye L, Chen H. Sex determination and maintenance: the role of DMRT1 and FOXL2. *Asian J Androl.* 2017;19(6):619-624.

[22] Raymond CS, Parker ED, Kettlewell JR, et al. A region of human chromosome 9p required for testis development contains two genes related to known sexual regulators. *Hum Mol Genet.* 1999;8(6):989-96.

[23] Clark BJ, Wells J, King SR, Stocco DM. The purification, cloning, and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 mouse Leydig tumor cells. Characterization of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR). *J Biol Chem.* 1994;269(45):28314-22.

[24] Clark BJ, Stocco DM. StAR-A tissue specific acute mediator of steroidogenesis. *Trends Endocrinol Metab.* 1996;7(7):227-33.

[25] Sugawara T, Lin D, Holt JA, et al. Structure of the human steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene: STAR stimulates mitochondrial cholesterol 27-hydroxylase activity. *Biochemistry.* 1995;34(39):12506-12.

- [26] Clark BJ. The mammalian START domain protein family in lipid transport in health and disease. *J Endocrinol.* 2012;212(3):257-75.
- [27] Lin R, Thompson S, Priess JR. pop-1 encodes an HMG box protein required for the specification of a mesoderm precursor in early *C. elegans* embryos. *Cell.* 1995;83(4):599-609.
- [28] Bhangoo A, Gu WX, Pavlakis S, et al. Phenotypic features associated with mutations in steroidogenic acute regulatory protein. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(11):6303-9.
- [29] Ilaslan E, Calvel P, Nowak D, et al. A Case of Two Sisters Suffering from 46,XY Gonadal Dysgenesis and Carrying a Mutation of a Novel Candidate Sex-Determining Gene STARD8 on the X Chromosome. *Sex Dev.* 2018;12(4):191-195.