

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Studijní obor: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů



Diana Khomyn

Sex reversal ve světě cytogenomiky

Sex reversal in cytogenomic world

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: Mgr. Jana Drábová, Ph.D.

Praha 2024

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 27.4.2024

Podpis: Diana Khomyn

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské Mgr. Janě Drábové, Ph.D. za její trpělivou pomoc, cenné rady, ochotu a čas, jež mi při psaní práce věnovala.

Abstrakt

Vývoj pohlaví je sofistikovaný regulační systém, jenž je řízen aktivací a inhibicí konkrétních genů. Diferenciace gonád je řízena přítomností genu *SRY* na chromosomu Y. Expresí tohoto genu se spouští kaskáda událostí, které vedou k rozvoji testikulární tkáně, naopak v nepřítomnosti chromosomu Y, a tedy *SRY* genu, se pohlavní systém vyvíjí směrem k vaječnům. S rozvojem technologií v oblasti cytogenetiky a molekulární biologie se stále objasňují molekulární příčiny, které jsou zodpovědné za poruchy vývoje pohlaví (DSD), jenž jsou jak klinicky, tak příčinně rozmanité. Existuje více klasifikačních systémů pro DSD, přičemž tato práce vychází ze systému, jenž rozlišuje tři hlavní diagnostické kategorie: 46,XX DSD; 46,XY DSD a anomálie pohlavních chromosomů. Tento systém vychází z karyotypu pacientů a histologické charakteristiky gonád pro identifikaci a popisné zařazení DSD. V této práci jsou stručně popsány jednotlivé kategorie DSD, jejich charakteristické rysy a čím se od sebe navzájem liší. Pozornost je věnována především kategoriím 46,XX DSD a 46,XY DSD, které byly dříve označovány jako sex reversal, a u nichž dochází k rozvoji fenotypových znaků, které jsou v rozporu s genotypem daného jedince. Do kategorie 46,XX DSD se řadí jedinci s ovotestikulární poruchou vývoje, u nichž je přítomna jak testikulární, tak i ovariální tkáň v gonádách, ale také sem spadají jedinci, kteří se vyznačují úplným vývojem varlat, a to bez jakékoliv známky ovariální tkáně. U většiny pacientů kategorie 46,XY DSD se navzdory přítomnému chromosomu Y nevyvíjí testikulární tkáň a fenotypově tedy působí jako ženy. V neposlední řadě se práce zaměřuje na kategorii anomálií pohlavních chromosomů, do níž se řadí Turnerův syndrom a Klinefelterův syndrom, jedny z nejčastějších chromosomových aberací postihujících ženy a muže. Společným rysem všech těchto kategorií je jejich značná fenotypová variabilita, která představuje hlavní překážku v diagnostice těchto jedinců a jejich následné léčbě.

Klíčová slova: poruchy vývoje pohlaví (DSD), pohlavní zvrát, nejednoznačné genitálie, ovotestis, *SRY* gen

Abstract

Sex development is a sophisticated regulatory system that is controlled by the activation and inhibition of specific genes. Gonadal differentiation is governed by the presence of the *SRY* gene on the Y chromosome. Expression of this gene triggers a cascade of events leading to the formation of testicular tissue; otherwise, in the absence of the Y chromosome and the *SRY* gene, the reproductive system develops towards the ovaries. As technologies in cytogenetics and molecular biology have advanced, diagnostic methods have improved and the molecular causes of DSD, which are both clinically and causally diverse, are being increasingly elucidated. There are several classification systems for DSD, and this thesis is based on the classification with three main diagnostic categories: 46,XX DSD; 46,XY DSD and sex chromosome anomalies. This system uses the patients' karyotype and histological characteristics of the gonads to identify and descriptively classify DSDs. This thesis briefly describes the categories of DSD, their characteristic features, and how they differ from each other. The main focus is on the categories 46,XX DSD and 46,XY DSD, previously referred to as sex reversals, which involves the development of phenotypic features that are contrary to the genotype of the individual. The 46,XX DSD category includes individuals with ovotesticular disorder of developmental, in which both testicular and ovarian tissue are present in the gonads. Moreover, it also includes individuals who have complete testicular development without any evidence of ovarian tissue. In most patients with 46,XY DSD, despite the presence of a Y chromosome, testicular tissue does not develop, and phenotypically, they appear as females. Finally, this thesis focuses on the category of sex chromosome aberration, which includes Turner's syndrome and Klinefelter's syndrome, two of the most common chromosomal aberrations affecting females and males. A common feature of all these categories is their high phenotypic variability, which represents a major obstacle in the diagnosis and subsequent treatment of these individuals.

Keywords: Disorders of sex development (DSD), sex reversal, ambiguous genitals, ovotestis, *SRY*

Obsah

| | |
|--|----|
| 1. Úvod..... | 1 |
| 2. Chromosomy a vývoj pohlaví | 3 |
| 3. Chromosomové aberace – stručný vhled do světa cytogenetiky..... | 7 |
| 3. 1. Genové mutace..... | 7 |
| 3. 2. Chromosomové mutace..... | 7 |
| 3. 2. 1. Balancované mutace..... | 8 |
| 3. 2. 2. Nebalancované mutace..... | 8 |
| 3. 3. Genomové mutace..... | 9 |
| 4. Poruchy vývoje pohlaví..... | 10 |
| 4. 1. Metody diagnostiky..... | 11 |
| 4. 2. 46,XX DSD | 13 |
| 4. 3. 46,XY DSD | 17 |
| 4. 4. DSD pohlavních chromosomů | 22 |
| 4. 5. Hormonální nerovnováha DSD | 25 |
| 5. Závěr..... | 29 |
| Přílohy | 30 |
| Použitá literatura | 32 |

Seznam použitých zkratek

| | | |
|-----------------|--|--|
| AIS | Androgen insensitivity syndrome | syndrom androgenní insenzitivity |
| AMH | Anti-Müllerian hormone | Anti-Müllerovský hormon |
| AR | Androgen receptor | androgenní receptor |
| arrayCGH | Comparative Genomic Hybridization microarray | komparativní genomová hybridizace na čipu |
| CAH | Congenital adrenal hyperplasia | kongenitální hyperplazie kůry nadledvin |
| CAIS | Complete Androgen Insensitivity Syndrome | syndrom úplné androgenní insenzitivity |
| DHT | Dihydrotestosterone | dihydrotestosteron |
| DNA | Deoxyribonucleic acid | deoxyribonukleová kyselina |
| DSD | Disorders of sex development | poruchy vývoje pohlaví |
| FISH | Fluorescence In Situ Hybridization | fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace |
| FSH | Follicle-Stimulating Hormone | folikuly stimulující hormon |
| HMG | High Mobility Group | proteiny s vysokou pohyblivostí v elektroforetickém poli |
| LH | Luteinizing hormone | luteinizační hormon |
| MAIS | Mild Androgen Insensitivity Syndrome | syndrom mírné androgenní insenzitivity |
| MLPA | Multiplex ligation-dependent probe Amplification | multiplexní amplifikace sond závislá na ligaci |
| NGS | Next Generation Sequencing | sekvenování nové generace |
| OMIM | Online Mendelian Inheritance in Man | databáze OMIM |
| PAIS | Partial Androgen Insensitivity Syndrome | syndrom částečné androgenní insenzitivity |
| PCR | Polymerase chain reaction | polymerázová řetězová reakce |

1. Úvod

Poruchy vývoje pohlaví, anglicky Disorders of sex development (DSD), je dnes užívaným termínem pro širokou škálu poruch ve vývoji pohlaví. Tento termín byl definován jako vrozený stav, při němž došlo k atypickému vývoji pohlaví na chromosomové, gonadální nebo fenotypové úrovni (Hughes, 2008).

Před zavedením tohoto pojmu se užívalo termínů jako sex reversal, intersex, pseudohermafroditismus, hermafroditismus a dalších. S postupným rozvojem molekulárně biologických metod, které byly schopny identifikovat příčiny vzniku abnormálního pohlaví se došlo k závěru, že je potřeba změnit názvosloví pro skupinu takových pacientů. Důležitým požadavkem pro novou terminologii byla její flexibilita, ale zároveň zachování jednotnosti struktury. To mělo umožnit do již stanovených kategorií zahrnout nové informace a poznatky, které narůstají s rozvojem technik (Hughes, 2005).

| <i>INTERSEX</i> | <i>DSD</i> |
|--|-------------------------------------|
| Mužský pseudohermafroditismus Nedostatečná virilizace mužů XY Nedostatečná maskulinizace mužů XY | 46,XY DSD |
| Ženský pseudohermafroditismus Nadměrná virilizace žen XX Nadměrná maskulinizace žen XX | 46,XX DSD |
| Pravý hermafroditismus | Ovotestikulární DSD |
| XX sex reversal | 46, XX testikulární DSD |
| XY sex reversal | 46,XY kompletní gonadální dysgeneze |

Tabulka 1 - změna nomenklatury

Dle předělané nomenklatury, sex reversal neboli pohlavní zvrát představuje dvě kategorie: 46,XX DSD a 46,XY DSD. Kategorie 46,XX DSD zahrnuje jedince, u nichž došlo k rozvoji testikulární tkáně, a to i při zjevné absenci chromosomu Y. Naopak u jedinců 46,XY DSD k rozvoji testikulární tkáně nemusí docházet a to i při zjevné přítomnosti chromosomu Y (Ferguson-Smith et al., 1990; Hughes, 2008).

Proces determinace pohlaví u lidí zahrnuje regulační mechanismy, v nichž hraje hlavní roli gen *SRY* (*Sex determining region on Y*). Tento gen aktivuje transkripční faktor Sox9, jenž aktivuje dráhu vedoucí k diferenciaci varlat. Sox9 reguluje expresi mnoha genů, z nichž některé jsou zodpovědné za diferenciaci vaječníků, avšak Sox9 jejich expresi potlačí. V případě nepřítomnosti *SRY* genu se spouští signální dráhy genů *WNT* a *FOXL2*, které potlačí expresi *SOX9* a tedy i samčí pohlavní diferenciaci (Sinclair et al., 1990). Nezbytnou součástí pohlavní diferenciaci je i produkce hormonu AMH (anti-Müllerian hormone), který vyvolá regresi Müllerových kanálek. V přítomnosti AMH se za pomoci androgenů vyvíjí Wolffovy vývody v nadvarle, chámovody a semenné váčky. Pokud není přítomen AMH, Wolffův vývod je potlačen a z Müllerových vývodů se vyvíjí vejcovody, děloha a horní část pochvy (McElreavey et al., 1993).

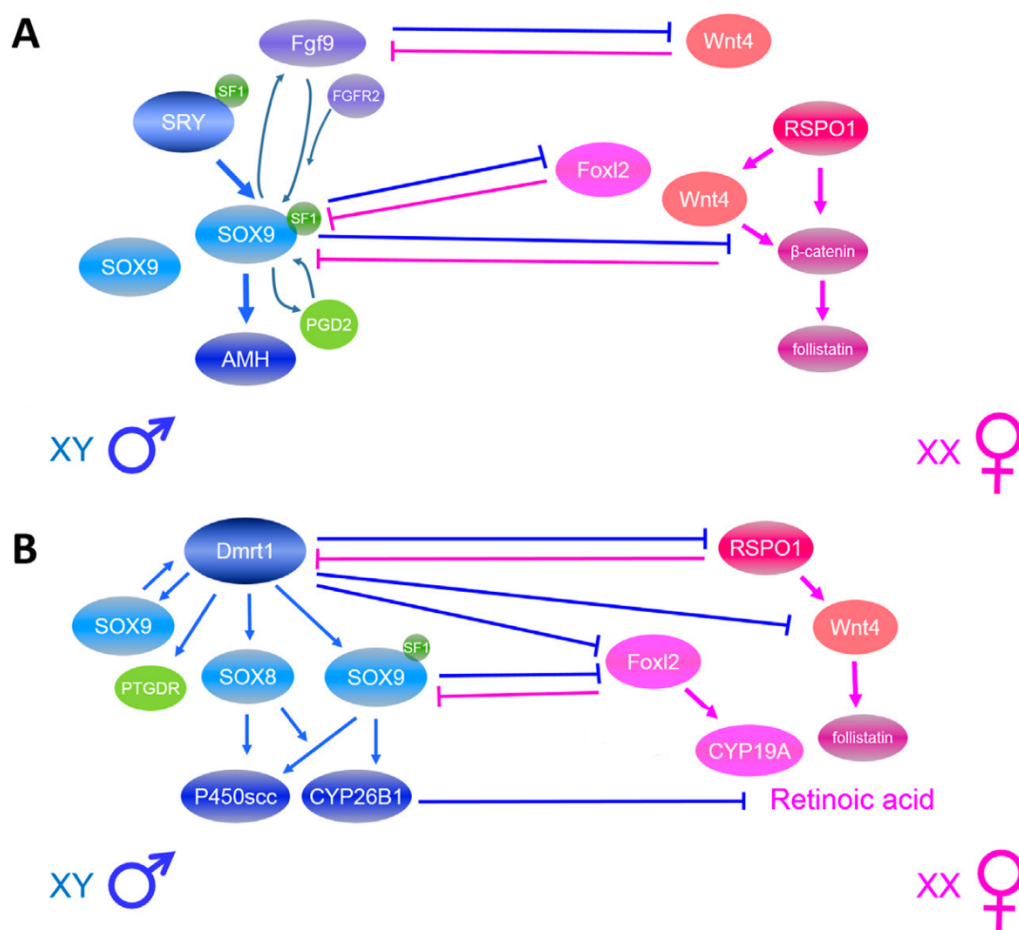
2. Chromosomy a vývoj pohlaví

Chromosomy jsou struktury v jádře eukaryotických buněk, které nesou genetickou informaci ve formě genů. Lidský karyotyp (soubor všech chromosomů v buňce) se skládá ze 23 chromosomových párů, tedy ze 46 chromosomů. Dvacet dva párů je označováno jako autosomy, a zbylý pár jako gonosomy neboli pohlavní chromosomy. Člověk se vyznačuje pohlavním dimorfismem, tedy odlišením pohlaví, a to na základě rozmnožovacího ústrojí, ale i sekundárních pohlavních znaků. Tento dimorfismus je dán přítomností pohlavních chromosomů X a Y, které se od sebe vzájemně liší nejen tvarem a velikostí, ale především přítomností rozdílných genů (Sadler, 2023; Snustad & Simmons, 2017).

Pro normální vývoj pohlaví je stěžejní přesná posloupnost a koordinace aktivačních a represivních faktorů, které se vzájemně chovají antagonisticky. Proces vývoje pohlaví zahrnuje jeho determinaci a diferenciaci. Pohlaví embrya je geneticky determinováno již během fertilisace, ale do 32. dne od oplození embrya s gonosomy XX a XY nevykazují žádné morfologické rozdíly (Sadler, 2023; She & Yang, 2017). V rané fázi vývoje je plod ve stádiu indiference, v němž je pohlavně indiferentní systém tvořen Wolffovými a Müllerovými vývody. U mužského pohlaví je Müllerův vývod degenerován vlivem AMH, který je produkován Sertoliho buňkami. U ženského pohlaví jsou vlivem estrogenů, a nepřítomností AMH zachovány Müllerovy vývody, z nichž se budou vyvíjet ženské pohlavní orgány (Sadler, 2023). Proces pohlavní diferenciaci nekončí v embryonálním stádiu, ale pokračuje až do dospělosti. Během celého tohoto procesu jsou velice důležité antagonistické mechanismy jednotlivých drah, které zajistí vývoj bipotenciálních gonád ve varlata, nebo vaječníky a udržení jejich funkce (She & Yang, 2017).

Diferenciaci pohlaví je řízena přítomností chromosomu Y, na jehož krátkém raménku se nachází *SRY* gen. Exprese tohoto genu spouští kaskádu reakcí vedoucí k vývoji mužského pohlaví. V nepřítomnosti chromosomu Y, a tedy i *SRY* genu, se z nediferencované gonády bude dále vyvíjet ženské pohlavní ústrojí (Hawkins et al., 1992; Hiort et al., 1995). Primární úlohou *SRY* genu je aktivace transkripčního faktoru Sox9, který je nezbytný pro samčí pohlavní diferenciaci. Počáteční aktivace a následné působení *SRY* genu v podpůrných buňkách určuje jejich vývoj v Sertoliho buňky, specializované buňky v semenotvorných váčcích varlat mužů. Tyto buňky jsou nezbytné pro vývoj spermatických buněk a regulaci spermatogeneze (McElreavey et al., 1993; Sekido et al., 2004).

Určení osudu a následná proliferace Sertoliho buněk není jedinou časnou buněčnou událostí, na které se *SRY* gen podílí. Další jeho funkcí je podnítit nově diferencované Sertoliho buňky k tvorbě těsných spojů, které jsou důležité pro tvorbu provazců varlete (Sekido et al., 2004). Pokud *SRY* gen tyto své funkce splní, pak může *SOX9* aktivovat svůj vlastní regulační program, pokračovat v diferenciaci varlat a zajistit tak s dalšími geny a transkripčními faktory určujícími pohlaví komplexní vývojovou dráhu, která je znázorněna na Obrázku 1 (Cameron, 1996; McElreavey et al., 1993).



Obrázek 1 - Znázornění molekulárních pochodů a rovnováh mezi jednotlivými signálními cestami, vedoucím k samčí nebo k samičí pohlavní diferenciaci. Část A popisuje embryonální vývoj, zatímco část B regulaci v dospělých, tedy již vyvinutých gonádách. Levá část vyobrazuje genovou expresi v samčích gonádách a pravá část v samičích gonádách. Světle modré šipky znázorňují stimulační působení genů, tmavě modré a růžové čáry antagonistické působení jednotlivých genů. (She & Yang, 2017).

Jednou z úloh genu *SOX9*, která hraje v determinaci pohlaví svou roli, je udržení vlastní exprese pomocí zpětnovazebné smyčky mezi geny *SOX8*, *SOX9* a *SOX10*. Tyto geny se vzájemně mohou posilovat, ale i omezovat. *SOX9* je nezbytný pro iniciaci exprese *SOX8*, ale pro udržení jeho exprese ne. Naopak *SOX9* je spolu se *SOX8* nezbytný pro iniciaci exprese *SOX10*, ale také pro udržení jeho exprese ve vyvíjejícím se varleti. Cílovým genem Sox9 je gen kódující AMH, na jehož promotor se váže spolu s produktem genu *SFI* (steroidogenní faktor 1, dnes známý jako *NR5A1*), který stimuluje diferenciaci Sertoliho a Leydigových buněk. Vazbou na *AMH* iniciují jeho expresi, vedoucí k regresi Müllerových vývodů. *SOX8* funguje spíše jako rezerva, která nemůže nahradit *SOX9*, ale posiluje jeho funkci při upregulaci transkriptů *AMH* na počátku determinace pohlaví, čímž si tedy i gen *SOX8* nese podíl na udržení hladiny AMH (De Santa Barbara et al., 2000; Sekido et al., 2004).

Další pozitivní zpětnovazebnou smyčku, která se spouští během diferenciaci Sertoliho buněk, je *SOX9* a *PTGDS* (*Prostaglandin D2 Synthase*). *SOX9* je nezbytný pro iniciaci a udržení exprese *PTGDS*, který kóduje enzym přeměňující prostaglandin H2 na prostaglandin D2 (PGD2), a který později urychluje maskulinizační efekt. Stejně tak je *SOX9* nezbytný pro expresi *FGF9* (*Fibroblast Growth Factor 9*), který navádí kanálky mesonefrického původu k penetraci, bez čehož by vývoj varlete nemohl pokračovat. Klíčovou úlohou signalizace *FGF9* je potlačení exprese *WNT4* (*WNT Family Member 4*) a dalších ovariálních diferenciacních genů a inhibice ovariální vývojové dráhy. Oba tyto geny jsou zpočátku exprimovány v pohlavně nediferencovaných buňkách, ale později se projevuje jejich pohlavně dimorfni exprese a jejich antagonistický vztah (v gonádách s gonosomy XY je vysoká exprese *FGF9* a nízká exprese *WNT4*, zatímco v gonádách s gonosomy XX je tomu naopak). Roli zde hraje *SRY*, který iniciuje pozitivní zpětnovazebnou smyčku mezi *SOX9* a *FGF9*, což inhibuje expresi *WNT4* (Li et al., 2014; She & Yang, 2017).

Jestliže dojde k opožděné expresi *SRY*, iniciace *SOX9* může nastat, ale udržení jeho exprese nikoliv, což vede k vývoji vaječnicků. Na udržení exprese *SOX9* se podílí zpětnovazebná signální dráha *SOX9* a signální dráha zprostředkovaná *FGFR* (*Fibroblast Growth Factor Receptor*) a *PTGDS*. Dalšími cílovými faktory *Sry* jsou *Cyp26b1*, *Dhh* nebo *Wnt5a*, které se podílejí na migraci primordiálních zárodečných buněk a diferenciaci varlat (Li et al., 2014; She & Yang, 2017).

K diferenciaci vaječnicků dochází později oproti diferenciaci varlat. *SRY* gen se zároveň váže na promotory ovariálních diferenciacních genů, čímž dochází k potlačení jejich aktivace prostřednictvím signalizace Wnt/ β -kateninu. *SRY* gen tedy funguje jako inhibitor ovariálního

determinačního programu (Hughes, 2008; McElreavey et al., 1993). Stejně tak jako pro samčí pohlavní diferenciaci, i pro samičí pohlavní diferenciaci existují speciální transkripční faktory, které se spouští v nepřítomnosti (nebo nedostatečné aktivaci) *SRY* genu a iniciují vývoj vaječnicků. Klíčovými geny pro ovariální diferenciaci jsou *RSPO1*, *WNT4*, *FOXL2* a *DAX1*. Tyto geny stabilizují expresi β -kateninu, který reguluje expresi folistatinu, inhibuje expresi genu *SOX9* a produkci androgenů. Dále se *FOXL2* podílí na regulaci exprese *CYP19A*, který kóduje aromatázu, a také potlačuje expresi *SOX9* (Hughes, 2008; Sekido et al., 2004).

Při neporušené diferenciaci pohlaví jsou výsledkem plně funkční gonády, tedy pohlavní žlázy, jejichž hlavními úkoly je tvorba pohlavních buněk, pohlavních hormonů a následně zajištění reprodukce. Jak již bylo výše zmíněno, člověk je organismus vyznačující se pohlavním dimorfismem, a to na úrovni anatomické, endokrinní a reprodukční (Sadler, 2023). Mutace nebo inaktivace některých cílových genů *SRY* vedou k abnormální determinaci a diferenciaci pohlaví (viz níže). Například nízká exprese *FGF9* je zodpovědná za 46,XY DSD, nebo narušená exprese *RSPO1*, která vede k 46,XX DSD (Kim et al., 2006; Tomizuka et al., 2008).

3. Chromosomové aberace – stručný vhled do světa cytogenetiky

Aberace souhrnně označují chromosomové mutace, při nichž dochází k trvalé změně struktury nebo počtu chromosomů v karyotypu. Mutace mohou vznikat spontánně, tedy bez zjevné vnější příčiny, nebo indukovaně, vyvolány mutageny (Snustad & Simmons, 2017). Mutace, při nichž dochází k trvalé a zároveň i dědičné změně genetické informace, můžeme rovněž chápat jako zdroj genetické variability. Mutace lze klasifikovat, na základě způsobu vzniku (spontánní či indukované), typu zasažených buněk (germinální nebo somatické), nebo vzhledem k množství genetického materiálu v genomu, který bude zasažen (na získkové a ztrátové neboli nebalancované, nebo na neutrální tedy balancované). V neposlední řadě rozlišujeme mutace podle jejich rozsahu. Mutace menšího rozsahu označujeme jako genové. Takové mutace jsou většinou cytogeneticky nedetekovatelné a zahrnují tzv. bodové mutace, které se týkají pouze jednoho nukleotidu nebo nukleotidového páru. Mutace většího rozsahu jsou chromosomové. Při chromosomových mutacích, dochází ke změně struktury jednotlivých chromosomů, čímž vzniká tzv. derivovaný chromosom. Mutace velkého rozsahu, které mění počet chromosomů, označujeme jako genomové (Snustad & Simmons, 2017).

3. 1. Genové mutace

Genové mutace zahrnují malé bodové mutace, u nichž rozlišujeme způsob, jakým je nukleotid nebo nukleotidový pár změněn. Jsou to substituce, při nichž se zamění nukleotidy obsahující stejné typy bází (tzv. tranzice), nebo se zamění báze různého typu (tzv. transverze), dále to jsou inserce, kdy jsou nukleotidy do DNA přidány a delece, kdy jsou naopak odstraněny (Snustad & Simmons, 2017).

3. 2. Chromosomové mutace

Mutace, které jsou již většího rozsahu, jsou chromosomové mutace, které můžeme rozlišit na balancované a nebalancované. Příčinou vzniku takových mutací mohou být chyby při opravách dvouřetězcových zlomů DNA, chyby při replikaci a nerovnoměrný crossing-over (Snustad & Simmons, 2017).

3. 2. 1. Balancované mutace

Balancované mutace jsou charakterizovány zachováním původního množství genetického materiálu. Mezi tento typ chromosomových mutací se řadí inverze a translokace. Inverze nastává ve chvíli, kdy vzniknou na chromosomu dva dvouřetězcové zlomy a segment, který vznikl mezi těmito zlomy, je převrácen o 180°, čímž se změní lineární pořadí genů, což může vést ke změně genové exprese. V závislosti na tom, zda je inverzí zasazena i centromera, rozdělujeme inverze na paracentrické a pericentrické.

V situacích, kdy dochází k přemístění segmentu mezi dvěma a více chromosomy, hovoříme o tzv. translokaci. I v tomto případě nejdříve dochází ke vzniku dvouřetězcových zlomů, ale takto vzniklý segment se přenáší mezi chromosomy. I v tomto případě může tento typ mutace vést ke změně genové exprese (Snustad & Simmons, 2017).

3. 2. 2. Nebalancované mutace

Jak již název napovídá, při tomto typu mutací nebude původní množství genetického materiálu zachováno. Mezi nebalancované mutace řadíme duplikace a delece. Chromosomové duplikace jsou v porovnání s delecemi lépe tolerovány (Snustad & Simmons, 2017).

Při delecí, je v důsledku vzniku dvouřetězcového zlomu nebo chybné rekombinace, ztracena část chromosomového segmentu. Deletovaný segment může pocházet z vnitřní části chromosomu, tzv. intersticiální delece, nebo pochází z koncových částí chromosomu, tzv. terminální delece (Snustad & Simmons, 2017).

Opačná situace, kdy je přítomen nadbytečný chromosomový segment, je označována jako duplikace. Tento typ mutace může vzniknout v důsledku chyb při replikaci nebo rekombinaci DNA, ale i v důsledku translokací či inzercí a jejich náhodné segregace do gamet. Duplikace dále můžeme rozlišit na volné, tandemové a inzerční, a to dle vazby nově vzniklého chromosomu k původnímu chromosomu. Při tandemové duplikaci přiléhá nadbytečný segment ke své původní lokalizaci, zatímco při inzerční či při translokační duplikaci je segment na odlišném místě od své původní lokalizace a při volné duplikaci segment vytváří zcela nový chromosom (Snustad & Simmons, 2017).

3. 3. Genomové mutace

Genomové mutace zahrnují mutace většího rozsahu. Jsou to aneuploidie, u nichž se mění počet jednotlivých chromosomů, nebo euploidie, kdy se mění počet celé chromosomové sady. Chromosomy nebo celé chromosomové sady se mohou v obou případech ztrácet (tzv. hypoploidie a monoploidie), nebo se naopak znásobit (tzv. hyperploidie a polyploidie). Příčinou vzniku může být nesprávná segregace chromosomů během mitózy nebo meiózy, nebo chybné rozdělení jádra v rané fázi embryogeneze, ale také chyby během fertilizace (Snustad & Simmons, 2017).

4. Poruchy vývoje pohlaví

Vývoj pohlaví můžeme chápat jako komplexní regulační systém, při porušení jeho poslušnosti může dojít k poruchám vývoje pohlaví, souhrnně označované jako DSD (Hughes, 2008). Tato skupina označuje velkou škálu poruch, při nichž je vývoj reprodukčních orgánů porušen na chromosomové, gonadální nebo fenotypové úrovni. Další charakteristikou DSD je její vymezenost pouze na vrozené vady, tudíž v ní nejsou zahrnuty anomálie, které byly zapříčiněny předčasnou nebo opožděnou pubertou (Hughes, 2008).

| <i>46,XX DSD</i> | <i>46,XY DSD</i> | <i>ANOMÁLIE GONOSOMŮ</i> |
|--|--|--|
| <p>I. Poruchy gonadálního vývoje (vaječnicků)</p> <p>i. Gonadální dysgeneze</p> <p>ii. Ovotestikulární DSD</p> <p>iii. Testikulární DSD</p> <p>II. Kongenitální nadbytek androgenů</p> <p>i. Fetální</p> <p>ii. Fetoplacentární</p> <p>iii. Maternální</p> | <p>I. Poruchy gonadálního vývoje (varlat)</p> <p>i. Úplná / částečná gonadální dysgeneze</p> <p>ii. Ovotestikulární DSD</p> <p>iii. Regrese varlat</p> <p>II. Poruchy v syntéze androgenů</p> <p>i. Mutace LH receptorů</p> <p>ii. Steroidogenní mutace akutního regulačního proteinu</p> <p>III. Poruchy androgenního účinku</p> <p>i. Androgenní inzenzitivita</p> <p>ii. Léčiva a environmentální modulátory</p> | <p>I. 47,XXY (Klinefelterův syndrom)</p> <p>II. 45,X (Turnerův syndrom)</p> <p>III. 45,X/46,XX (Mozaiková forma Turnerova syndromu)</p> <p>IV. 45,X/ 6,XY (Smíšená gonadální dysgeneze, Ovotestikulární DSD)</p> <p>V. 46,XX/46,XY (Chimérismus, Ovotestikulární DSD)</p> |

Tabulka 2 - Přepřacovaná nomenklatura stanovující tři hlavní diagnostické kategorie DSD: 46,XX DSD; 46,XY DSD a anomálie pohlavních chromosomů. 46,XX a 46,XY DSD jsou dále rozděleny do kategorií na základě primární poruchy vývoje gonád (Hughes, 2008).

DSD jsou klinicky i kauzálně heterogenní skupinou poruch (Hawkins et al., 1992). Existuje proto více možností, jakými je systém DSD klasifikován, ale pro potřeby vlastní bakalářské práce se budeme řídit přepracovaným systémem nomenklatury, jenž je tvořen třemi hlavními diagnostickými kategoriemi DSD: 46,XX DSD; 46,XY DSD a anomálie pohlavních chromosomů (viz. Tabulka 2). V této nomenklatuře jsou DSD kategorizovány a definovány na základě karyotypů pacientů a opisné terminologie, která využívá znalosti histologie testikulární tkáně a ovariálních folikulů. Kategorie 46,XX DSD a 46,XY DSD představuje pacienty, pro něž se v minulosti používalo označení sex reversal, a u nichž dochází k rozvoji opačných fenotypových znaků vzhledem ke genotypu daného jedince (Hughes, 2008).

4. 1. Metody diagnostiky

Diagnostika poruch DSD vyžaduje komplexní posouzení pacienta, které zahrnuje škálu vyšetření, od klinických až po molekulární testy. Tato diagnostika může být stanovena buď v novorozeneckém věku, nebo později, zejména při projevech nesouladu sekundárních pohlavních znaků s biologickým pohlavím jedince, nebo při vyšetření neplodnosti (Hughes, 2008).

Prvním krokem je klinické vyšetření, které provádí specializovaný tým odborníků, včetně lékařů, endokrinologů a genetiků, kteří hodnotí fyziologický vývoj pacienta. Pozornost je věnována důkladné analýze pohlavních orgánů a sekundárních pohlavních znaků. V rámci tohoto vyšetření se provádí ultrasonografie nebo magnetická rezonance pánve, které se zaměřují na identifikaci přítomnosti či nepřítomnosti Müllerových nebo Wolfových struktur a případné abnormality močového systému. Rovněž se provádí hormonální testy, které kontrolují hladinu testosteronu, luteinizačního hormonu (LH), folikuly stimulujícího hormonu (FSH) a dalších. Tyto hodnoty poskytují informace o hormonálním statusu pacienta, které mohou napomoci odhalení případných poruch v hormonální regulaci v souvislosti s vývojem pohlavních orgánů (Akinsal et al., 2017; Mohammadpour Lashkari et al., 2017).

Při diagnostice poruch vývoje pohlaví je klíčová karyotypizace pomocí GTG bandingu, která analyzuje chromosomy nejčastěji z lymfocytů z periferní krve pacienta. Cílem je určit karyotyp daného jedince a zjistit, zda je v rozporu s jeho fenotypem. Zároveň se prostřednictvím cytogenetických testů identifikují možné chromosomové aberace, především v oblasti gonosomů. Následuje metoda fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH), která je zaměřena na zjištění přítomnosti genu *SRY*. FISH se provádí na metafázních

a interfázních buňkách s pomocí fluorescenčně značených sond pro chromosomy X a Y a sond pro gen *SRY*. Tímto způsobem mohou být vyloučeny i mosaiky aneuploidií gonosomů, nebo mohou být identifikovány aberace vedoucí k translokaci genu *SRY* na jiný chromosom než je Y (Ogata et al., 1992; Shan et al., 2000).

Dalším klíčovým krokem je molekulární diagnostika, zejména pak testy na syndrom androgenní insenzitivity (AIS), který představuje jednu z nejčastějších příčin DSD. Po těchto základních vyšetřeních se postupuje v závislosti na specifickém typu DSD. K prohloubení analýzy jsou využívány pokročilé metody, jako jsou MLPA (Multiplex ligation-dependent probe Amplification) nebo arrayCGH (Comparative Genomic Hybridization microarray). Spolehlivou, snadnou a finančně nenáročnou technikou pro detekci změn počtu kopií genů je MLPA. Tato metoda je schopná detekce delecí, duplikací, trisomií a charakterizace chromosomových aberací (Schouten, 2002). Při MLPA se neamplifikují a nekvantifikují nukleové kyseliny vzorků, ale přidané sondy, které mají identické koncové sekvence, což umožňuje současnou amplifikaci PCR s použitím pouze jednoho páru primerů (Schouten, 2002). Dále využívanou molekulárně genetickou metodou je array CGH, která umožňuje detekci submikroskopických aberací. Array CGH využívá sond na biočipu pro hybridizaci s fluorescenčně značenou DNA. Po hybridizaci software vypočítá poměr fluorescence pro každý bod mřížky, což umožní detekci amplifikací a delecí několika tisíc genů najednou s vysokou rozlišovací schopností. Tato metoda však není schopna detekovat balancované přestavby, tudíž je nutné pro přesné stanovení diagnózy DSD kombinovat více metod (Solinas-Toldo et al., 1997).

Dále se provádí testy na specifické genetické mutace na konkrétních genech, a to podle typu poruchy vývoje pohlaví (46,XX DSD nebo 46,XY DSD). Metoda NGS (Next Generation Sequencing) představuje moderní molekulární techniku sekvenování DNA. Tato technika umožňuje paralelní analýzu většího množství DNA, což výrazně zvyšuje efektivitu a rychlost genetické analýzy. NGS se stala klíčovým nástrojem v diagnostice DSD, kdy se využívá schopnosti identifikace genetických mutací specifických genů, jako jsou *SOX9*, *SOX8* a další (Dong et al., 2016; Nyrén et al., 1993).

Tyto systematické diagnostické postupy, spojující klinická, cytogenetická a molekulární vyšetření, jsou klíčové pro co nejpřesnější identifikaci a klasifikaci poruch DSD. Informace získané těmito vyšetřeními jsou důležitá pro následné rozhodnutí o dalším postupu, umožňují personalizovaný přístup k léčbě a přispívají ke zlepšení životního standardu pacientů (Hughes, 2005, 2008).

4. 2. 46,XX DSD

Jednou ze souhrnných kategorií poruch vývoje pohlaví je 46,XX DSD. Jedná se o geneticky heterogenní skupinu poruch, které mohou vznikat v důsledku aberací na různých chromosomech. Spolu se širokou škálou faktorů, které jsou zodpovědné za odchylku ve vývoji pohlavních orgánů, jsou i symptomy 46,XX DSD nejrozličnějších druhů, s čímž souvisí ojedinělost každého případu (Hughes, 2008).

Testikulární diferenciace je závislá na působení *SRY* genu, který se nachází na chromosomu Y. U většiny pacientů spadajících do této kategorie, je vývoj testikulární tkáně nebo ovotestis objasněn přítomností mosaiky dvou a více linií s aneuploidií gonosomů. Další možnou příčinou je translokace mezi chromosomy X a Y, při níž byl na chromosom X přenesen *SRY* gen (Ledig et al., 2012; Temel et al., 2007).

Poprvé byl takový případ popsán v roce 1964 finským genetikem Albertem de la Chapellem, MD, Ph.D. Dnes se incidence 46,XX DSD odhaduje na čtyři až šest jedinců na 100 000 novorozenců mužů (Berglund et al., 2017). Průměrný věk, kdy je stanovena tato diagnóza se pohybuje mezi 17. a 25. rokem života. Přibližně 48 % případů je diagnostikováno prostřednictvím vyšetření spojeného s neplodností. Další 22 % je detekováno již při narození vzhledem k nesouladu mezi prenatálním karyotypem a fenotypem novorozence. Zbýlému procentu jedinců je tato testikulární porucha stanovena na základě různorodého spektra příznaků, které se projeví v době puberty (Berglund et al., 2017; De La Chapelle et al., 1964).

Dříve byli tito jedinci nazýváni 46,XX pravými hermafrodity, což je zastaralý a již nepoužívaný termín. Do této kategorie patří pacienti s testikulární DSD, u nichž se gonády jeví jako úplná varlata bez známek ovariální tkáně, a také pacienti s ovotestikulární DSD, u nichž je přítomna testikulární i ovariální tkáň (Ferguson-Smith et al., 1990; Temel et al., 2007). Pacienti se tedy mohou vyznačovat přítomností diferencované testikulární i ovariální tkáně v jedné nebo obou gonádách, přičemž gonády s testikulární tkání jsou častěji na pravé straně, zatímco čistě ovariální tkáň je častěji na levé straně (Hughes, 2008; Ledig et al., 2012; Temel et al., 2007).

Charakteristickou tkání, která se u jedinců 46,XX objevuje, je tzv. ovotestis, tkáň, která kombinuje prvky varlete a vaječnicků v jedné gonádě. Na základě různých kombinací tkání pacientů 46,XX DSD lze rozlišovat formu laterální, bilaterální a unilaterální. V případě laterální formy je na jedné straně přítomno varle a na druhé straně vaječník. U bilaterální

formy jsou na obou stranách přítomny tkáň kombinující prvky vaječnicků a varlat, tedy ovotestis. Unilaterální forma se také vyznačuje přítomností ovotestis, ale jen na jedné straně, zatímco na druhé straně je pouze vaječník, nebo méně často varle (Hughes, 2008; Temel et al., 2007).

U jedinců 46,XX DSD mohou nastat různé fenotypové projevy. Mohou se jevit jako muži s normálním fenotypem, nebo jako muži s genitální nejednoznačností, nebo muži s pravým hermafroditismem (Mohammadpour Lashkari et al., 2017; Wu et al., 2014). Většinou jedinců je tento stav diagnostikován až v době puberty, kdy se projevují první známky testikulární poruchy ve formě hypospádie (viz níže), gynekomastie (zvětšení mléčné žlázy), azoospermie (nepřítomnost spermií v ejakulátu), abnormálního ochlupení, atrofických a oboustranně malých varlat, nebo snížené hladiny testosteronu a naopak zvýšené hladiny FSH a LH (Akinsal et al., 2017; Vorona et al., 2007). Taktéž tyto osoby dosahují menšího vzrůstu, přičemž roli zde hraje spíše abnormální genová exprese než-li hladina hormonů. Na fenotypové variabilitě se podílí řada faktorů, jako je například množství translokovaného materiálu z chromosomu Y na chromosom X (Minor et al., 2008). Také se na variabilitě podílejí geny *SOX9*, *DAX1*, *AZF*, *WNT4*, *FGF9* a *RSPO1*, které jsou zapojené do procesu gonadální diferenciaci. Geny *SOX9*, *FGF9* a jejich zvýšená exprese podporuje vznik testikulární tkáň, zatímco *DAX1*, *WNT4*, *RSPO1* se podílí na inhibici testikulární tkáň a podporují gonadální diferenciaci (White et al., 2011; Wu et al., 2014).

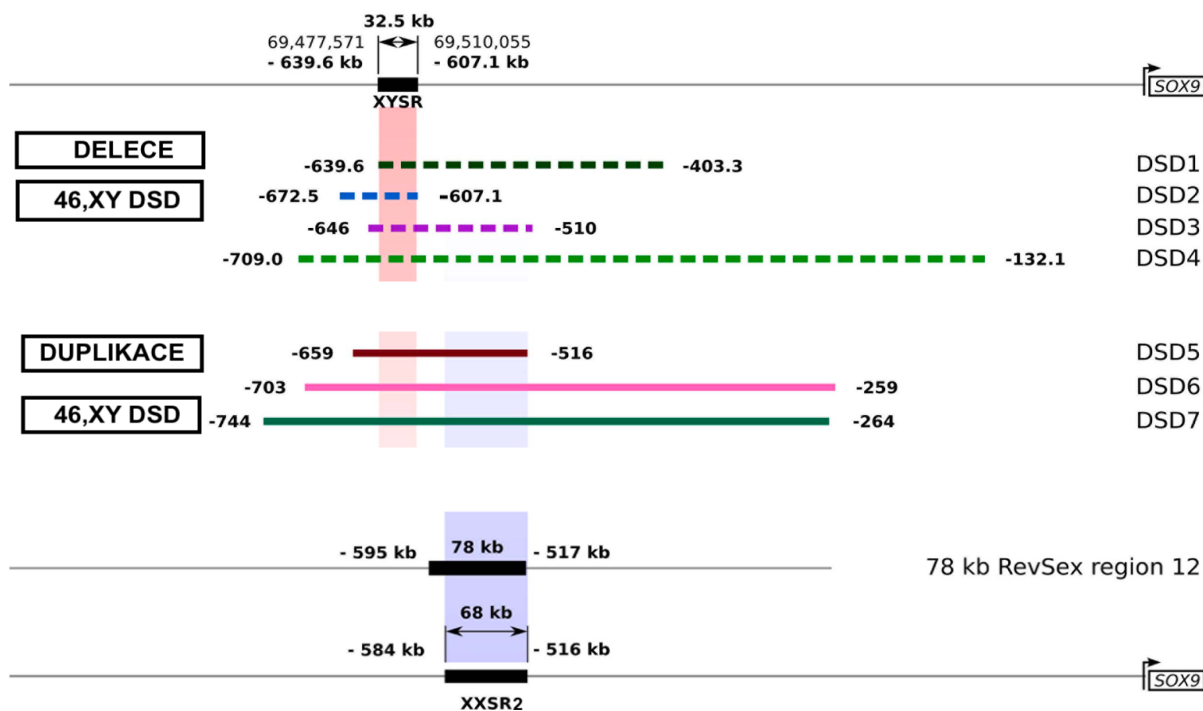
Na základě oblastí, v níž dojde k aberaci, můžeme rozlišovat kategorie 46,XX DSD SRXX1, SRXX2, SRXX3, SRXX4 a SRXX5 (XX sex reversal region 1-5) (dle OMIM; Online Mendelian Inheritance in Man). Valná většina jedinců 46,XX DSD spadá do skupiny SRXX1, u nichž je příčinou narušeného pohlavního vývoje translokace segmentu chromosomu Y (konkrétně Yp11.3) na chromosom X.

Na základě přítomnosti genu *SRY* rozlišujeme *SRY*-pozitivní a *SRY*-negativní formy testikulární poruchy DSD (Mohammadpour Lashkari et al., 2017; Temel et al., 2007). Zhruba 90 % pacientů je *SRY*-pozitivní, tudíž u nich došlo k translokaci chromosomu Y na chromosom X. Zbýlých 10 % pacientů vykazuje *SRY*-negativní formu, u nichž k žádné translokaci nedochází a tací jedinci se vyznačují nejednoznačnými genitáliemi (Li et al., 2014; Mohammadpour Lashkari et al., 2017).

V případě 46,XX DSD SRXX2 a SRXX3 jsou identifikovány duplikace v regulační oblasti před genem *SOX9* na chromosomu 17q24 a v regulační oblasti *SOX3* na chromosomu Xq26 (Kim et al., 2015; Xia et al., 2015). Duplikace před genem *SOX9* vede k jeho zvýšené expresi, na níž se podílí *SOX3*. Ačkoliv *SOX3* přímo nezasahuje do pohlavní determinace a není schopen indukovat vývoj varlat bez přítomnosti *SOX9*, zdá se, že se může podílet na vzniku tohoto DSD. Byli popsáni muži 46,XX DSD, u nichž byly identifikovány mikrolece nebo mikroduplikace v oblasti zahrnující gen *SOX3*, nebo v jeho bezprostřední blízkosti. To naznačuje, že pro pohlavní zvrát v těchto případech stačí změna genové regulace, nikoliv zvýšená exprese tohoto genu. Jedním z možných vysvětlení podílu *SOX3* na vzniku 46,XX DSD, je hypotéza naznačující, že by tento gen mohl být evolučním předchůdcem *SRY* genu, na základě podobnosti HMG (High Mobility Group) oblastí genu *SRY* (Kim et al., 2015; Sutton et al., 2011).

Mutace v genu *NR5A* jsou často identifikovány u žen 46,XY DSD jako příčina gonadální dysgeneze. Tento gen se spolu s dalšími transkripčními faktory váže na gen *SOX9* a vyvolává pozitivní zpětnovazebnou smyčku, vedoucí k diferenciaci Sertoliho buněk (Sekido et al., 2004). Novější studie prokázaly mutaci v tomto genu na chromosomu 9q33.3 jako příčinu vývoje varlat u jedinců 46,XX DSD kategorie SRXX4. Z toho vyplývá, že je exprese genu *NR5A1* důležitá pro diferenciaci a vývoj nejen testes, ale i ovarií (Baetens et al., 2017; Igarashi et al., 2017).

Poslední popsanou kategorií 46,XX DSD je SRXX5, u níž byla identifikována 3 Mb dlouhá delece oblasti zahrnující gen *NR2F2* na chromosomu 15q26.2. Předpokládá se, že ztráta tohoto genu spouští expresi *SOX9* v nepřítomnosti *SRY*, a to prostřednictvím *NR5A1*. To může vést k neúplnému vývoji varlat, poněvadž exprese *SOX9* není dostatečná pro potlačení exprese proovariálních genů (Bashamboo et al., 2018; Carvalheira et al., 2019).



Obrázek 2 - Schématické znázornění deletovaných a duplikovaných oblastí XYSR a XXSR2 u pacientů 46,XX DSD a 46,XY DSD. Barevně odlišené přerušované čáry představují delece u pacientů 46,XY DSD (označení DSD1-4). Překrývající se oblasti těchto pacientů vymezují společnou deleční oblast o velikosti 32,5 kb (červený pruh XYSR). Plné barevné čáry představují duplikace u pacientů 46,XX DSD (označení DSD5-7). Modrým pruhem (XXSR2) je vymezena společná duplikační oblast o velikosti 68 kb. Minimální nekódující oblast determinující pohlaví o velikosti 78 kb je označena jako RevSex (Kim et al., 2015).

4. 3. 46,XY DSD

Další z kategorií uváděného systému poruch vývoje pohlaví je 46,XY DSD zahrnující jedince s abnormální testikulární diferenciací. Příčinou narušeného pohlavního vývoje mohou být mutace v genech, které se podílejí na tvorbě a funkci testikulární tkáně, stejně tak jako mutace v genech, které zapříčiní hormonální nerovnováhu, nebo mutace v proteinech nezbytných pro biosyntézu androgenů (Raymond et al., 1998).

Rovněž jak je tomu u kategorie 46,XX DSD, je i kategorie 46,XY DSD geneticky heterogenní skupinou poruch. Jedním z faktorů, kvůli němuž je důležitá včasná diagnóza, je zvýšené riziko gonadoblastomu u jedinců 46,XY DSD. U tohoto typu tumoru je vysoká pravděpodobnost maligní transformace a rozšíření na okolní tkáně a orgány (Michala et al., 2008; Sultana et al., 1995).

46,XY DSD zahrnuje jedince s různým stupněm feminizace genitálií a gonád v závislosti na konkrétním typu genetické mutace. Fenotypově mohou pacienti působit jako zdraví muži, nebo jako muži s nejednoznačnými genitáliemi a hypospádií, ale nejčastěji se jeví jako ženy. Pacientky 46,XY DSD, které se fenotypově jeví jako ženy, jsou často identifikovány v době puberty v rámci vyšetření primární amenorey (situace, kdy do ukončeného 15. roku věku dívky nedošlo k nástupu menstruace). Dalšími diagnostickými ukazateli mohou být nevyvinuté sekundární pohlavní znaky žen, neplodnost, nejednoznačné genitálie, nesoulad mezi stanoveným prenatálním karyotypem a fenotypem novorozence, nebo postupné nahrazení ženských sekundárních pohlavních znaků mužskými, tzv. virilizace (Berglund et al., 2016; Wei et al., 2022). Pro hodnocení míry virilizace se využívá Praderovy stupnice, která klasifikuje pacientky na základě vnějších pohlavních znaků, a to od 0 (žádná virilizace) až po 5 (úplná virilizace) (Prader, 1954).

Jednou z nejčastějších příčin vzniku 46,XY DSD je AIS, syndrom androgenní insenzitivity (viz níže). AIS vzniká v důsledku mutací v androgenním receptoru a tímto způsobem je narušena samčí pohlavní diferenciaci (Zhou et al., 2022). Dále zahrnuje kategorie 46,XY DSD pacientky s gonadální dysgenezí, též označovanou jako Swyerův syndrom. Tento syndrom nese název podle britského endokrinologa G. I. M. Swyera, který popsal první případ pacientky s gonadální dysgenezí v roce 1955 (Swyer, 1955). Fenotypová variabilita pacientek s gonadální dysgenezí je dána neschopností bipotenciálních gonád diferencovat ve varlata úplně nebo částečně (Berglund et al., 2016; Narita et al., 2023). Zhruba u 10 až 20 % pacientek s gonadální dysgenezí je příčinou narušené pohlavní

diferenciace mutace v genu *SRY*. Tato mutace naruší sekreci AMH, kvůli čemuž jsou zachovány Müllerovy vývody, z nichž se dále vyvíjí vejcovody, děloha a horní část pochvy. Dále popsány příčinami gonadální dysgeneze jsou mutace v genech *NR5A1*, *SOX9*, *DHH*, *GATA4*, *WT1*, *DMRT1*, *DAX1*, *WNT4* a *MAP3K1* (Al Shamsi et al., 2020; Bastian et al., 2015; Narita et al., 2023).

Právě pacientky, které se při narození jeví jako ženy, a to na základě vnitřních i vnějších ženských genitálií, se řadí ke kompletní formě gonadální dysgeneze. U takových dívek dochází k diagnostice až v období puberty, v důsledku nevyvíjejících se sekundární pohlavní znaků (Cameron, 1996; Sultana et al., 1995). Pacientky se rovněž vyznačují širokou škálou fenotypových projevů, přičemž nejčastěji je pozorována hypoplastická děloha, absence vaječníků a zvrásněná pojivová tkáň gonád se shluky granulóznic buněk (Ambulkar et al., 2021; Berglund et al., 2016). Tato charakteristická struktura gonád je zapříčiněna postupnou ztrátou primordiálních zárodečných buněk ve vyvíjejících se ovariích (Michala et al., 2008). Naopak pacientkám s částečnou formou gonadální dysgeneze je diagnostika stanovena již po narození, vzhledem k nejednoznačným genitáliím (k nahlédnutí v příloze). Obvykle je na jedné straně přítomna nediferencovaná testikulární tkáň, zatímco na druhé straně to mohou být ovaria se zvrásněnou pojivovou tkání. Dále pacienti vykazují fenotypové znaky s různým stupněm maskulinizace (White et al., 2011).

Prevalence pacientek 46,XY DSD zahrnující pacientky s gonadální dysgenezí i s AIS je odhadována na 6,4 jedinců na 100 000 novorozených žen (Berglund et al., 2016). Separátně se však incidence pacientek s AIS a s gonadální dysgenezí značně liší. Incidence žen s AIS se pohybuje kolem 4,1 pacientek na 100 000 novorozených žen, zatímco incidence pacientek s gonadální dysgenezí se odhaduje na 1,5. Zbývajících 0,9 na 100 000 živě narozených žen tvoří pacientky, které nebyly klasifikovány do kategorie AIS, ani do kategorie gonadální dysgeneze, z důvodu nedostatku dostupných údajů. Rozdíl mezi těmito dvěma skupinami je viditelný i na průměrném věku stanovení diagnózy. Dívkám s AIS je diagnóza stanovena podstatně dříve, a to již kolem sedmého roku života. Pacientkám s gonadální dysgenezí je diagnóza stanovena v průměru kolem sedmnáctého roku života (Berglund et al., 2016; Michala et al., 2008).

46,XY DSD vykazuje ještě větší heterogenitu v příčinách narušeného vývoje než skupina 46,XY. Podle databáze OMIM bylo identifikováno a popsáno 11 kategorií, označených jako SRXY1-11, z nichž každá je spojena s mutací jiné genové oblasti.

Některé z těchto kategorií, tedy některé aberace vedoucí k narušenému pohlavnímu vývoji, byly popsány pouze u sourozenců nebo jedinců v jedné rodině (OMIM).

Jednou z kategorií je SRXY4, též známá jako syndrom delecce 9p. Tento syndrom představuje skupinu heterogenních onemocnění, které jsou zapříčiněny delecemi na chromosomu 9p24.3 a poprvé byl pozorován u dvou nepříbuzných pacientek v roce 1973 (Alfi et al., 1973). Syndrom delecce 9p se vyznačuje širokou škálou fenotypových projevů, mezi něž patří dysmorfické rysy obličeje, intelektová nedostatečnost, zpožděný motorický vývoj, různý stupeň narušeného pohlavního vývoje a zvýšené riziko gonadoblastomu (Muroya et al., 2000; Quinonez et al., 2013; Vialard, 2002). Fenotypově se pacienti nejčastěji jeví jako ženy s plně feminizovanými genitáliemi, ale mohou se jevit i jako muži s nejednoznačnými genitáliemi a hypospádií. U těchto pacientů byla oblast 9p24.3 identifikována jako kritická pro rozvoj kompletní gonadální dysgenezi. V této deletované oblasti se nachází 3 geny *DMRT* (*Doublesex-Mab3-Related Transcription factor*): *DMRT 1-3*, které hrají klíčovou roli v postnatální diferenciaci varlat (McDonald et al., 1997; Raymond et al., 1998). Bylo prokázáno, že haploinsuficience genu *DMRT1* vede ke gonadální dysgenezi s různou penetrací a expresivitou (Barbaro et al., 2009). Jednou z možností, která by vysvětlovala variabilní penetranci, je efekt prahové dávky haploinsuficience *DMRT* spolu s dalšími genovými mutacemi, které mohou vést ke gonadální dysgenezi (Barbaro et al., 2009). Pro pacienty se syndromem delecce 9p je velice obtížné definovat korelaci mezi fenotypem a genotypem, protože ke ztrátě genového materiálu v terminální oblasti chromosomu nedochází pouze terminální delecí, ale i například v důsledku nebalancované translokace, která způsobí přítomnost dalšího genetického materiálu na derivovaném chromosomu, která se rovněž projeví na výsledném fenotypu (Barbaro et al., 2009).

Níže je uvedena tabulka, ve které jsou systematicky rozděleny kategorie SRXY1-11. Jsou zde specifikovány lokalizace genů, v nichž byly nalezeny mutace zapříčiňující narušený pohlavní vývoj, dále informace o dědičnosti, vzhledu genitálií a endokrinních vlastnostech pacientů. Je důležité zdůraznit, že vypsání fenotypové projevy nejsou pravidlem pro danou kategorii. Tyto vlastnosti a projevy představují nejčastěji pozorované charakteristiky u pacientů dané kategorie, ale mohou se významně lišit v závislosti na konkrétním případě (OMIM).

| KATEGORIE | GEN | LOKALIZACE | DĚDČNOST | VNĚJŠÍ GENITÁLIE | VNITŘNÍ GENITÁLIE | DALŠÍ SYMPTOMY | ENDOKRINNÍ VLASTNOSTI | POZNÁMKA |
|-----------|---------------------|------------|----------|---|---|---|---|--|
| SRXY1 | <i>SRY</i> | Yp11.2 | Y-vázána | <ul style="list-style-type: none"> Gonadální dysgeneze Nejednoznačné nebo plně feminizované genitálie Absence sekundárních pohlavních znaků žen | <ul style="list-style-type: none"> Primární amenorea Malá/normální děloha Gonády se zvrásněnou tkání Ovotestis Zvýšené riziko gonadoblastomu | | Zvýšená hladina LH a FSH. | Zhruba 10 – 15 % případů gonadální dysgeneze je způsobeno mutacemi v genu <i>SRY</i> . |
| SRXY2 | <i>NR0B1 (DAX1)</i> | Xp21.2 | X-vázána | <ul style="list-style-type: none"> Gonadální dysgeneze Nejednoznačné nebo plně feminizované genitálie | <ul style="list-style-type: none"> Primární amenorea Malá děloha Ovotestis | | Zvýšená hladina LH a FSH. | |
| SRXY3 | <i>NR5A1</i> | 9q33.3 | AD | <ul style="list-style-type: none"> Gonadální dysgeneze Nejednoznačné nebo plně feminizované genitálie Hypertrofie klitorisu Rugosita stydkých pysků | <ul style="list-style-type: none"> Hypoplastická děloha | | Zvýšená hladina LH a FSH, snížená hladina testosteronu. | Zhruba 10 – 15 % případů gonadální dysgeneze je způsobeno mutacemi v genu <i>NR5A1</i> . |
| SRXY4 | <i>DEL9p24.3</i> | 9p24.3 | AD | <ul style="list-style-type: none"> Gonadální dysgeneze Nejednoznačné nebo plně feminizované genitálie Hypospádie | <ul style="list-style-type: none"> Zvýšené riziko gonadoblastomu | <ul style="list-style-type: none"> Defekt septa siní Hypotonie Faciální dysmorfie Intelektová nedostatečnost Postnatální růstová retardace | Zvýšená hladina LH a FSH. | Bývá součástí kontigového mikrodelečního syndromu 9p. |
| SRXY5 | <i>CBX2</i> | 17q25.3 | AR | <ul style="list-style-type: none"> Plně feminizované genitálie | <ul style="list-style-type: none"> Normální bilaterální gonády – vagina, děložní čípek, děloha i vaječníky v normě | | Zvýšená hladina FSH, snížená hladina testosteronu a AMH. | Doposud byl popsán pouze jeden takový případ. |
| SRXY6 | <i>MAP3K1</i> | 5q11.2 | AD | <ul style="list-style-type: none"> Gonadální dysgeneze Nejednoznačné genitálie nebo plně feminizované genitálie Hypospádie | <ul style="list-style-type: none"> Gonády se zvrásněnou tkání Hypoplastická děloha Zvýšené riziko gonadoblastomu | <ul style="list-style-type: none"> Nadprůměrná výška žen Hirsutismus | Zvýšená hladina FSH a LH, snížená hladina testosteronu a AMH. | |

Tabulka 3 - Systematické rozdělení kategorií SRXY1-11. AD označuje autosomálně dominantní dědičnost. AR označuje autosomálně recesivní dědičnost.

| KATEGORIE | GEN | LOKALIZACE | DĚDIČNOST | VNĚJŠÍ GENITÁLIE | VNITŘNÍ GENITÁLIE | DALŠÍ SYMPTOMY | ENDOKRINNÍ VLASTNOSTI | POZNÁMKA |
|---------------|-----------------------|------------|-----------|---|---|--|---|--|
| SRXY7 | <i>DHH</i> | 12q13.12 | AR | <ul style="list-style-type: none"> Gonadální dysgeneze | <ul style="list-style-type: none"> Gonadoblastom Nevyvinutá děloha Hypoplastická děloha Gonády se zvrásněnou tkání Ovotestis | | Zvýšená hladina FSH a LH, snížená hladina testosteronu. | Není běžnou příčinou 46,XY DSD. |
| SRXY8 | <i>AKR/C2</i> | 10p15.1 | AR | <ul style="list-style-type: none"> Plně feminizované genitálie | <ul style="list-style-type: none"> Gonády se zvrásněnou tkání Zvýšené riziko gonadoblastomu | | Zvýšená hladina FSH a LH, snížená hladina testosteronu. | Popsáno u tří nepřibuzných pacientek s 46,XY DSD. |
| SRXY9 | <i>ZFPM2</i> | 8q23.1 | AD | <ul style="list-style-type: none"> Gonadální dysgeneze Nejednoznačné genitálie Hypospádie | <ul style="list-style-type: none"> Hypoplastická děloha | <ul style="list-style-type: none"> Oboustranná klinodaktylie malíčku (malformace středního článku prstu) Porucha autistického spektra Porucha učení | Zvýšená hladina FSH a LH, snížená hladina testosteronu. | Vzácná příčina 46,XY DSD – popsáno u několika málo jedinců. |
| SRXY10 | <i>DEL</i> 32,5 kb | 17q24 | AD | <ul style="list-style-type: none"> Gonadální dysgeneze Nejednoznačné genitálie nebo plně feminizované genitálie Mikropenis | <ul style="list-style-type: none"> Primární amenorea Gonády se zvrásněnou tkání Zvýšené riziko gonadoblastomu | | Zvýšená hladina LH a FSH, snížená hladina testosteronu a AMH. | Zapříčiněno delecí regulační oblasti XYSR -640 kb před genem <i>SOX9</i> . |
| SRXY11 | <i>DHX37</i> | 12q24.31 | AD | <ul style="list-style-type: none"> Gonadální dysgeneze Nejednoznačné genitálie nebo plně feminizované genitálie Mikropenis Hypospádie | <ul style="list-style-type: none"> Kryptorchismus Primární amenorea | | Zvýšená hladina LH a FSH, snížená hladina testosteronu a AMH. | |

4. 4. DSD pohlavních chromosomů

Poslední kategorií z výše uváděného systému jsou anomálie pohlavních chromosomů. Tato souhrnná kategorie zahrnuje poruchy, které jsou způsobeny změnami ve struktuře gonosomů nebo jejich počtu. Nejčastějšími anomáliemi pohlavních chromosomů jsou Turnerův syndrom, Klinefelterův syndrom a jejich mozaikové formy (Hughes, 2008).

Turnerův syndrom, rovněž známý jako monosomie X, byl poprvé popsán v roce 1938 Henry Turnerem (Turner, 1938). Dnes se řadí k jedné z nejčastějších chromosomových aberací postihujících ženy. Incidence se odhaduje na jednu pacientku na 2 500 novorozenech dívek (Al Alwan et al., 2014). Jedná se o genetické onemocnění způsobené ztrátou celého chromosomu X nebo Y, tudíž jsou tyto ženy nositelkami karyotypu 45,X. Při monosomii X dochází k haploinsuficienci genů, které jsou zodpovědné za vývoj a udržení ovariální dráhy. To se následně projeví na struktuře gonád, vnějších genitáliích a sekundárních pohlavních znacích těchto žen (Al Alwan et al., 2014). Zhruba 50 % patientek je postiženo klasickou formou Turnerova syndromu, mají karyotyp 45,X. Dalších 15 – 25 % patientek má pohlavní vývoj narušen mozaicismem 45,X/46,XY nebo 45,X/46,XX. Zbýlé procento případů je zapříčiněno strukturálními abnormalitami na chromosomu X (Stochholm et al., 2006).

Ve většině případů je pacientkám s monosomií X stanovena diagnóza již v kojeneckém věku na základě klinických projevů, které jsou pro Turnerův syndrom charakteristické. Jedním z prvních diagnostických ukazatelů tohoto syndromu je tzv. *pterygia colli*, zvýšená kožní řasa na boční straně krku. Takto zvětšená kožní řasa se vyvíjí z prenatálního lymfedému, který je způsoben hromaděním lymfy v tkáních. U těchto patientek dochází konkrétně ke zvětšení lymfatických uzlin v oblasti šíje. Dalšími pozorovanými znaky patientek jsou dysmorfické rysy, vady sluchu, malformace uší, nebo chronický zánět středního ucha (Al Alwan et al., 2014; Turner, 1938). Riziky Turnerova syndromu jsou strukturální malformace ledvin, anomálie postihující kardiovaskulární, lymfatický, nebo endokrinní systém, které jsou nejčastějšími příčinami úmrtí patientek při pozdní diagnostice. Patientky se vyznačují malým vzrůstem, plně feminizovanými genitáliemi, avšak u většiny nedochází k rozvoji sekundárních pohlavních znaků a nástupu menarche, což vede k neplodnosti (Al Alwan et al., 2014; Stochholm et al., 2006).

Ke ztrátě chromosomu může dojít v různých fázích embryonálního vývoje. Mozaiky 45,X/46,XY a 45,X/46,XX mohou vzniknout v důsledku post-zygotické ztráty pohlavního chromosomu, tedy v průběhu mitotického dělení po oplození buněk. Dnes je pacientům s mozaikou 45,X/46,XY stanovena diagnóza smíšené gonadální dysgeneze, nebo též ovotestikulární DSD (Hughes, 2005). Incidence tohoto typu mozaicismu se odhaduje na 1,5 pacienta na 10 000 novorozenců (Chang et al., b.r.). Na rozdíl od Turnerova syndromu se na tuto formu narušeného pohlavního vývoje přichází až v době puberty nebo v dospělosti v rámci vyšetření neplodnosti (Farrugia et al., 2013).

U jedinců s mozaicismem 45,X/46,XY je pozorována značná fenotypová variabilita. Pacienti se pohybují na škále od plně feminizovaných gonád a genitálií, přes gonády se zvrásněnou pojivovou tkání, nejednoznačné genitálie, až po úplně mužské genitálie. Často pozorovaným jevem, je přítomnost jedné gonády s nenarušeným vývojem a druhé s narušeným, nebo různé kombinace těchto gonád (Huang et al., 2019). Hlavními diagnostickými ukazateli a fenotypovými projevy je hypospádie, kryptorchismus, opožděná puberta, primární amenorea, ale i znaky charakteristické pro Turnerův syndrom jako je například nižší vzrůst (Al Alwan et al., 2014). Taktéž je pozorováno vyšší riziko vrozených kardiovaskulárních anomálií, strukturálních malformací ledvin, nebo germinálních nádorů (Farrugia et al., 2013; Chang et al., b.r.). Prevalence germinálních nádorů je u této skupiny pacientů zvýšená vzhledem k přítomnému chromosomu Y a aberacím ovlivňujících expresi genu *TSPY* (*Testis-specific Protein on Y*). Tento gen je exprimován během embryonálního vývoje v testikulárních buňkách a jeho narušená exprese může vést k abnormální buněčné proliferaci a tvorbě germinálních nádorů (Farrugia et al., 2013; Lau et al., 2000).

Pacientky s mozaicismem 45,X/46,XX se obvykle nevyznačují tak manifestujícími fenotypovými znaky, jak je tomu u klasického Turnerova syndromu. U těchto žen je pozorován rozdíl ve fenotypu mezi těmi, které byly diagnostikovány prenatalně a těmi, které postnatálně. Prenatálně diagnostikované pacientky obvykle nevykazují žádné fenotypové abnormality a vyvíjí se jako zdravé ženy, protože jde často o náhodný nález při amniocentéze či biopsii choria, které těhotná žena podstoupila z jiného důvodu, než je podezření na Turnerův syndrom u plodu. U pacientek, které jsou diagnostikovány postnatálně, obvykle v době puberty nebo dospělosti, se mohou projevit některé ze znaků, které jsou typické pro Turnerův syndrom, jako je například menší vzrůst, ale tyto znaky nejsou tak nápadné (Koeberl et al., 1995; Tokita & Sybert, 2016). Tyto ženy mají v porovnání s pacientkami s klasickým Turnerovým syndromem vyšší pravděpodobnost spontánního nástupu puberty, menarche

a následně i gravidity, která ale často končí spontánním potratem (Al Alwan et al., 2014; Tokita & Sybert, 2016).

Velice důležitá je u pacientů s mozaikou 45,X/46,XY otázka určení pohlavní identity. V minulosti se doporučovala časná gonadektomie, která se prováděla po doporučení specialistů a rozhodnutí rodičů pacienta. V potaz se bere vzhled vnějších genitálií, sexuální a urologická funkce, případně potřebná léčba pro navození puberty a fertility pacienta. Dnes se spíše doporučuje a praktikuje chirurgická úprava genitálií až v dospělosti pacientů, kteří se mohou samostatně rozhodnout. Nevýhodou pozdní gonadektomie je zvyšující se riziko malignity (Farrugia et al., 2013).

Další skupinou spadající do kategorie anomálií pohlavních chromosomů je chimérismus 46,XX/46,XY. Jedinci s tímto druhem narušeného pohlavního vývoje byli dříve označováni jako praví hermafrodité a doposud bylo popsáno jen malé množství takových případů (Choi et al., 2018; Malan et al., 2007). Chimérismus vykazuje společné rysy s mozaicismem, poněvadž podstatou těchto poruch je přítomnost dvou geneticky odlišných buněčných linií. Rozdíl mezi nimi spočívá v procesu vzniku. Chimérismus je výsledkem splynutí dvou různých zygot v jedno embryo, zatímco mozaicismus je výsledkem chybného mitotického dělení v jedné zygotě, které zapříčiní přítomnost dvou a více buněčných linií s odlišným genotypem (Malan et al., 2007; Minelli et al., 2011). Pro identifikaci původu těchto buněčných linií se používá molekulárních analýz, které využívají polymorfni markery, nebo porovnání genetických profilů rodičů a pacientů (Choi et al., 2018; Minelli et al., 2011).

I tito jedinci se vyznačují fenotypovou variabilitou a není pozorována korelace mezi genotypem a výsledným fenotypem. U pacientů jsou pozorovány úplně feminizované, nebo naopak úplně mužské genitálie. To je důvod, proč k jejich diagnostice dochází většinou náhodně, prostřednictvím krevní typizace, v rámci forenzních studií, při určování paternity, nebo nejsou odhaleni vůbec. Mohou se u nich vyvinout i nejednoznačné genitálie, které jsou v ten moment hlavním diagnostickým ukazatelem. Na výsledném fenotypu se podílí množství a distribuce buněk 46,XX a 46,XY, od čehož se odvíjí hladina estrogenu nebo testosteronu, která se podílí na vývoji genitálií a dalších fenotypových znaků (Malan et al., 2007; Minelli et al., 2011).

Klinefelterův syndrom je dalším genetickým onemocněním, které spadá do této souhrnné kategorie DSD. Poprvé byl tento syndrom pozorován a popsán v roce 1942 Harrym F. Klinefelterem (Klinefelter et al., 1942). Dnes se jedná o jednu z nejčastějších

chromosomových aberací postihujících muže. Podstatou této aberace je přítomnost alespoň jednoho nadbytečného chromosomu X v mužském karyotypu. Zhruba 80 % případů je způsobeno numerickou chromosomovou aberací vedoucí ke karyotypu 47,XXY v důsledku chybné meiózy. U zbylého procenta pacientů dochází k aneuploidii vyššího stupně vedoucím ke karyotypu 48,XXXXY; 48,XXYY; 49,XXXXXY nebo mozaiky 46,XY/47,XXY (Kamischke et al., 2003). Incidence se odhaduje na 152 případů na 100 000 novorozenců chlapců (Bojesen et al., 2003). Velké množství pacientů je diagnostikováno náhodně při prenatalním vyšetření. Pouhý zlomek těchto pacientů je diagnostikován v dětství. Valná většina je diagnostikována v době puberty nebo v dospělosti, vzhledem k fenotypovým znakům, nebo v rámci vyšetření na neplodnost. S pozdní diagnostikou souvisí i vyšší míra mortality, a to v důsledku kardiovaskulárních onemocnění nebo germinálních nádorů, které jsou u mužů s Klinefelterovým syndromem často přítomny (Bojesen et al., 2003).

Diagnostickými ukazateli této aberace jsou malá testes, azoospermie, gynekomastie, hypogonadismus a vyšší koncentrace FSH. Rozvoj sekundárních pohlavních znaků může být rovněž narušen vzhledem k nízké koncentraci testosteronu. Často je pozorováno abnormální pubické ochlupení nebo narušený růst vousů (Bojesen et al., 2003; Kamischke et al., 2003). U některých pacientů dochází k rozvoji nespécifických motorických poruch, jako je například snížená koordinace nebo síla svalů (Bojesen et al., 2003; Klinefelter et al., 1942).

4. 5. Hormonální nerovnováha DSD

V procesu determinace a diferenciaci pohlaví hrají zásadní roli steroidní hormony, které jsou syntetizovány procesem tzv. steroidogeneze. Tímto biochemickým procesem jsou z cholesterolu syntetizovány androgeny a estrogeny. Testosteron patřící mezi androgeny je produkován v Leydigových buňkách varlat a podílí se na diferenciaci samčích pohlavních orgánů. Na opačné straně vývojové dráhy jsou zásadní estrogeny, konkrétně estradiol, který je produkován v granulózích buňkách folikulů vaječníků, a je tedy zodpovědný za diferenciaci samičích pohlavních orgánů (Sadler, 2023).

Jednou z možných příčin narušeného pohlavního vývoje vedoucích ke 46,XY DSD jsou poruchy metabolismu androgenů. Příkladem takové poruchy je syndrom androgenní insenzitivity, AIS. Hlavní příčinou vzniku AIS je mutace v kódující sekvenci androgenního receptoru (AR), jehož gen se nalézá v lokusu Xq12. Jedná se tedy o X-vázané recesivní genetické onemocnění, jehož projevem je rezistence vůči androgenům. To může vést k různému stupni feminizace vnějších genitálií, nebo rozvoji samičích sekundárních

pohlavních znaků u jedinců s karyotypem 46,XY, v jejichž varlatech nemusí být narušena produkce testosteronu. Často pozorovaným jevem u pacientů je abnormální vývoj močového měchýře a močové trubice, který může vést až ke vzniku tzv. hypospádie, při níž není otvor močové trubice umístěn na konci penisu, ale na jeho spodní straně (Ghali et al., 2003; Mongan et al., 2015).

Na základě klinických příznaků a projevů pacientů se rozlišují různé stupně AIS: CAIS (úplná androgenní insenzitivita), PAIS (částečná androgenní insenzitivita) a MAIS (mírná androgenní insenzitivita) (Ghali et al., 2003; Hughes, 2008). V případě úplné formy androgenní insenzitivity dochází k mutaci nebo k delecii genu pro AR, což má za následek vývoj sekundárních pohlavních znaků a genitálií, které jsou v souladu s ženským fenotypem. První známky narušeného pohlavního vývoje přicházejí nejčastěji v době puberty v podobě primární amenorey. Dalšími fenotypovými znaky, které jsou sledovány u pacientek s CAIS je slepě končící pochva a úplná absence dělohy. To je zapříčiněno neporušenou produkcí AMH během embryogeneze, který je zodpovědný za regresi Müllerových vývodů. Indiferentní gonády tedy diferencují v testes, které jsou u pacientek převážně pozorovány v oblasti podbřišku, tříselných kanálků nebo v oblasti stydkých pysků. Nepatrné je většinou pubické ochlupení, zatímco vývoj prsou je zprostředkován aromatizací androgenů na estrogeny (Mongan et al., 2015; Vasundhara et al., 2016).

Pro skupinu pacientů s PAIS je charakteristická vysoká fenotypová variabilita, která je závislá na konkrétním typu mutace a jejím vlivu na funkci AR. Genitálie se vyvíjí s různým stupněm maskulinizace, tudíž je u pacientů pozorován normálně vyvinutý penis, nebo mikropenis, ale také genitálie, které odpovídají ženskému pohlaví, nebo nejednoznačné genitálie. Mezi pozorované znaky pacientů s PAIS se řadí hypospádie, gynekomastie nebo kryptorchismus (nesestouplá testes) (Vasundhara et al., 2016). Nejmírnější forma androgenní insenzitivity, MAIS, je charakterizována funkčními AR, které mohou vykazovat jen lehkou rezistenci vůči androgenům. Fenotypově tito jedinci působí jako zdraví muži a k jejich diagnostice dochází až v době puberty vzhledem ke gynekomastii, nebo až v dospělosti v rámci vyšetření na neplodnost (Vasundhara et al., 2016).

Další z možných příčin narušené pohlavní diferenciaci jsou mutace v genech kódujících proteiny nezbytné pro biosyntézu testosteronu. Mezi takové geny patří například *NR5A1* (dříve známý jako *SFI*), který je nezbytným transkripčním faktorem pro vývoj a funkci gonád. Mutace v tomto genu mohou vést k nedostatečné tvorbě testosteronu a následně k nedostatečné virilizaci. V některých případech může zapříčinit stav,

při němž varlata postrádají Leydigovy buňky, které jsou zodpovědné za produkci testosteronu (McDonald et al., 1997; Shen et al., 1994). Mutace v genu *NR5A1* byly identifikovány u pacientů s úplnou gonadální dysgenezí, u pacientů s nejednoznačnými genitáliemi, hypospádií, ale i u pacientů s plně feminizovanými genitáliemi (Askari et al., 2020; Nagy et al., 2019). Dalším genem, který se podílí na biosyntéze testosteronu, je *SRD5A1*. Mutace v tomto genu vedou k deficitu 5 α -reduktázy, která je zodpovědná za přeměnu testosteronu na biologicky aktivní dihydrotestosteron (DHT). Jedinci, kteří mají narušenou dráhu této syntézy, a tedy nízkou hladinu DHT, jsou genotypově 46,XY, ale jejich vnější genitálie a sekundární pohlavní znaky jsou v různé míře feminizovány (Vasundhera et al., 2016).

Poruchy steroidogeneze mohou být také příčinou narušeného pohlavního vývoje a zvýšené hladiny mužských pohlavních hormonů u pacientek kategorie 46,XX DSD. Nejčastějším autozomálně recesivním onemocněním, u něhož dochází ke zvýšené hladině androgenů, a naopak ke snížené hladině estrogenů, je kongenitální hyperplázie kůry nadledvin, CAH. Toto onemocnění je zapříčiněno mutacemi v genech *CYP21A2*, *CYP11B1*, *HSD3B2* a *HSD17B3*. Tyto geny kódují enzymy 21 α -hydroxyláza, 11 β -hydroxyláza, 3 β -hydroxysteroid dehydrogenáza a 17 α -hydroxyláza, které se podílejí na biosyntéze kortizolu a aldosteronu v kůře nadledvin. Narušená enzymatická rovnováha způsobí sníženou produkci kortizolu a aldosteronu, zatímco syntéza androgenů je zvýšená, což vede k maskulinizaci genitálií a sekundárních pohlavních znaků pacientek 46,XX DSD (Finkelstein et al., 2021; Speiser et al., 2010; Witchel, 2018). Incidence CAH je různá v závislosti na konkrétním genu, v němž došlo k mutaci. Zhruba u 90 - 95 % pacientek je příčinou narušené produkce kortizolu a aldosteronu mutace v genu *CYP21A2*. Incidence těchto případů se odhaduje na jednu pacientku ze 14 000 - 18 000 novorozenců. Geografická poloha je dalším faktorem, který se podílí na míře výskytu tohoto onemocnění. Byla pozorována vyšší incidence u geneticky izolovaných skupin, které jsou v geograficky odlehlejších oblastech (Navarro-Zambrana & Sheets, 2023).

Na základě klinických projevů se rozlišují dvě formy CAH: klasická a neklasická. Pacientky s neklasickou formou CAH jsou většinou diagnostikovány až v době puberty nebo dospělosti. Klinické znaky těchto pacientek mohou být opakované potraty, subfertilita, akné, nebo růst tmavšího a hrubšího ochlupení podobného mužskému, tzv. hirsutismus (Navarro-Zambrana & Sheets, 2023; Speiser et al., 2010). Valná většina pacientek, které mají klasickou formu CAH, je diagnostikovány již po narození prostřednictvím novorozeneckého

screeningu. Dívčám, které nebyly identifikovány pomocí tohoto screeningu, je stanovena diagnóza do 4. roku života na základě abnormálního pubického ochlupení a zrychleného lineárního růstu, jež jsou důsledkem zvýšené hladiny androgenů v těle. Nejčastějším klinickým projevem pacientek s klasickou formou CAH je virilizace, v důsledku čehož může být prodloužen klitoris, nebo mohou být v různé míře maskulinizovány genitálie. Vzhledem k nedostatečné produkci kortizolu, mohou pacientky trpět i tzv. hyperkalémií, zvýšenou hladinou draslíku v krvi, nebo tzv. hypovolemií, celkově sníženým objemem krevní plazmy v těle (Speiser et al., 2010; Tonetto-Fernandes et al., 2006).

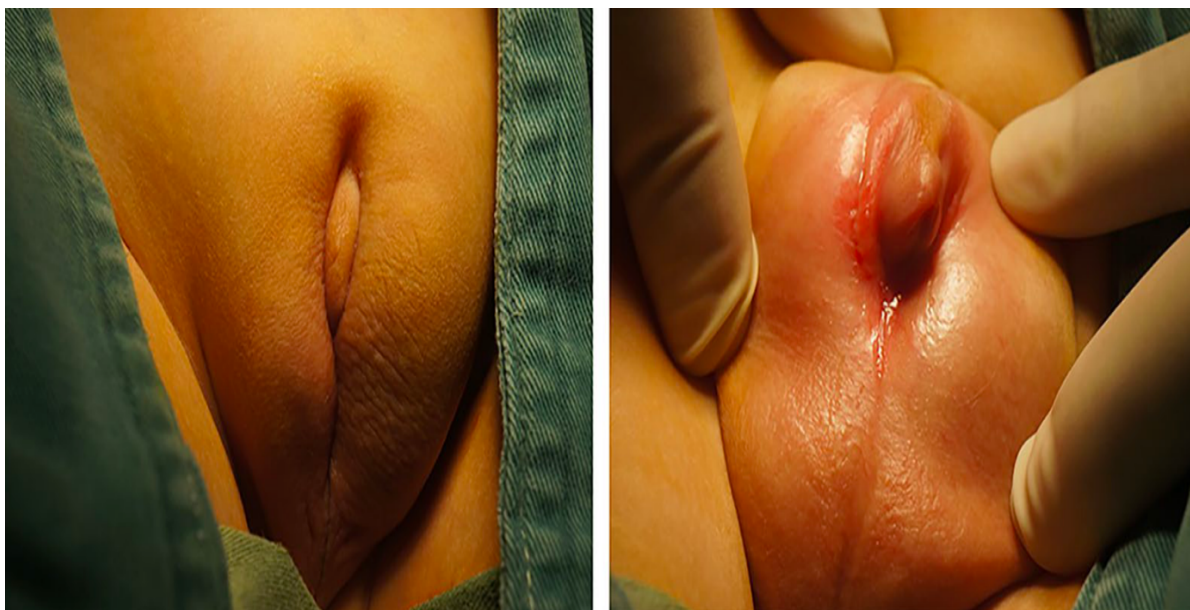
5. Závěr

Vývoj pohlaví lze chápat jako komplexní regulační systém, jehož formování začíná v rané fázi embryonálního vývoje, během něhož je plod v indiferentním stádiu a pokračuje až do dospělosti. Celý tento proces je řízen a degenerován vlivem celé řady genů a steroidních hormonů, z nichž hlavní roli zaujímá *SRY* gen. S neustálým pokrokem v cytogenetických a molekulárních metodách je možné sledovat a objevovat nové geny, které se podílejí na vývoji pohlaví, a které jsou popřípadě možnou příčinou jeho narušení.

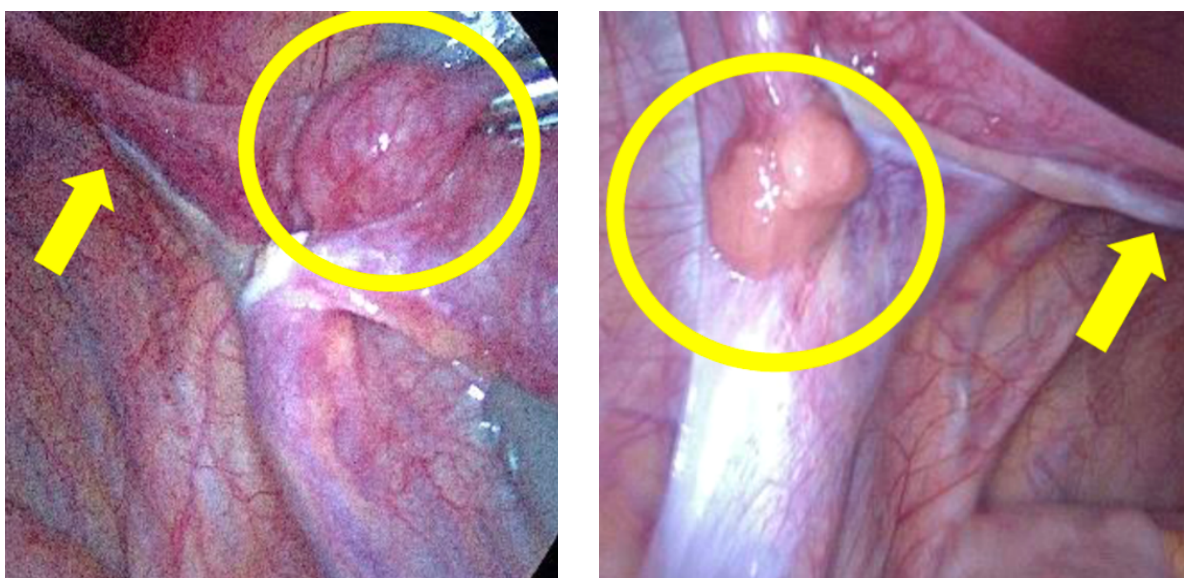
Nomenklatura pro poruchy pohlavního vývoje si v posledních dvou desetiletích prošla značnou rekonstrukcí. Nově zavedená terminologie umožnila sjednocení diagnostických pojmů, které se vztahují především ke klinickým projevům narušeného vývoje, nikoliv k psychosexuální stránce jedinců. Společným rysem všech kategorií spadajících do DSD, které byly v této práci popsány, je jejich fenotypová variabilita. Pacienti téže kategorie se často projevují různým stupněm feminizace, nebo maskulinizace gonád, genitálií a sekundárních pohlavních znaků. Vzhledem k takto vysoké genotypové a fenotypové variabilitě pacientů DSD, je nutné provádět důkladné genetické analýzy, které umožní identifikovat příčinu narušeného pohlavního vývoje a poskytnout vhodnou léčbu a péči o pacienty. I přes značný pokrok v těchto analýzách je velice obtížné predikovat přesné fenotypové projevy jednotlivých kategorií DSD a je tedy nutné ke každému případu přistupovat individuálně.

Budoucnost výzkumu DSD spočívá v identifikaci nových genetických markerů a molekulárních mechanismů, které by mohly vést k objevení nových terapeutických přístupů a léčebných strategií. Pro identifikaci molekulárních mechanismů, které by objasnily fenotypové projevy, je však potřeba velké množství pacientů s podrobným klinickým popisem a molekulárně-morfologickým vyšetřením gonadální tkáně. Jedním z cílů je také zlepšení kvality života pacientů s DSD prostřednictvím multidisciplinárního přístupu, který zahrnuje nejen léčbu, ale také psychologickou podporu a poradenství v oblasti reprodukčních a sexuálních otázek.

Přílohy



Obrázek 3 – Vnější genitálie pacienta 46,XY DSD s jedním perineálním urogenitálním otvorem, zvětšeným klitorisem a skrotální fúzí. (Wei et al., 2022).



Obrázek 4 - Gonády se zvrásněnou pojivovou tkání u pacienta 46,XY DSD. Žluté kolečka označují levou a pravou gonádu, která jsou srdčitého tvaru a menší velikosti. Žluté šipky označují vejcovody (Narita et al., 2023)



Obrázek 5 - Vnější genitálie novorozeného pacienta 46,XY DSD (mutace v genu *MAP3K1*). Penis o délce 3 cm, hypospádie a varlata v šourku (Al Shamsi et al., 2020).



Obrázek 6 - Vnější genitálie pacientů 46,XX DSD s CAH způsobenou deficitem 21-hydroxylázy. Genitálie pacienta vlevo odpovídají třetímu stupni Praderovy stupnice. Genitálie pacienta vpravo odpovídají pátému stupni Praderovy stupnice (Finkelstain et al., 2021).

Použitá literatura

- Akinsal, E. C., Baydilli, N., Demirtas, A., Saatci, C., & Ekmekcioglu, O. (2017). Ten cases with 46,XX testicular disorder of sex development: Single center experience. *International Braz j Urol*, 43(4), 770–775. <https://doi.org/10.1590/s1677-5538.ibju.2016.0505>
- Al Alwan, I., Khadora, M., & Amir, I. (2014). Turner Syndrome Genotype and Phenotype and Their Effect on Presenting Features and Timing of Diagnosis. *International Journal of Health Sciences*, 8(2), 195–202. <https://doi.org/10.12816/0006086>
- Al Shamsi, A., Al Hassani, N., Hamchou, M., Almazrouei, R., & Mhanni, A. (2020). A novel missense heterozygous mutation in *MAP3K1* gene causes 46, XY disorder of sex development: Case report and literature review. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 8(11), e1514. <https://doi.org/10.1002/mgg3.1514>
- Alfi, O., Donnell, G. N., Crandall, B. F., Derencsenyi, A., & Menon, R. (1973). Deletion of the short arm of chromosome no.9 (46,9p-): A new deletion syndrome. *Annales De Genetique*, 16(1), 17–22.
- Ambulkar, P. S., Waghmare, J. E., Verma Shivkumar, P., Narang, P., & Pal, A. K. (2021). A missense mutation (c.226C>A) in HMG box *SRY* gene affects nNLS function in 46,XY sex reversal female. *Andrologia*, 53(5). <https://doi.org/10.1111/and.14011>
- Askari, M., Rastari, M., Seresht-Ahmadi, M., McElreavey, K., Bashamboo, A., Razzaghy-Azar, M., & Totonchi, M. (2020). A missense mutation in *NR5A1* causing female to male sex reversal: A case report. *Andrologia*, 52(6). <https://doi.org/10.1111/and.13585>
- Baetens, D., Stoop, H., Peelman, F., Todeschini, A.-L., Rosseel, T., Coppieters, F., Veitia, R. A., Looijenga, L. H. J., De Baere, E., & Cools, M. (2017). NR5A1 is a novel disease gene for 46,XX testicular and ovotesticular disorders of sex development. *Genetics in Medicine*, 19(4), 367–376. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.118>
- Bashamboo, A., Eozenou, C., Jorgensen, A., Bignon-Topalovic, J., Siffroi, J.-P., Hyon, C., Tar, A., Nagy, P., Sólyom, J., Halász, Z., Paye-Jaouen, A., Lambert, S., Rodriguez-Buritica, D., Bertalan, R., Martinerie, L., Rajpert-De Meyts, E., Achermann, J. C., & McElreavey, K. (2018). Loss of Function of the Nuclear Receptor NR2F2, Encoding COUP-TF2, Causes Testis Development and Cardiac Defects in 46,XX Children. *The American Journal of Human Genetics*, 102(3), 487–493. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.01.021>
- Bastian, C., Muller, J.-B., Lortat-Jacob, S., Nihoul-Fékété, C., Bignon-Topalovic, J., McElreavey, K., Bashamboo, A., & Brauner, R. (2015). Genetic mutations and somatic anomalies in association with 46,XY gonadal dysgenesis. *Fertility and Sterility*, 103(5), 1297–1304. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.01.043>
- Berglund, A., Johannsen, T. H., Stochholm, K., Aksglaede, L., Fedder, J., Viuff, M. H., Main, K. M., & Gravholt, C. H. (2017). Incidence, prevalence, diagnostic delay, morbidity,

- mortality and socioeconomic status in males with 46,XX disorders of sex development: A nationwide study. *Human Reproduction*, 32(8), 1751–1760. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex210>
- Berglund, A., Johannsen, T. H., Stochholm, K., Viuff, M. H., Fedder, J., Main, K. M., & Gravholt, C. H. (2016). Incidence, Prevalence, Diagnostic Delay, and Clinical Presentation of Female 46,XY Disorders of Sex Development. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(12), 4532–4540. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-2248>
- Bojesen, A., Juul, S., & Gravholt, C. H. (2003). Prenatal and Postnatal Prevalence of Klinefelter Syndrome: A National Registry Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(2), 622–626. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-021491>
- Cameron, F. (1996). A novel germ line mutation in SOX9 causes familial campomelic dysplasia and sex reversal. *Human Molecular Genetics*, 5(10), 1625–1630. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.10.1625>
- Carvalho, G., Malinverni, A. M., Moysés-Oliveira, M., Ueta, R., Cardili, L., Monteagudo, P., Mathez, A. L. G., Verreschi, I. T., Maluf, M. A., Shida, M. E. F., Leite, M. T. C., Mazzotti, D., Melaragno, M. I., & Dias-da-Silva, M. R. (2019). The Natural History of a Man With Ovotesticular 46,XX DSD Caused by a Novel 3-Mb 15q26.2 Deletion Containing NR2F2 Gene. *Journal of the Endocrine Society*, 3(11), 2107–2113. <https://doi.org/10.1210/js.2019-00241>
- Chang, H. J., Clark, R. D., & Bachman, H. (b.r.). *The Phenotype of 45,X/46,XY Mosaicism: An Analysis of 92 Prenatally Diagnosed Cases*.
- Choi, E. J., Kim, S. R., Kim, Y. J., Kang, S. M., Kim, G. Y., Kim, J. H., & Lee, Y. J. (2018). Clinical and Genetic Analysis of an Infertile Male with 46,XX/46,XY Chimerism. *Andrologia*, e13215. <https://doi.org/10.1111/and.13215>
- De La Chapelle, A., Hortling, H., Niemi, M., & Wennström, J. (1964). XX Sex Chromosomes in a Human Male: First Case. *Acta Medica Scandinavica*, 175(s412), 25–38. <https://doi.org/10.1111/j.0954-6820.1964.tb04630.x>
- De Santa Barbara, P., Moniot, B., Poulat, F., & Berta, P. (2000). Expression and subcellular localization of SF-1, SOX9, WT1, and AMH proteins during early human testicular development. *Developmental Dynamics*, 217(3), 293–298. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0177\(200003\)217:3<293::AID-DVDY7>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0177(200003)217:3<293::AID-DVDY7>3.0.CO;2-P)
- Dong, Y., Yi, Y., Yao, H., Yang, Z., Hu, H., Liu, J., Gao, C., Zhang, M., Zhou, L., Asan, Yi, X., & Liang, Z. (2016). Targeted next-generation sequencing identification of mutations in patients with disorders of sex development. *BMC Medical Genetics*, 17(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s12881-016-0286-2>
- Farrugia, M. K., Sebire, N. J., Achermann, J. C., Eisawi, A., Duffy, P. G., & Mushtaq, I. (2013). Clinical and gonadal features and early surgical management of 45,X/46,XY

- and 45,X/47,XYY chromosomal mosaicism presenting with genital anomalies. *Journal of Pediatric Urology*, 9(2), 139–144. <https://doi.org/10.1016/j.jpuro.2011.12.012>
- Ferguson-Smith, M. A., Cooke, A., Affara, N. A., Boyd, E., & Tolmie, J. L. (1990). Genotype-phenotype correlations in XX males and their bearing on current theories of sex determination. *Human Genetics*, 84(2). <https://doi.org/10.1007/BF00208942>
- Finkielstain, G. P., Vieites, A., Bergadá, I., & Rey, R. A. (2021). Disorders of Sex Development of Adrenal Origin. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 770782. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.770782>
- Ghali, S. A., Gottlieb, B., Lumbroso, R., Beitel, L. K., Elhaji, Y., Wu, J., Pinsky, L., & Trifiro, M. A. (2003). The Use of Androgen Receptor Amino/Carboxyl-Terminal Interaction Assays to Investigate Androgen Receptor Gene Mutations in Subjects with Varying Degrees of Androgen Insensitivity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(5), 2185–2193. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-021324>
- Hawkins, J. R., Taylor, A., Berta, P., Levilliers, J., Van Der Auwera, B., & Goodfellow, P. N. (1992). Mutational analysis of SRY: Nonsense and missense mutations in XY sex reversal. *Human Genetics*, 88(4), 471–474. <https://doi.org/10.1007/BF00215684>
- Hiort, O., Gramss, B., & Klauber, G. T. (1995). True hermaphroditism with 46,XY karyotype and a point mutation in the SRY gene. *The Journal of Pediatrics*, 126(6), 1022. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(95\)70247-4](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(95)70247-4)
- Huang, Y.-C., Lee, C.-T., Wu, M.-Z., Liu, S.-Y., Tung, Y.-C., Ho, H.-N., & Tsai, W.-Y. (2019). The spectrum of 45,X/46,XY mosaicism in Taiwanese children: The experience of a single center. *Journal of the Formosan Medical Association*, 118(1), 450–456. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.07.003>
- Hughes, I. A. (2005). Consensus statement on management of intersex disorders. *Archives of Disease in Childhood*, 91(7), 554–563. <https://doi.org/10.1136/adc.2006.098319>
- Hughes, I. A. (2008). Disorders of sex development: A new definition and classification. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 22(1), 119–134. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2007.11.001>
- Igarashi, M., Takasawa, K., Hakoda, A., Kanno, J., Takada, S., Miyado, M., Baba, T., Morohashi, K., Tajima, T., Hata, K., Nakabayashi, K., Matsubara, Y., Sekido, R., Ogata, T., Kashimada, K., & Fukami, M. (2017). Identical *NR5A1* Missense Mutations in Two Unrelated 46,XX Individuals with Testicular Tissues. *Human Mutation*, 38(1), 39–42. <https://doi.org/10.1002/humu.23116>
- Kamischke, A., Baumgardt, A., Horst, J., & Nieschlag, E. (2003). Clinical and Diagnostic Features of Patients With Suspected Klinefelter Syndrome. *Journal of Andrology*, 24(1), 41–48. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2003.tb02638.x>
- Kim, Kobayashi, A., Sekido, R., DiNapoli, L., Brennan, J., Chaboissier, M.-C., Poulat, F., Behringer, R. R., Lovell-Badge, R., & Capel, B. (2006). Fgf9 and Wnt4 Act as Antagonistic Signals to Regulate Mammalian Sex Determination. *PLoS Biology*, 4(6), e187. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040187>

- Kim, Sock, E., Buchberger, A., Just, W., Denzer, F., Hoepffner, W., German, J., Cole, T., Mann, J., Seguin, J. H., Zipf, W., Costigan, C., Schmiady, H., Rostásy, M., Kramer, M., Kaltenbach, S., Rösler, B., Georg, I., Troppmann, E., ... Scherer, G. (2015). Copy number variation of two separate regulatory regions upstream of *SOX9* causes isolated 46,XY or 46,XX disorder of sex development. *Journal of Medical Genetics*, 52(4), 240–247. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2014-102864>
- Klinefelter, H. F., Reifenstein, E. C., & Albright, F. (1942). Syndrome Characterized by Gynecomastia, Aspermatogenesis without A-Leydigism, and Increased Excretion of Follicle-Stimulating Hormone¹. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2(11), 615–627. <https://doi.org/10.1210/jcem-2-11-615>
- Koeberl, D. D., McGillivray, B., & Sybert, V. P. (1995). Prenatal diagnosis of 45,X/46,XX mosaicism and 45,X: Implications for postnatal outcome. *American Journal of Human Genetics*, 57(3), 661–666.
- Lau, Y.-F. C., Chou, P. M., Iezzoni, J. C., Alonzo, J. A., & Kömüves, L. G. (2000). Expression of a candidate gene for the gonadoblastoma locus in gonadoblastoma and testicular seminoma. *Cytogenetic and Genome Research*, 91(1–4), 160–164. <https://doi.org/10.1159/000056838>
- Ledig, S., Hiort, O., Wunsch, L., & Wieacker, P. (2012). Partial deletion of *DMRT1* causes 46,XY ovotesticular disorder of sexual development. *European Journal of Endocrinology*, 167(1), 119–124. <https://doi.org/10.1530/EJE-12-0136>
- Li, Y., Zheng, M., & Lau, Y.-F. C. (2014). The Sex-Determining Factors *SRY* and *SOX9* Regulate Similar Target Genes and Promote Testis Cord Formation during Testicular Differentiation. *Cell Reports*, 8(3), 723–733. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.06.055>
- Malan, V., Gesny, R., Morichon-Delvallez, N., Aubry, M. C., Benachi, A., Sanlaville, D., Turleau, C., Bonnefont, J. P., Fekete-Nihoul, C., & Vekemans, M. (2007). Prenatal diagnosis and normal outcome of a 46,XX/46,XY chimera: A Case Report. *Human Reproduction*, 22(4), 1037–1041. <https://doi.org/10.1093/humrep/del480>
- McDonald, M. T., Flejter, W., Sheldon, S., Putzi, M. J., & Gorski, J. L. (1997). XY sex reversal and gonadal dysgenesis due to 9p24 monosomy. *American Journal of Medical Genetics*, 73(3), 321–326. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8628\(19971219\)73:3<321::AID-AJMG17>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8628(19971219)73:3<321::AID-AJMG17>3.0.CO;2-L)
- McElreavey, K., Vilain, E., Abbas, N., Herskowitz, I., & Fellous, M. (1993). A regulatory cascade hypothesis for mammalian sex determination: *SRY* represses a negative regulator of male development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(8), 3368–3372. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.8.3368>
- Michala, L., Goswami, D., Creighton, S., & Conway, G. (2008). Swyer syndrome: Presentation and outcomes. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 115(6), 737–741. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2008.01703.x>

- Minelli, A., Guala, A., Groppo, A., Restagno, G., Lala, R., Einaudi, S., Repici, M., Merlini, E., Sbaiz, L., Asnaghi, V., Lopez, A. G., Angellotti, P., Cristina, S., & Danesino, C. (2011). Mechanism of origin in two cases of chimerism. *Open Journal of Pediatrics*, *01*(04), 79–86. <https://doi.org/10.4236/ojped.2011.14019>
- Minor, A., Mohammed, F., Farouk, A., Hatakeyama, C., Johnson, K., Chow, V., & Ma, S. (2008). Genetic characterization of two 46,XX males without gonadal ambiguities. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, *25*(11–12), 547–552. <https://doi.org/10.1007/s10815-008-9265-7>
- Mohammadpour Lashkari, F., Totonchi, M., Zamanian, M. R., Mansouri, Z., Sadighi Gilani, M. A., Sabbaghian, M., & Mohseni Meybodi, A. (2017). 46,XX males: A case series based on clinical and genetics evaluation. *Andrologia*, *49*(7), e12710. <https://doi.org/10.1111/and.12710>
- Mongan, N. P., Tadokoro-Cuccaro, R., Bunch, T., & Hughes, I. A. (2015). Androgen insensitivity syndrome. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, *29*(4), 569–580. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.04.005>
- Muroya, K., Okuyama, T., Goishi, K., Ogiso, Y., Fukuda, S., Kameyama, J., Sato, H., Suzuki, Y., Terasaki, H., Gomyo, H., Wakui, K., Fukushima, Y., & Ogata, T. (2000). *Sex-Determining Gene(s) on Distal 9p: Clinical and Molecular Studies in Six Cases*. *85*(9).
- Nagy, O., Kártesz, J., Hartwig, M., Bertalan, R., Jávorszky, E., Erhardt, É., Patócs, A., Tornóczky, T., Balogh, I., & Ujfalusi, A. (2019). The importance of the multiplex ligation-dependent probe amplification in the identification of a novel two-exon deletion of the NR5A1 gene in a patient with 46,XY differences of sex development. *Molecular Biology Reports*, *46*(5), 5595–5601. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04980-8>
- Narita, C., Takubo, N., Sammori, M., Matsumura, Y., Shimura, K., Ozaki, R., Haruna, H., Narumi, S., Ishii, T., Hasegawa, T., & Shimizu, T. (2023). A case of 46,XY complete gonadal dysgenesis with a novel missense variant in *SRY*. *Clinical Pediatric Endocrinology*, *32*(4), 235–238. <https://doi.org/10.1297/cpe.2023-0032>
- Navarro-Zambrana, A. N., & Sheets, L. R. (2023). Ethnic and National Differences in Congenital Adrenal Hyperplasia Incidence: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Hormone Research in Paediatrics*, *96*(3), 249–258. <https://doi.org/10.1159/000526401>
- Nyrén, P., Pettersson, B., & Uhlén, M. (1993). Solid phase DNA minisequencing by an enzymatic luminometric inorganic pyrophosphate detection assay. *Analytical Biochemistry*, *208*(1), 171–175. <https://doi.org/10.1006/abio.1993.1024>
- Ogata, T., Hawkins, J. R., Taylor, A., Matsuo, N., Hata, J., & Goodfellow, P. N. (1992). Sex reversal in a child with a 46,X,Yp+ karyotype: Support for the existence of a gene(s), located in distal Xp, involved in testis formation. *Journal of Medical Genetics*, *29*(4), 226–230. <https://doi.org/10.1136/jmg.29.4.226>

- Prader, A. (1954). Genital findings in the female pseudo-hermaphroditism of the congenital adrenogenital syndrome; morphology, frequency, development and heredity of the different genital forms. *Helvetica Paediatrica Acta*, 9(3), 231–248.
- Quinonez, S. C., Park, J. M., Rabah, R., Owens, K. M., Yashar, B. M., Glover, T. W., & Keegan, C. E. (2013). 9p partial monosomy and disorders of sex development: Review and postulation of a pathogenetic mechanism. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 161(8), 1882–1896. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36018>
- Raymond, C. S., Shamu, C. E., Shen, M. M., Seifert, K. J., Hirsch, B., Hodgkin, J., & Zarkower, D. (1998). Evidence for evolutionary conservation of sex-determining genes. *Nature*, 391(6668), 691–695. <https://doi.org/10.1038/35618>
- Sadler. (2023). *Langmanova lékařská embryologie* (1. vydání). Grada Publishing.
- Schouten, J. P. (2002). Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Research*, 30(12), 57e–557. <https://doi.org/10.1093/nar/gnf056>
- Sekido, R., Bar, I., Narváez, V., Penny, G., & Lovell-Badge, R. (2004). SOX9 is up-regulated by the transient expression of SRY specifically in Sertoli cell precursors. *Developmental Biology*, 274(2), 271–279. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.07.011>
- Shan, Z., Zabel, B., Trautmann, U., Hillig, U., Ottolenghi, C., Wang, Y., & Haaf, T. (2000). FISH mapping of the sex-reversal region on human chromosome 9p in two XY females and in primates. *European Journal of Human Genetics*, 8(3), 167–173. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200431>
- She, Z.-Y., & Yang, W.-X. (2017). Sry and SoxE genes: How they participate in mammalian sex determination and gonadal development? *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 63, 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.07.032>
- Shen, W.-H., Moore, C. C. D., Ikeda, Y., Parker, K. L., & Ingraham, H. A. (1994). Nuclear receptor steroidogenic factor 1 regulates the müllerian inhibiting substance gene: A link to the sex determination cascade. *Cell*, 77(5), 651–661. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90050-7](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90050-7)
- Sinclair, A. H., Berta, P., Palmer, M. S., Hawkins, J. R., Griffiths, B. L., Smith, M. J., Foster, J. W., Frischauf, A.-M., Lovell-Badge, R., & Goodfellow, P. N. (1990). A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*, 346(6281), 240–244. <https://doi.org/10.1038/346240a0>
- Snustad, D. P., & Simmons, M. J. (2017). *Genetika* (J. Relichová, Ed.; J. Doškař, J. Fajkus, P. Hořín, A. Knoll, P. Kuglík, J. Šmarda, & J. Šmardová, Přel.; Druhé, aktualizované vydání). Masarykova univerzita.
- Solinas-Toldo, S., Lampel, S., Stilgenbauer, S., Nickolenko, J., Benner, A., Döhner, H., Cremer, T., & Lichter, P. (1997). Matrix-based comparative genomic hybridization: Biochips to screen for genomic imbalances. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 20(4), 399–407.

- Speiser, P. W., Azziz, R., Baskin, L. S., Ghizzoni, L., Hensle, T. W., Merke, D. P., Meyer-Bahlburg, H. F. L., Miller, W. L., Montori, V. M., Oberfield, S. E., Ritzen, M., & White, P. C. (2010). Congenital Adrenal Hyperplasia Due to Steroid 21-Hydroxylase Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *95*(9), 4133–4160. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-2631>
- Stochholm, K., Juul, S., Juel, K., Naeraa, R. W., & Højbjerg Gravholt, C. (2006). Prevalence, Incidence, Diagnostic Delay, and Mortality in Turner Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *91*(10), 3897–3902. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-0558>
- Sultana, R., Myerson, D., & Distèche, C. M. (1995). In situ hybridization analysis of the Y chromosome in gonadoblastoma. *Genes, Chromosomes and Cancer*, *13*(4), 257–262. <https://doi.org/10.1002/gcc.2870130405>
- Sutton, E., Hughes, J., White, S., Sekido, R., Tan, J., Arboleda, V., Rogers, N., Knowler, K., Rowley, L., Eyre, H., Rizzoti, K., McAninch, D., Goncalves, J., Slee, J., Turbitt, E., Bruno, D., Bengtsson, H., Harley, V., Vilain, E., ... Thomas, P. (2011). Identification of SOX3 as an XX male sex reversal gene in mice and humans. *Journal of Clinical Investigation*, *121*(1), 328–341. <https://doi.org/10.1172/JCI42580>
- Swyer, G. I. M. (1955). Male Pseudohermaphroditism: A Hitherto Undescribed Form. *BMJ*, *2*(4941), 709–712. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.4941.709>
- Temel, S. G., Gulten, T., Yakut, T., Saglam, H., Kilic, N., Bausch, E., Jin, W. J., Leipoldt, M., & Scherer, G. (2007). Extended Pedigree with Multiple Cases of XX Sex Reversal in the Absence of *SRY* and of a Mutation at the *SOX9* Locus. *Sexual Development*, *1*(1), 24–34. <https://doi.org/10.1159/000096236>
- Tokita, M. J., & Sybert, V. P. (2016). Postnatal outcomes of prenatally diagnosed 45,X/46,XX. *American Journal of Medical Genetics Part A*, *170*(5), 1196–1201. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37551>
- Tomizuka, K., Horikoshi, K., Kitada, R., Sugawara, Y., Iba, Y., Kojima, A., Yoshitome, A., Yamawaki, K., Amagai, M., Inoue, A., Oshima, T., & Kakitani, M. (2008). R-spondin1 plays an essential role in ovarian development through positively regulating Wnt-4 signaling. *Human Molecular Genetics*, *17*(9), 1278–1291. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn036>
- Tonetto-Fernandes, V., Lemos-Marini, S. H. V., Kuperman, H., Ribeiro-Neto, L. M., Verreschi, I. T. N., & Kater, C. E. (2006). Serum 21-Deoxycortisol, 17-Hydroxyprogesterone, and 11-Deoxycortisol in Classic Congenital Adrenal Hyperplasia: Clinical and Hormonal Correlations and Identification of Patients with 11 β -Hydroxylase Deficiency among a Large Group with Alleged 21-Hydroxylase Deficiency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *91*(6), 2179–2184. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-1890>
- Turner, H. H. (1938). *A syndrome of infantilism, congenital webbed neck, and cubitus valgus*.

- Vasundhera, C., Jyotsna, V., Kandasamy, D., & Gupta, N. (2016). Clinical, hormonal and radiological profile of 46XY disorders of sexual development. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 20(3), 300. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.179999>
- Vialard, F. (2002). Deletion of 9p associated with gonadal dysfunction in 46,XY but not in 46,XX human fetuses. *Journal of Medical Genetics*, 39(7), 514–518. <https://doi.org/10.1136/jmg.39.7.514>
- Vorona, E., Zitzmann, M., Gromoll, J., Schüring, A. N., & Nieschlag, E. (2007). Clinical, Endocrinological, and Epigenetic Features of the 46,XX Male Syndrome, Compared with 47,XXY Klinefelter Patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(9), 3458–3465. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-0447>
- Wei, J., Wu, J., Ru, W., Chen, G., Gao, L., & Tang, D. (2022). Novel compound heterozygous mutations in the desert hedgehog (DHH) gene in cases of siblings with 46,XY disorders of sexual development. *BMC Medical Genomics*, 15(1), 178. <https://doi.org/10.1186/s12920-022-01334-5>
- White, S., Ohnesorg, T., Notini, A., Roeszler, K., Hewitt, J., Daggag, H., Smith, C., Turbitt, E., Gustin, S., Van Den Bergen, J., Miles, D., Western, P., Arboleda, V., Schumacher, V., Gordon, L., Bell, K., Bengtsson, H., Speed, T., Hutson, J., ... Sinclair, A. (2011). Copy Number Variation in Patients with Disorders of Sex Development Due to 46,XY Gonadal Dysgenesis. *PLoS ONE*, 6(3), e17793. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017793>
- Witchel, S. F. (2018). Disorders of sex development. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 48, 90–102. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2017.11.005>
- Wu, Q.-Y., Li, N., Li, W.-W., Li, T.-F., Zhang, C., Cui, Y.-X., Xia, X.-Y., & Zhai, J.-S. (2014). Clinical, molecular and cytogenetic analysis of 46, XX testicular disorder of sex development with SRY-positive. *BMC Urology*, 14(1), 70. <https://doi.org/10.1186/1471-2490-14-70>
- Xia, X.-Y., Zhang, C., Li, T.-F., Wu, Q.-Y., Li, N., Li, W.-W., Cui, Y.-X., Li, X.-J., & Shi, Y.-C. (2015). A duplication upstream of SOX9 was not positively correlated with the SRY-negative 46,XX testicular disorder of sex development: A case report and literature review. *Molecular Medicine Reports*, 12(4), 5659–5664. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.4202>
- Zhou, D., Xu, H., Shen, X., Gu, R., Chen, Y., Chen, G., Li, P., Shi, H., Sun, X., & Xin, A. (2022). Complete androgen insensitivity syndrome caused by a novel mutation in the androgen receptor gene and its mechanism. *Clinica Chimica Acta*, 531, 94–99. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.03.021>

Webové zdroje

OMIM, Online. Dostupné z: <http://www.omim.org/>. [citováno 2024-03-15].