

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory (B3912)

Studijní obor: BMOBIBO(1515R011)



Eliška Kopicová

Molekulární podstata vývojových odchylek pohlaví u člověka

Molecular basic of disorders of sexual development in human

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Antonín Šípek, Ph.D.

Praha, 2021

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala sama s použitím citovaných zdrojů a na základě konzultací se svým školitelem.

Praha, 2021

Eliška Kopanicová

Abstrakt

Vývoj vnitřních i vnějších pohlavních orgánů u člověka je ovlivněn na chromosomální, genové, ale i hormonální úrovni. Různé mutace na chromosomové i genové úrovni narušují regulační kaskády, které ovlivňují další vývoj orgánů. Kaskády jsou tak narušeny a způsobují variabilní vývojové vady jak vnitřních, tak vnějších pohlavních orgánů. Cílem práce je shrnutí těchto molekulárních procesů, které dále ovlivňují vývoj pohlavních orgánů u člověka, možných vývojových chybách a jejich fenotypových následujících projevech.

Klíčová slova: Pohlavní orgány, vývojové vady, geneticky podmíněná onemocnění

Abstract

The development of human internal and external reproductive organs is regulated on chromosomal, gene and hormonal levels. Different types of mutations on chromosomal and gene level interrupt those pathways, which affect the further development of reproductive organs. Pathways are disrupted and cause variable developmental defects of both internal and external genital organs.

The main goal of this work is to summarize these molecular processes that further affect the development of genitals in humans, possible developmental errors and their phenotypic subsequent manifestations.

Keywords: Reproductive organs, congenital anomalies, genetic disorders

Obsah

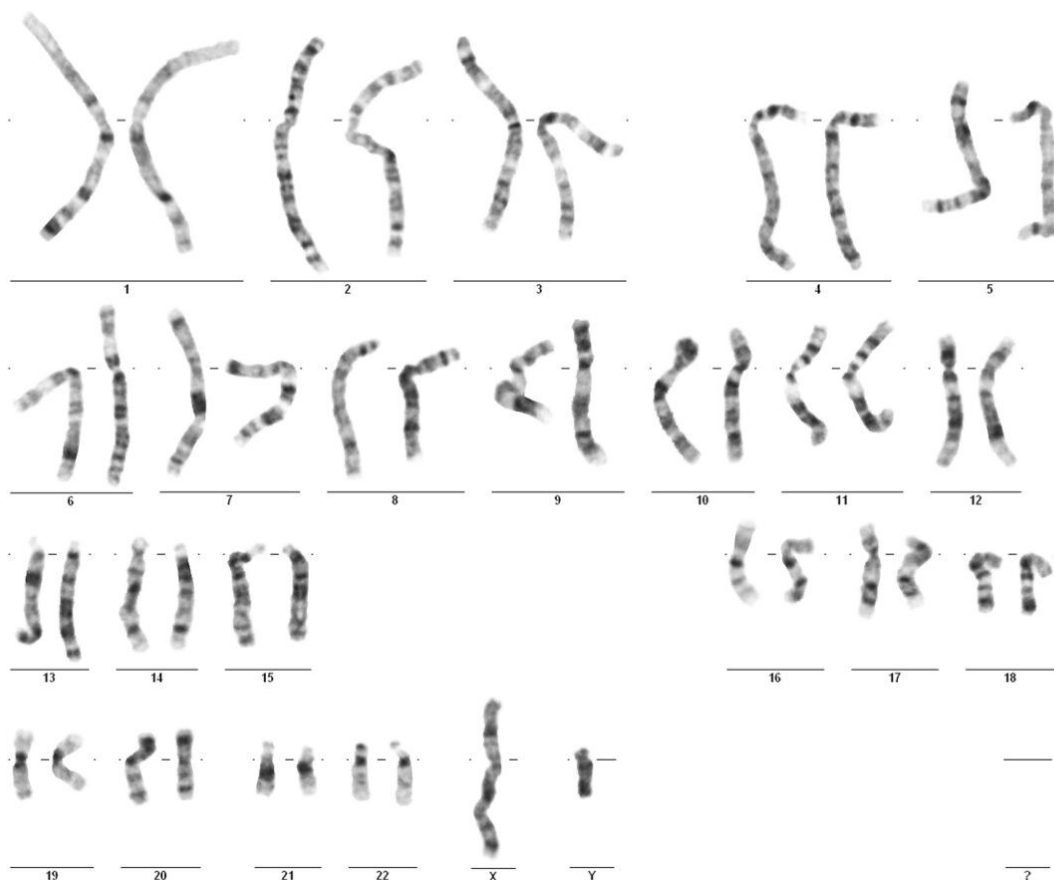
1	Úvod	8
2	Poruchy pohlavních chromosomů	10
2.1	Turnerův syndrom.....	11
2.2	Klinefelterův syndrom.....	12
2.3	Syndrom trisomie X chromosomu dříve Superfemale	13
2.4	Syndrom 47,XYY dříve Supermale	13
3	Poruchy formou mutací genů.....	14
3.1	Gen SRY	14
3.2	Gen SOX9.....	15
3.2.1	Swyerův syndrom.....	16
3.2.2	Campomelická dysplázie	16
3.3	Gen DAX1	17
3.4	Gen WNT4	18
3.4.1	Deficience genu WNT4.....	19
3.4.2	SERKAL syndrom.....	19
3.4.3	Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrom.....	19
3.5	Gen CYP21A2	20
3.5.1	Kogentální adernální hyperplázie (CAH)	20
4	Poruchy hormonálního typu.....	21
4.1	Androgenní hormony.....	22
4.2	Estrogen.....	23
4.3	Testosteron	24
4.4	INSL3	25
5	Závěr	27
6	Seznam použité literatury:	29

Seznam použitých zkratk

AHC	Hypoplázie nadledvin
AMH	Anti-Müllerický hormon
AVPV	Anteroventrální periventrikulární jádro
CAIS	Syndrom necitlivosti na androgeny
DAX1	Dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia critical region on chromosome X, gene 1
DHEA	Prohormon dehydroepiandrosteron
ESR1/ER α	Estrogenový receptor alfa
ESR2/ER β	Estrogenový receptor beta
FSH	Folikuly stimulující hormon
HMG	High mobility group
INSL3	Insuline like peptide3
LH	Luteizační hormon
MRKH	Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrom
PAR	Pseudoautosomal region
RXFP2	Relaxin family peptide receptor 2
SDN	Sexuálně dimorfní jádro
SERKAL	Sex reversion, kidneys, adrenal and lungs dysgenesis
SHOX	Short stature homeobox
SOX9	Sry related box 9
SRY	Sex determining region on chromosome Y
WNT	Wingless/Int -1

1 Úvod

Determinace pohlaví u člověka je dána chromosomálně (obrázek 1), tedy počtem autosomálních chromosomů a gonosomálních chromosomů, tedy, 46,XY u zdravého muže a 46,XX u zdravé ženy. U všech placentálních savců platí, že lze rozlišit pohlaví na homogametické, kdy jsou oba pohlavní chromosomy totožné, tedy XX u žen, a na heterogametické, kdy jsou přítomny dva různé chromosomy, tedy XY u mužů. Přičemž počet X chromosomů neovlivňuje určení pohlaví.



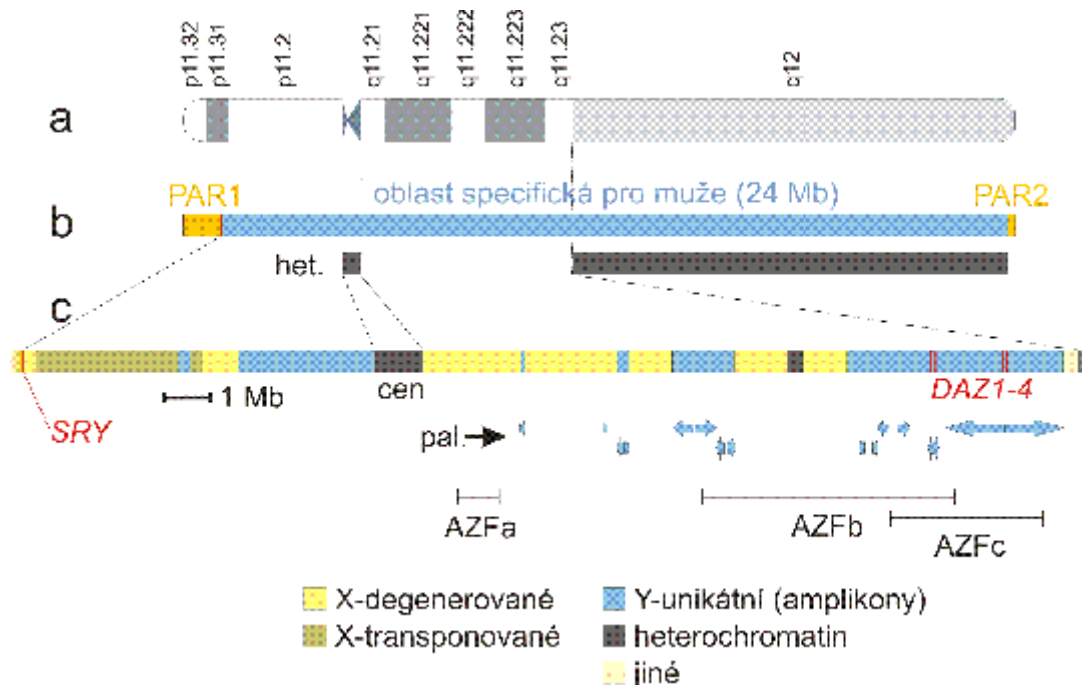
Obrázek 1 - Normální mužský karyotyp

(zdroj: <https://www.wikiskripta.eu/w/Soubor:Karyotyp.jpg>)

X chromosom dává vzniku ženského pohlaví, až přítomnost chromosomu Y mění expresi genů a způsobuje zahájení vývoje mužského pohlaví.

V oblasti krátkého raménka chromosomu Y leží gen *SRY* (sex determining region on chromosome Y) (obrázek 2). Protein *SRY* kóduje transkripční faktory rodiny HMG (high mobility group) (Hacker et al., 1995). Je exprimován

v prekurzorech mužských podpůrných buněk, a indukuje diferenciaci na Sertoliho buňky. Sertoliho buňky se shlukují a indukují diferenciaci germinálních buněk, které obalují, dochází tak ke vzniku prospermatogonie. (Hiort, 2013)



Obrázek 2 - Chromosom Y a lokace genu *SRY*

(zdroj: <https://biol.lf1.cuni.cz/ucebnice/pohlavi.htm>)

SRY cíleně exprimuje gen *SOX9* (Sry related box 9), který také patří do rodiny HMG. Gen *SOX9* leží na chromosomu 17q24 (Meyers-Wallen et al., 2017). Gen *SOX9* také kóduje transkripční faktor s mnoha různými účinky, zapíná AMH (Anti-Müllerický hormon) nebo *FGF9*.

Sertoliho buňky dále produkují AMH, který u mužského pohlaví způsobuje regresi vývoje dělohy a vejcovodů. Dále ovlivňují diferenciaci Leydigových buněk, které syntetizují testosteron z cholesterolu za pomoci účinků specifických enzymů. Existují čtyři steroidogenní enzymy – CYP11A1, 3 β -SD CYP17A1, 17 β -SD3. Po syntéze testosteronu může být dále metabolisován na DHT, estradiol, androsteron a 5 α -androstenediol za pomoci enzymů 5 α -reduktázy, CYP19A1 a 3 α -HSD. Testosteron stabilizuje Wolffův vývod, který se vyvíjí v chánovod, ovlivňuje také sekundární pohlavní znaky získané během puberty u mužů (Du, H., & Taylor, H. S., 2015).

Leydigovy buňky produkují *INSL3* (insuline like peptide3), během embryogeneze je to jediný orgán produkující tento hormon, *INSL3* poté interaguje

s *RXFP2* (relaxin family peptide receptor 2), to má u mužů za následek sestup varlat do šourku (Harrison et al., 2019).

U žen kolísání hladiny tohoto hormonu ovlivňuje menstruační cyklus, folikuly a může být nalezen ve žlutém tělísku (Aerts JM, Bols PE, 2010).

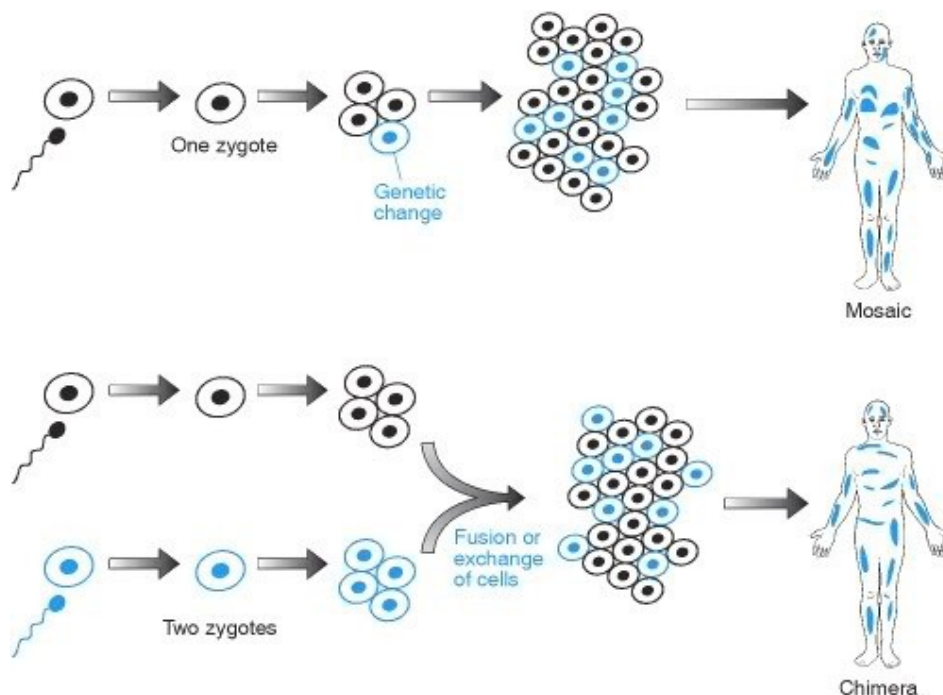
Cílem této práce je tedy shrnutí poruch a vývoje pohlavních orgánů, jejich molekulární příčiny a možné projevy.

2 Poruchy pohlavních chromosomů

Existují různé typy chromosomových odchylek (obrázek 3), kdy dochází k aneuploidiím jako jsou monosomie či trisomie (Shaffer et al., 2009). Ty vznikají následkem nondisjunkce v průběhu meiózy, při vzniku pohlavních buněk. Mohou také vznikat strukturní aberace, kdy může kus chromosomu chybět, dojde tedy k delecí části chromosomu.

Mozaicismus, jedná se o post zygotickou nondisjunkci, kdy dochází k abnormálnímu rozchodu chromosomů při vývoji nového jedince. Následkem toho vznikají dvě rozdílné buněčné linie, které mají odlišnou genetickou výbavu. Například z původní linie 46,XX vznikne linie 45,X a 47,XXX (Conlin et al., 2010).

Chimerismus, kde nacházíme rovněž dvě buněčné linie, ale na rozdíl od mozaicismu tyto pochází ze dvou různých zygot. Díky tomu jsou buňky těchto linií geneticky odlišné. Dochází k fúzi dvou zygot a vzniku jednoho embrya. Ačkoli má oboje linie buněk jeden jedinec, buňky mají odlišný gonosomální komplet.



Obrázek 3 - Mozaicismus a chimerismus
(zdroj:chimerism.wordpress.com)

2.1 Turnerův syndrom

Syndrom chromosomální aneuploidie 45,X, jedinci se vyvíjí jako ženy, je zde absence druhého pohlavního chromosomu, nebo dochází k delecím druhého X chromosomu. Z důvodu absence pohlavního chromosomu dochází ke změně genové exprese na X chromosomu, obvykle bývá jeden X chromosom inaktivovaný, přesto jsou na něm přítomny sekvence, které jsou transkripčně aktivní a důležité pro vývoj, tímto úsekem jsou genové pseudoautosomální oblasti PAR1 a PAR2. Ovlivňujícím úsekem je PAR1 na konci krátkých ramének a PAR2 na konci dlouhých ramének. Dalším faktorem způsobujícím tento syndrom je delece krátkého raménka chromosomu X či případnými jinými strukturální odchylkami (Kliegman et al., 2006).

Důsledkem chybějícího druhého pohlavního chromosomu dochází ke změně methylace DNA, což hraje významnou roli při genové expresi, také jsou zde objeveny histonové modifikace (Sagi L et al., 2007). Tyto histonové modifikace jsou reversibilní a proměňují konformaci chromatinu což souvisí se změnou jeho exprese. Během posttranslačních modifikací dochází k umlčování za pomoci microRNA (miRNA) (Library et al., 2016). V DNA dochází

k hypomethylaci v promotorové oblasti a následným částečným či úplným delecím sekvencí DNA, často se tak stává již v embryu, v rámci embryonálních kmenových buněk. A jsou shodné s úplnou či částečnou delecí sekvencí z DNA z jednoho z X chromosomů. To může mít za následek předčasné selhání vaječníků, kongenitální malformace či aneurysma aorty (Álvarez-Nava & Lanes, 2018).

V oblasti PAR1 se nachází gen *SHOX* (short stature homeobox), který má spojitost s fenotypem růstu a jeho homolog *SHOXY*. Absence genu *SHOX* ovlivňuje mnoho projevů Turnerova syndromu, jako je například malý vzrůst. Gen *SHOX* je spjat s Madelungovou deformitou, která se projevuje jak u pacientů a Turnerovým syndromem, tak u Leri-Weill syndromu (Clement-Jones et al., 2000).

U žen a dívek s tímto syndromem se vyskytují dva hlavní projevy, malý vzrůst a ovariální dysgeneze. Ovariální dysgeneze je dále zodpovědná za dílčí projevy jako je primární amenorrhea, opožděný či neúplný vývoj pohlavních znaků, reprodukční porucha a v konečném důsledku i arteroskleróza, kterou ovlivňuje i nižší hladina estrogenu.

2.2 Klinefelterův syndrom

Klinefelterův syndrom je charakterizován nadpočetným X chromozomem u mužů a to v podobě 47,XXY (nejčastější); 47XXY/46,XX; 48,XXXXY. S vyšším počtem X chromosomu se zvyšuje závažnost klinických projevů tohoto syndromu (Forti G et al., 2010).

K nadbytečnému počtu chromosomů dochází nondisjunkcí během gametogeneze, častější je ovšem chybné rozdělení chromatid. Paternálně i maternálně je pravděpodobnost vzniku aneuploidie stejná, jednou z možných příčin je ale i vyšší věk matky, kdy pravděpodobnost chybného dělení zygoty stoupá v souvislosti s věkem.

Dochází zde k inaktivaci X chromosomu, tak jako se běžně děje, ovšem díky nadbytečnému X chromosomu dochází ke změně genové exprese (Skuse DH et al., 1997). Existují ale geny, které unikají umlčování, tyto geny se podílí na fenotypovém projevu Klinefelterova syndromu. Genů z pseudoautosomálních úseků je exprimováno násobně více, to má za následek akcentaci vybraných ženských fenotypových rysů a potlačení mužského fenotypu (Bonomi et al.,

2017).

Stejně jako u Turnerova syndromu, i zde jsou pseudoautosomální genové oblasti PAR1 a PAR1. Do oblasti genu PAR1 spadá 24 genů, do oblasti genu PAR2 spadá 4, opět se tu naleznou geny *SHOX*. Díky existenci genu *SHOX* právě v oblasti PAR1 dochází ke klinickému projevu vyšším věkem.

Závislost mezi genotypem a fenotypem tvoří androgenní receptor. N-terminální doména androgenního receptoru obsahuje repetitivní sekvenci CAG, která je vysoce polymorfní. Počet repetice ovlivňuje spermatogenezi, růst kostí, hustotu vlasů, kardiovaskulární faktory či psychologické faktory. Čím je citlivost na androgenní receptor vyšší, tím více se zhoršují fenotypové vlastnosti (Zitzmann M., et al. 2007).

Muži s tímto syndromem mají fenotyp projevující se gynekomastií, poruchou růstu vousů, hypoplastickými varlaty a azoospermií. Mezi další klinické projevy patří i poruchy abnormálního vývoje řeči. Se zvyšující se polysomií se problémy zhoršují. Se zvyšujícím se věkem se fenotyp projevuje více, závisí to jak na androgen-dependentních tak na X chromosom-dependentních příznacích.

2.3 Syndrom trisomie X chromosomu dříve Superfemale

U této anomálie dochází k trisomii X chromosomu, tedy 47,XXX, tento syndrom má 1 žena z 1000. Diagnóza trisomie X chromosomu lze stanovit již v prenatálním stádiu, jde ale spíše o náhodné nálezy. U žen se syndromem trisomie X chromosomu se mohou projevit duševní poruchy, poruchy řeči, ADHD či problémy s učením jako je dyslexie. Klinicky se projevují urogenitální malformace, či předčasné selhání vaječnicků (Wigby et al., 2016).

Často se na syndrom trisomie přijde až ve chvíli, kdy má žena problémy s početím a díky vyšetření jí je diagnostikován. Ženy, které mají tento syndrom netrpí žádnými nápadnými fenotypovými znaky.

2.4 Syndrom 47,XYY dříve Supermale

Syndrom je způsoben přítomností dvou a více Y chromosomů, tedy 47,XYY. K nadbytečnému Y chromosomu dochází nondisjunkcí během druhého meiotického dělení. Muži s tímto syndromem jsou vyšší, robustnější postavy. Často se u nich objevují neuropsychické potíže jako je autismus, ADHD (attention

deficit hyperactivity disorder), také je zde vyšší riziko opožděného vývoje řeči a motoriky. Tyto projevy jsou viditelnější postupně s přibývajícím věkem (Wigby et al., 2016).

Může být přítomna i azoospermie jejíž následkem je neplodnost, což je ovlivněno přítomností druhého Y chromosomu (W. H. Jo et al., 2015).

3 Poruchy formou mutací genů

3.1 Gen *SRY*

S přítomností Y chromosomu v karyotypu lze očekávat progresi vývoje k mužskému pohlaví, jelikož se zde vyskytuje gen *SRY* (obrázek 4), který indukuje progresi mužského pohlaví. Gen *SRY* byl detekován v buňkách mozku.

Bylo to dokázáno za pomoci řetězové reakce polymerázou s reverzní transkriptázou, *SRY* tak bylo objeveno v hypotalamu a kůře mozku. Otevřený čtecí rámeček lidského genu *SRY* lze rozdělit do tří oblastí, těmi jsou HMG oblast, oblast C-terminální domény a oblast N-terminální domény. Do skupiny HMG patří gen *SOX9*. Doména HMG s transkripčním faktorem *SOX9* má afinitu k TAACAAT vazebnému motivu DNA, dochází tak k zvýšené fosforylaci proteinkinázou A, což vede k translokaci do jádra (A. Jo et al., 2014).

V případě, že gen *SRY* není vůbec aktivován, rozvíjí se namísto Sertoliho buněk samičí buňky a dochází tak k vzniku oocytů a folikulárních buněk. Pokud se *SRY* aktivuje, začne se v buňkách skladovat glykogen, buňky se začnou dělit a navozují vznik prvních spermatogonií, s tím souvisí i produkce anti-Müllerického hormonu.



Obrázek 4 – Lidský gen *SRY*
(zdroj: upraveno podle Harley et al., 2003)

3.2 Gen SOX9

Gen SOX9 patří do rodiny HMG boxu a je SRY závislý. Patří mezi transkripční faktory, které se váží do malého žlábků DNA. Gen SOX9 rozeznává sekvenci CCTTGAG, na kterou se váže spolu s dalšími členy z HMG rodiny. Je nezbytný pro diferenciaci prekurzorových buněk chondrocytů a spolu se steroidogenním faktorem 1 reguluje transkripci genu pro AMH (Kumar et. al., 2015) (Croft et al., 2018).

K expresi SOX9 dochází v oblasti prekurzoru gonád, v gonadálním hřebenu, a to v období mezi 41 mezi 44 dnem vývoje. Exprese genu je udržována v zárodečných lištách až do doby 18 týdnů těhotenství, kdy se vyskytuje v Sertoliho buňkách (Hanley et al., n.d.).

Mutace v genu SOX9 působí male-to-female či female-to-male zvrát.

U jedinců s karyotypem XX a mutací genu SOX9 vzniká zvrát female-to-male, tedy zvrát v mužské pohlaví, dochází ke zvýšení exprese genu. Tento projev se nazývá Campomelická dysplázie.

U jedinců s karyotypem XY a mutací genu SOX9 vzniká zvrát male-to-female, tedy zvrát v ženské pohlaví, dochází ke snížení exprese genu (Sry & Sry, n.d.), tento projev se nazývá Swyerův syndrom.

V případě, že gen SRY není vůbec aktivován, rozvíjí se namísto Sertoliho buněk samičí buňky a dochází tak k vzniku oocytů a folikulárních buněk. Pokud se SRY aktivuje, začne se v buňkách skladovat glykogen, buňky se začnou dělit a navozují vznik prvních spermatogonií, s tím souvisí i produkce Anti-Müllerického hormonu. AMH je aktivován genem SOX9 v Sertoliho buňkách, jeho exprese inhibuje vznik ženského reprodukčního systému. Hormon je úzce spjat regulací jaderného receptoru SF-1, transkripčními faktory GATA, genem DAX1 a folikuly stimulujícím hormonem (FSH). Pokud nedojde k produkci anti-Müllerického hormonu do prvních osmi týdnů těhotenství, automaticky se začne vyvíjet Müllerianský vývod a buňky Wolffových vývodů které jsou odpovědné za vznik mužského reprodukčního systému podlehnou apoptóze. AMH je exprimováno i granulozními buňkami ovarí (Viger RS et. al., 1998) (Elinson et al., 2014).

Při nedostatku AMH v průběhu vývoje může dojít k mutaci. Mutací jsou dva případy, prvním je necitlivost receptorů AMH. Druhým je nedostatečná

funkce AMH, kdy ačkoli je hormon přítomen a receptory jsou funkční, hormon nepůsobí. Mutace se projevuje jako pseudohermafroditismus, který se projevuje nesestouplými varlaty a přítomností Mülleriánských struktur (např. málo vyvinutou dělohou), obvykle u nositele chromosomů XY (Renu et. al., 2010).

3.2.1 Swyerův syndrom

Syndrom je způsoben mutací genu *SOX9* a spolupůsobením genu *SRY*.

Ačkoli se zde nachází genotyp XY, fenotyp je ženský a dochází k vývoji ženského genitálu. Gen *SRY* může způsobit Swyerův syndrom díky delecii DNA vazebné oblasti genu *SRY* (Michala L. et al., 2008).

K projevům syndromu dochází obvykle až během dospívání, kdy je problém spjat s amenorheou (Meyer et al., 2019). Při vyšetření se prokáže přítomnost Mülleriánského vývodu, který je pozůstatkem vývojové vady a zároveň průkazem karyotypu 46,XY.

3.2.2 Campomelická dysplázie

Campomelická dysplázie je porucha, která je autosomálně dominantně podmíněné onemocnění způsobené mutací genu *SOX9* (Mansour et al., 1995).

Mutace v genu *SOX9* jsou rozptýleny po třech exonech, a často dochází k mutacím missence, nonsense a k posunům čtecího rámce. Díky tomu dochází k tvorbě zkráceného proteinu, který prochází částí HMG domény (McDowall S et al., 1999).

Při Campomelické dysplázii dochází ke zvratu pohlaví z mužského na ženské, tedy u plodu s karyotypem XY se rozvíjí ženské orgány. Dále se dysplázie klinicky projevuje zakřivením dlouhých kostí, hypoplastickými lopatkami, malým hrudníkem s 11 páry žeber, malformací pánve, hypoplastickými obratli, abnormálními krčními obratli, makrocefaliemi či hypertelorismem a malým vzrůstem (obrázek 5) (*Swyer Syndrome 5 7 14*, n.d.).



Obrázek 5 – Rentgenový snímek dítěte s Campomelickou displázií, na obrázku je zřetelně vidět zakřivení dlouhých kostí a jedenáct párů žeber.

(zdroj: upraveno dle Gentilin et al., 2010)

3.3 Gen *DAX1*

Dalším faktorem ovlivňujícím zvrát pohlaví je duplikace Xp21, která obsahuje gen *DAX1* (Dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia critical region on chromosome X, gene 1). Tento gen ležící na chromosomu X je antagonistou genu *SRY*. Funguje tedy jako negativní regulátor estrogenního, androgenního či progesteronového receptoru (Anita K. et al., 2004).

Gen *DAX1* má na svém N-konci sekvenci, ve které se opakuje 66 aminokyselin. Tato sekvence zprostředkovává protein – protein interakce, jindy takovéto interakce probíhají za pomoci zinkových prstů na C-konci, který interaguje vazbu s DNA, tento motiv se zde ale neobjevuje. *DAX1* funguje jako

negativní regulátor transkripce v jádře.

Gen *DAX1* nezpůsobí zvrát pohlaví sám o sobě, dochází k tomu zároveň působením genu *SRY* (Chen et al., 2014).

V případě, že dochází ke zvýšené expresi genu *DAX1* dochází k reverzi v ženské pohlaví, dochází tak k ovlivnění vývoje pohlavních žláz a *DAX1* je tak považován za anti-testis gen.

Mutace nebo delece genu *DAX1* způsobují hypoplázii nadledvin (AHC), varlata se mohou vyvinout, ale je to doprovázeno poruchami pohlavních žláz.

3.4 Gen *WNT4*

Gen *WNT4* se nachází na chromosomu 1, je zodpovědný za produkci proteinu WNT4 a podílí se na vzniku ženského pohlaví během embryogeneze a potlačuje vznik mužského pohlaví a reguluje hladinu genu *DAX1* (Huguet EL et al., 1994). *WNT4* interaguje během vývoje s *RSPO1* a společně se podílí na vývoji pohlaví. Společně jsou antagonisté k působení *SRY* a *SOX9*, následky jejich přetlačování mohou vést k hypoplázii varlat, ovšem není možné, aby následkem byla změna pohlaví, jelikož se to neodehrává v Leydigových buňkách, ty tak zůstávají stejné (Chassot et al., 2012).

WNT4 se navazuje na Frizzled receptory, spřažené s G- proteiny, které dále aktivují Wnt signální dráhu, to má za následek stabilizaci β cateninu, který zvyšuje expresi cílových genů, například funkce TAFII 105 podjednotky, která kóduje navazování TATA na RNA polymerázu v buňkách vaječnickových folikul, tím je zajišťován jejich růst a zrání (Mandel et al., 2008). Zároveň je za pomoci *WNT4* inhibována aktivita 5 α -reduktázy, která přeměňuje testosteron na dihydrotestosteron a zamezuje tvorbě mužských genitálií. A je tak přispíváno k tvorbě Müllerova vývodu, který je předchůdcem ženských reprodukčních orgánů (Mandel et al., n.d.) (Elinson et al., 2014).

V případě funkce *WNT4* u mužů je nutná přítomnost *FGF2*, což má za následek potlačování *WNT4* a díky tomu vznik mužských reprodukčních pohlavních orgánů. Pokud není u muže s karyotypem XY přítomen *FGF2*, dochází k částečnému zvrát pohlaví, pokud není přítomen *FGF9* dochází k úplnému zvrát pohlaví. To lze ale napravit absencí *WNT4*, tímto dochází k existenci takzvaných dvojitých mutantů (Jameson et al., 2012).

3.4.1 Deficience genu *WNT4*

Deficience genu *WNT4*, je způsobena mutací genu *WNT4* a jeho expresí. Jedná se o vzácnou chorobu, kdy deficience způsobuje nedostatečný vývoj či úplnou absenci pochvy a dělohy. V krvi se nachází velmi vysoká hladina androgenů, které podporují rozvoj mužských pohlavních znaků a potlačují ženské pohlavní znaky. Deficience způsobuje amenorrheu, nevyvinutí pochvy a vaginy, znemožnění pohlavního styku, neplodnost (Baison-Lauber A, Konrad D, 2007) (Biaison – Lauber A, Konrad D, 2008).

3.4.2 *SERKAL* syndrom

Sex reversion, kidneys, adrenal and lungs dysgenesis aneb reverze pohlaví a dysgeneze ledvin, nadledvin a plic. Jedná se o autosomálně recesivní poruchu, která je způsobena ztrátou funkce genu *WNT4*. Jde o poruchu, kdy mutace genu *WNT4* způsobuje intraexonický homozygotní přechod C na T, což vede k substituci alaninu na valin. Tato změna působí na stabilitu proteinu a vede ke ztrátě jeho funkce. U žen s karyotypem XX, může tak tedy dojít k zvratu v mužské pohlaví (Mandel et al., 2008).

3.4.3 *Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser* syndrom

Také Müllerian agensis či vaginální agenze. Jedná se o syndrom způsobený negenetickými příčinami. Některé případy ale vznikají mutací genu *WNT4*, kdy dochází k jeho deficienci. U žen s karyotypem XX tak dochází k nevyvinutí pohlavních orgánů, dysgenezi ledvin či hyperandrogenismu, tedy nadbytku primárně mužských hormonů v krvi (Biaison-Lauber et al., 2007).

MRKH existují dva typy. V případě, že se mutace projevuje pouze u reprodukčních orgánů, jedná se o MRKH typu I. Pokud se ale projevuje více tělesných abnormalit, jedná se o MRKH typu II (Strübbe EH et al., 1993).

Syndrom způsobuje nevyvinutí Müllerova vývodu, a tak nemusí dojít k vývoji dělohy, vaječníky ale vyvinuty jsou, je tedy i možnost, že žena s tímto syndromem by mohla otěhotnět, jednalo by se ale o in vitro fertilizaci (Raziel A et al., 2012).

3.5 Gen CYP21A2

CYP21A2 je protein kódující gen ležící na krátkém raménku chromosomu 6, který produkuje 21-hydroxylázu, 17 α -hydroxylázu, 11-hydroxylázu či 3 β HSD, které jsou zapotřebí během vývoje pohlaví. Existuje i jeho inaktivní pseudogen CYP21A1, tyto geny spolu vykazují 98% homologii v exonech a 96% homologii v intronech (Narasimhan & Khattab, 2019). Nejčastějšími mutacemi bývají deficiencie jednotlivých hydroxyláz.

3.5.1 Kogenitální adernální hyperplázie (CAH)

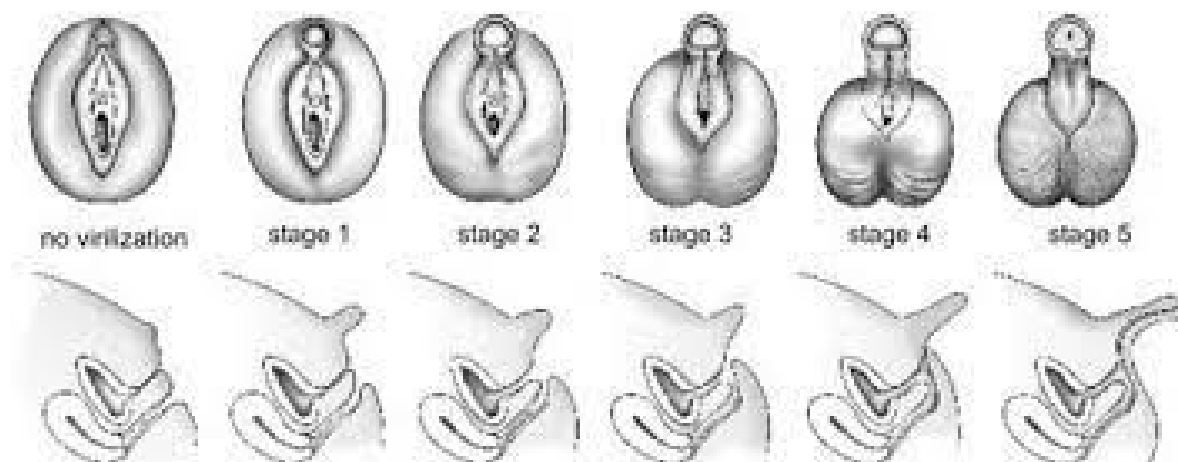
Kogenitální adernální hyperplázie je autosomálně recesivně dědičná choroba, která je způsobena poruchou syntézy steroidních hormonů v kůře nadledvinek. Jedná se hlavně o poruchy syntézy aldosteronu a kortisolu. V 95 % případů jde o mutaci genu CYP21A2, kdy dochází k deficienci 21-hydroxylázy (Bachelot A et al., 2008). 21-hydroxyláza se podílí na přeměně 17 α -hydroxylázy v 11-hydroxylázu, tím je ovlivněna syntéza kortisolu (Laji et al., 2002), zároveň se podílí na produkci mineralokortikoidů a tím ovlivňuje syntézu aldosteronu. Díky snížení produkce kortisolu nedochází ke zpětné vazbě adrenokortikotropního hormonu (ACTH), ACTH tedy podporuje syntézu androgenů a dochází k jejich nadprodukcí (New MI et al., 2004). CAH způsobená deficiencí 21-hydroxylázou se projevuje dvojím způsobem, v klasické a neklasické formě.

Klasická forma znamená, že aktivita 21-hydroxylázy je nulová až jednocentní, dle toho se také rozděluje do poruch.

V případě, že aktivita 21-hydroxylázy je nulová, jedná se o salt-wasting poruchu, kdy dochází k solné krizi, u chlapců i dívek to má fatální následky, v těle se nachází vysoká hladina androgenů (Laji et al., 2002).

V případě, že aktivita 21-hydroxylázy se pohybuje na 1 %, jedná se o prostou virilizující poruchu (obrázek 6), která způsobuje předčasnou pubertu a abnormality sekundárních pohlavních znaků (Dessinioti C, 2014).

Neklasická forma znamená, že 21-hydroxyláza funguje na 20-50 %. Tato forma poruchy nemá u chlapců žádný projev, u dívek ale způsobuje hirsutismus, poruchy cyklu či infertilitu (Witchel SF, 2012).



Obrázek 6 – Porucha virilizace a následná malformace zevního genitálu u dívek (zdroj: upraveno podle Geschlechtsentwicklung et al., 2013)

4 Poruchy hormonálního typu

S pohlavním vývojem jsou úzce spjaty i hormony, které jsou produkovány v mozku. Zde lze objevit rozdíly spjaté s pohlavím, které by se daly nazvat sexuálním dimorfismem. Jedná se o odlišné velikosti různých částí mozku, které jsou ovlivněny daným pohlavím. Například čelní kůra je větší u žen než u mužů, v hypotalamus je anteroventrální periventrikulární jádro (AVPV), které je větší u žen, jelikož odtud dochází k regulaci ovulačního cyklu. U mužů je větší sexuálně dimorfní jádro (SDN), které je spjato s produkcí testosteronu (Bleier et. Al., 1982).

Tyto rysy sexuálního dimorfismu mohou být proječovány v podobě duševních poruch. Ženy tak mají sklony k úzkostem a depresím, zatímco u mužů je vyšší výskyt autismu (Häfner et al., 1993), viz dále.

Po gonadálním ustanovení pohlaví dochází k produkci hormonů estrogenu a testosteronu z vaječnicků a varlat. Tyto hormony pak cirkulují v krevním oběhu plodu a navazují se na příslušné receptory, které dále ovlivňují danou genovou expresi.

Mužské embryo je chráněno inhibítozem estrogenu α -fetoproteinem, který umožní pouze testosteronu pracovat jako organizační hormon (Phoenix et. Al., 1959).

4.1 Androgenní hormony

Androgeny jsou pohlavní hormony, které jsou prekurzorem jak pro testosteron, tak pro estrogeny. Podílí se jak na prenatálním vývoji jedince, tak i na pubertálním růstu a tvorbě sekundárních pohlavních znaků. Jsou tvořeny ve vaječnících či varlatech v průběhu vývoje jedince, k tvorbě androgenů dochází okolo osmého týdnu vývoje (Gilbert FS, 2000) (obrázek 7).

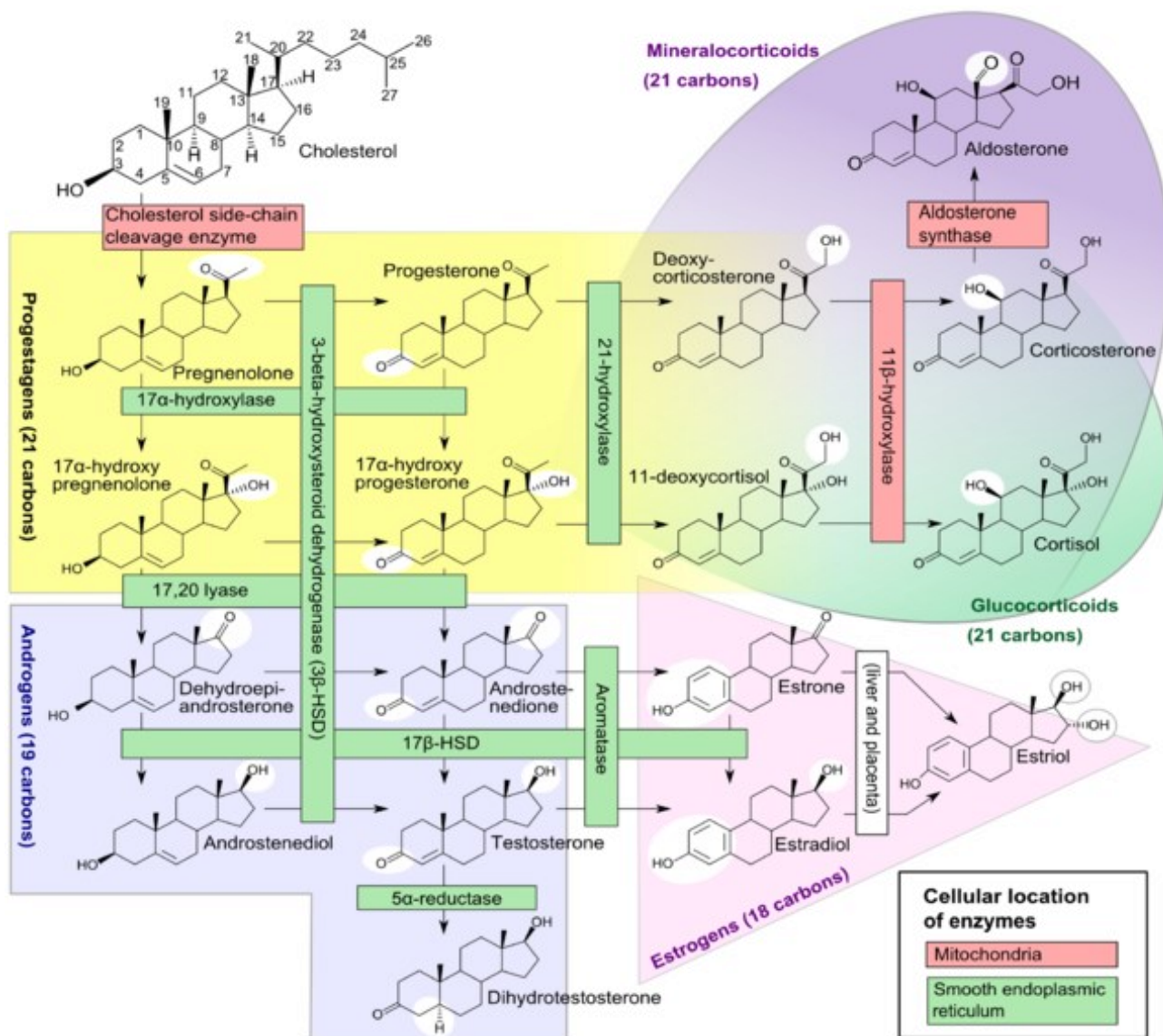
Androgeny jsou rozpoznávány androgenními receptory, na které se androgeny váží, hlavní funkcí je pak vazba na DNA a regulace genové exprese. Geny ovlivňované androgeny jsou zásadní pro vývoj mužského fenotypu. Androgenní receptory fungují v dimeru, kdy se vážou na sekvenci DNA a ovlivňují up-regulaci či down-regulaci. Up-regulace má za následek zvýšenou expresi genů, a tedy větší tvorbu mRNA (Heemers HV et. al., 2007).

Androgenní receptory obsahují repetitivní sekvence CAG, které mohou ovlivňovat citlivost na receptor. V případě, že je sekvencí málo, je zvýšena citlivost na receptor, druhou možností je přítomnost mnoha repetitivních sekvencí a dochází ke snížené citlivosti na receptor (Sartor O et. al., 1999).

Syndrom necitlivosti na androgeny (CAIS) je XR dědičná choroba, která postihuje jedince s karyotypem XY, ovšem projevuje se nesestouplými varlaty, nevyvinutou dělohou a ženskými rysy (Solari et al., 2008), fenotyp je tedy ženský.

Syntéza androgenů probíhá z počáteční molekuly cholesterolu, kdy zůstává zachováno cyklopentanperhydrogenpenantrenové jádro a změny probíhají na vedlejších řetězci. První tři reakce probíhají pouze ve žlázách s vnitřní sekrecí, je totiž nutné, aby byly přítomné příslušné enzymy a mohlo tak docházet k příslušné enzymatické aktivitě, jedině tak je možné docílit syntézy androgenů (Trojan S, 2003).

Je ale možné, aby docházelo k vzniku androgenů i v cílových tkáních. Díky vylučování prohormonu DHEA z kůry nadledvin, který koluje v krvi a slouží jako substrát pro syntézu testosteronu v cílové tkáni, což je důležité pro humorální řízení orgánů, které jsou svou funkcí závislé na přísunu androgenů (Shariffi et al., 2012).



Obrázek 7 – Syntéza steroidních hormonů

(zdroj: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Steroidogenesis.png>)

4.2 Estrogen

U savců způsobuje estrogen formaci sekundárních pohlavních znaků, reguluje reprodukční cyklus a ovlivňuje sexuální a mateřské chování. Jsou s ním spjaty ale i nereprodukční funkce, kdy ovlivňuje hustotu kostí, hladinu lipidů v krvi či ukládání tuků a nakládání s vodou a solí.

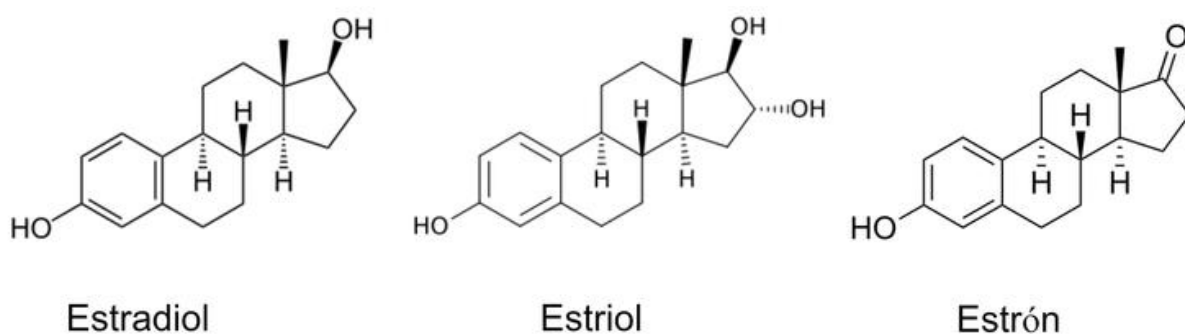
Estrogen vzniká biochemickými procesy z cholesterolu, za pomoci enzymů cytochromu P450, 3 β -hydroxysteroid dehydrogenázy a aromatázy.

Vznikají tak tři důležité estrogeny, estrone (E1), 17 β -estradiol (E2) a estriol (E3) (obrázek 8). Dochází i ke vzniku čtvrtého estrogenu, esterolu (E4), ten je

ovšem produkován v průběhu těhotenství v játrech plodu (Luu-The., 2013).

Estrogeny snadno prochází buněčnými membránami za pomoci estrogenových receptorů. Estrogenové receptory jsou aktivovány ligandem a jsou dva typy, estrogenový receptor alfa (ESR1/ER α) a estrogenový receptor beta (ESR2/ER β) (Wärnmark A. et. al., 2003).

V průběhu vývoje dochází k mutacím estrogenového receptoru alfa. Jedná se o homozygotní mutace s estrogenovou rezistencí, u mužů tato rezistence způsobuje neukončený růst epifyzy, takoví muži tak mohou dosahovat výšky přes dva metry. U žen homozygotní mutace estrogenového receptoru alfa projevuje absencí vývoje prsou, nepravidelnou menstruací, polycystickými vaječníky či akné (Bondesson et al., 2015).



Obrázek 8 – Chemické vzorce estrogenů

(zdroj: <https://www.modrykonik.cz/snazime-se/estrogen/>)

4.3 Testosteron

Testosteron je anabolickým hormonem, který se účastní vývoje jedince a pak i jeho dospívání a na tvorbě sekundárních pohlavních znaků jako jsou zvýšení svalové a kostní hmoty či ochlupení.

Testosteron (obrázek 9) vzniká biochemickými procesy z cholesterolu, za pomoci enzymů P450 a 3 β -hydroxysteroid dehydrogenázy (Zuber MX, et. al., 1986). Největší množství testosteronu je produkováno v Leydigových buňkách ve varlatech, dále ho mohou produkovat buňky nadledvin. U žen ho produkují buňky nadledvin a během těhotenství je produkován placentou (Zouboulis CC, Degitz K, 2004).

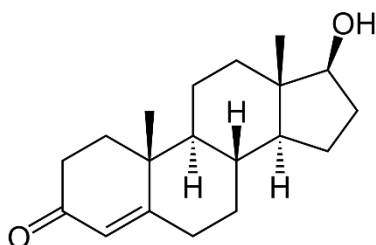
Sertoliho buňky v mužských generativních žlázách vyžadují testosteron pro spermatogenezi. Testosteron je sem transportován za pomoci krevního řečiště, ve kterém plave a v průběhu je vázán na specifické proteiny (Brooks,

n.d.).

U syntézy testosteronu dochází k stimulační dráze hypotalamus – hypofýza – varlata, kdy hladina testosteronu je schopna zpětně ovlivňovat hladinu regulace dalšího testosteronu. A to za pomoci produkce gonadotropinu, který produkuje hypofýza a působí na hypotalamus, který dále produkuje luteizační hormon a folikul-stimulační hormon, které ovlivňují varlata a jejich další produkci testosteronu (Swerdloff RS, et. al., 1992).

Zásadním receptorem pro testosteron je androgenní receptor, při jeho poruše či mutaci dochází k insenzitivě na testosteron. Tato porucha způsobuje vývoj ženského vnějšího genitálu, ačkoli chromozomy vykazují karyotyp XY. Může zde docházet i k nadprodukcí testosteronu, ovšem bez odezvy (Hughes IA et. al., 2012).

Androgenní receptor je kódován genem, který nese X chromozom na svém dlouhém raménku v oblasti Xq12, obsahuje vysoce polymorfní sekvenci CAG, která se repetitivně opakuje 14-35krát směrem k 5'konci exonu 1. A určuje tak důležitý marker pro dědičnost chromosomu X (Lubahn DB et. al., 1988).



Obrázek 9 – Chemický vzorec testosteronu
(zdroj: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Testosteron>)

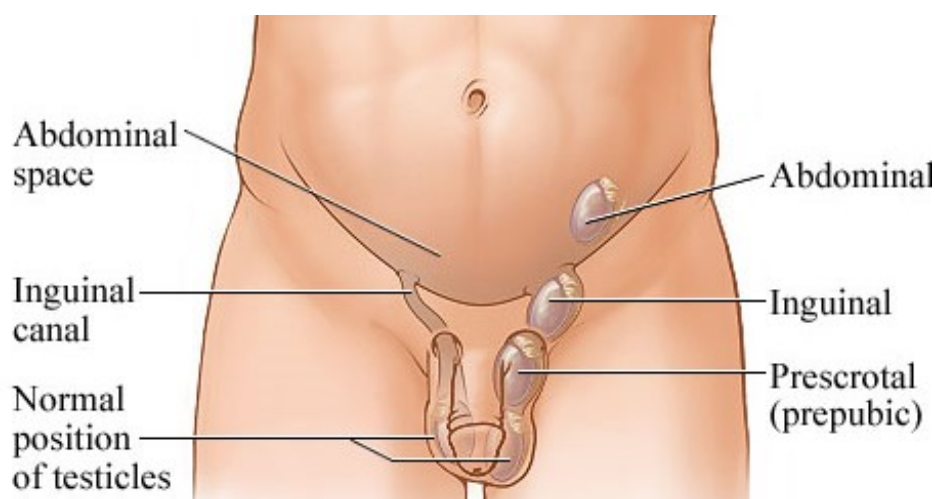
4.4 INSL3

INSL3 je produkován Leydigovými buňkami a účastní se fetálního testikulárního sestupu. Během embryogeneze jsou Leydigovy buňky jediným producentem INSL3. Po vyprodukování INSL3 cirkuluje a váže se na peptidové receptory 2 (RXFP2) na gubernakulárních buňkách, způsobuje tak jejich proliferaci (Kaftanovskaya EM, et al., 2011). INSL3 je produkován během vývoje, ale není tolik nalezen při vývoji ženského pohlaví, ovšem během vývoje

mužského pohlaví transkripty přítomny jsou. To nám napovídá, že hormon INSL3 se přímo podílí na diferenciaci mužského fenotypu a spermatogenezi (Zimmermann S, et al., 1997). U mužů je pak produkován ještě 3 měsíce od narození, poté produkce klesá a stoupá opět zas až během puberty. U žen je INSL3 důležitý během dospívání a reprodukčního cyklu, kdy spolu s FSH a LH ovlivňuje folikulární fáze a menstruační cyklus (Alberto F, et al., 2006).

Mutace genu *INSL3* u mužů způsobuje cryptorchidismus (obrázek 10), který dále může vést k infertilitě a následně i vzniku rakoviny.

Mutace genu *INSL3* u žen způsobuje syndrom polycystických vaječníků, takové pacientky jsou dále kategorizovány dle jejich menstruačních cyklů do skupin amenoreické, eumenoreické a oligomenorické.



Obrázek 10 – Nesestouplé varle v důsledku mutace INSL3, lze je klasifikovat dle polohy na břišní, tříselné či prepubické (Zdroj: <https://www.aogdalton.com/womens-health/healthwise/?DOCHWID=zm2279>)

5 Závěr

Determinace pohlaví je určována chromosomálně, tedy kompletním karyotypem, kdy jsou přítomny autosomální i gonosomální chromosomy. Pohlaví určují gonosomální chromosomy, kdy se předpokládá, že primárně předurčeným vývojem je ženské pohlaví, kdy jsou přítomny chromosomy XX a až přítomnost Y chromosomu způsobuje změnu genové exprese a určuje vývoj mužského pohlaví.

S počtem či abnormalitami chromosomů jsou spjaty poruchy, ke kterým dochází již během průběhu meiózy. Může tak docházet k chybnému rozdělení chromatid a jejich následná delece či aberace. Mezi takové poruchy zařazujeme mozaicismus, kdy dochází k nondisjunkci během dělení, což má za následek vznik dvou rozdílných buněčných linií. Další poruchou je chimerismus, kdy dochází k fúzi dvou zygot a vzniklý jedinec má tak buňky dvou či více genetických linií. Příkladem těchto poruch jsou syndromy, které se potýkají s aneuploidií, trisomií apod.

Chromosomální odchylky mohou být častým vysvětlením reprodukční poruchy (sterility) u jinak relativně normálních mužů (Klinefelterův syndrom, XYY syndrom) a žen (Turnerův syndrom, XXX syndrom), naopak pak máme i genové mutace, které mohou způsobovat nápadnější vady zevního genitálu již po narození nebo se na ně přijde při dalším podrobnějším vyšetření (u urologa či dětského gynekologa).

Mezi chromosomální odchylky se řadí jak Turnerův syndrom (vyskytující se u žen), tak Klinefelterův syndrom (vyskytující se u mužů). U obou těchto syndromů dochází k chybnému dělení chromosomů a k následnému ovlivnění vývoje díky různým změnám exprese genu *SHOX*.

Turnerův syndrom je chromosomální aneuploidií, jeden chromosom tedy chybí. Ačkoli nejsme schopni určit, který z chromosomů je postrádán, důležité je, že jedinec se bude dále vyvíjet jako žena. Fenotypové projevy jsou ovlivněny chyběním genu *SHOX*, který by měl být transkripčně aktivní oblast na inaktivním X chromosomu, ten se zde ovšem nenachází. Ženy s tímto syndromem jsou tak malého vzrůstu, či trpí Madelungovou deformitou.

V případě Klinefelterova syndromu dochází k nadpočtu gonosomálních chromosomů. Jedná se o přítomnost nadpočetného chromosomu X.

S postupným přibýváním X chromosomu se zvyšuje závažnost

onemocnění a jeho fenotypu. Fenotyp je opět závislý na oblasti PAR, ve které se nachází gen *SHOX*, jelikož je přítomno více X chromosomů, dochází i ke zvýšené expresi, což se projevuje vyšším vzrůstem postavy.

Genové odchylky jsou na sobě často závislé a vzájemně se ovlivňují. Mezi nejčastější příčinu genových odchylek patří zvrát pohlaví, ke kterému může dojít v případě mutací daných genů. Zvrát pohlaví může způsobit mutace genu *SOX9*, *DAX1*, *WNT4*, *CYP21A2* či dalších.

Geny *SOX9* a *DAX1* jsou ovlivňovány genem *SRY*, společně s genem *SRY* pak mohou zapříčinit zvrát pohlaví. Gen *WNT4* je naopak antagonistou genů *SRY* a *SOX9*, podporuje vznik ženského pohlaví a reguluje hladinu genu *DAX1*, který je považován za Anti-testis gen.

V případě mutací genů *SOX9*, *DAX1*, *WNT4* je podpořen zvrát vzniku pohlaví, a vzniká tak mužské pohlaví. V případě duplikace genu *DAX1* dochází ke zvýšené expresi genu a dochází tak k vývoji ženského pohlaví.

Na determinaci pohlaví se nepodílí pouze chromosomy a na nich se nacházející geny, ale také hormony, i ty ovšem mohou být ovlivněny geny, mezi takové patří například steroidní hormony. Hormony jsou produkovány v mozku a již zde lze identifikovat rozdíly, které by se daly považovat za sexuální dimorfismus. Jedná se o větší části mozku, které přímo souvisí s hormonální hladinou u daného pohlaví. U žen je větší čelní kůra a AVPV, ze kterého je regulován ovulační cyklus. Muži mají větší SDN, které je spjato s produkcí testosteronu. Dále jsou produkovány orgány s vnitřní sekrecí. Základními hormony jsou androgeny, které jsou prekurzorem jak testosteronu, tak estrogenu.

V případě poruch se jedná o mutace citlivosti na androgeny, jejich funkčnost či mutace androgenních receptorů.

Během procesu determinace pohlaví jsou tedy velice důležité veškeré procesy, jejich načasování i hladina daných látek, které se v těle objevují. Celý proces může být ovlivněn jedinou mutací, která může mít za následek až fatální dopad. Většina z vzniklých mutací zasahuje i do produkce jiného genu, či produkce hormonů. Díky tomu jsou na sebe i dále procesy závislé a je tak možné říci, že ačkoli k zvrátu pohlaví stačí jediná mutace, musí i tak dojít k působení dalších faktorů, aby k takovému procesu opravdu došlo.

6 Seznam použité literatury:

- Aerts JM, Bols PE. Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. *Reprod Domest Anim.* 2010 Feb;45(1):180-7. doi: 10.1111/j.1439-0531.2008.01298.x. Epub 2008 Dec 15. PMID: 19090819.
- Alberto Ferlin, Andrea Garolla, Franco Rigon, Lucia Rasi Caldogno, Andrea Lenzi, Carlo Foresta, Changes in Serum Insulin-Like Factor 3 during Normal Male Puberty, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 91, Issue 9, 1 September 2006, Pages 3426–3431, <https://doi.org/10.1210/jc.2006-0821>
- Álvarez-Nava, F., & Lanes, R. (2018). Epigenetics in Turner syndrome. In *Clinical Epigenetics* (Vol. 10, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/s13148-018-0477-0>
- Anita K. Iyer, Edward R.B. McCabe, Molecular mechanisms of DAX1 action, *Molecular Genetics and Metabolism*, Volume 83, Issues 1–2, 2004, Pages 60-73, ISSN 1096-7192
- Bachelot A, Chakthoura Z, Rouxel A, Dulon J, Touraine P: Classical Forms of Congenital Adrenal Hyperplasia due to 21-Hydroxylase Deficiency in Adults. *Horm Res* 2008;69:203-211. doi: 10.1159/000113020
- Biason-Lauber, A., De Filippo, G., Konrad, D., Scarano, G., Nazzaro, A., & Schoenle, E. J. (2007). WNT4 deficiency-a clinical phenotype distinct from the classic Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome: A Case Report. *Human Reproduction*, 22(1), 224–229. <https://doi.org/10.1093/humrep/del360>
- Biason-Lauber A, Konrad D: WNT4 and Sex Development. *Sex Dev* 2008;2:210-218. doi: 10.1159/000152037
- Bleier R, Byne W, Siggelkow I. Cytoarchitectonic sexual dimorphisms of the medial preoptic and anterior hypothalamic areas in guinea pig, rat, hamster, and mouse. *J Comp Neurol.* 1982 Dec 1;212(2):118-30. doi: 10.1002/cne.902120203. PMID: 7187914.
- Bondesson, M., Hao, R., Lin, C. Y., Williams, C., & Gustafsson, J. Å. (2015). Estrogen receptor signaling during vertebrate development. In *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms* (Vol. 1849, Issue 2, pp. 142–151). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.06.005>

- Bonomi, M., Rochira, V., Pasquali, D., Balercia, G., Jannini, E. A., Ferlin, A., Calogero, A., Corona, G., Fabbri, A., Francavilla, F., Giagulli, V., Lanfranco, F., Maggi, M., Pivonello, R., Pizzocaro, A., Radicioni, A., Accardo, L., Cangiano, B., Condorelli, R. A., ... Vicari, E. (2017). Klinefelter syndrome (KS): genetics, clinical phenotype and hypogonadism. *Journal of Endocrinological Investigation*, 40(2), 123–134. <https://doi.org/10.1007/s40618-016-0541-6>
- Brooks, R. V. (n.d.). *BIOSYNTHESIS OF TESTOSTERONE*.
- Chassot, A.-A., Bradford, S. T., Auguste, A., Gregoire, E. P., Pailhoux, E., de Rooij, D. G., Schedl, A., & Chaboissier, M.-C. (2012). WNT4 and RSPO1 together are required for cell proliferation in the early mouse gonad. *Development*, 139(23), 4461 LP – 4472. <https://doi.org/10.1242/dev.078972>
- Chen, L., Ding, X. P., Wei, X., & Li, L. X. (2014). Investigation of mutations in the SRY, SOX9, and DAX1 genes in sex reversal patients from the Sichuan region of China. *Genetics and Molecular Research*, 13(1). <https://doi.org/10.4238/2014.March.12.4>
- Clement-Jones, M., Schiller, S., Rao, E., Blaschke, R. J., Zuniga, A., Zeller, R., Robson, S. C., Binder, G., Glass, I., Strachan, T., Lindsay, S., & Rappold, G. A. (2000). The short stature homeobox gene SHOX is involved in skeletal abnormalities in Turner syndrome. *Human Molecular Genetics*, 9(5), 695–702. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.5.695>
- Conlin, L. K., Thiel, B. D., Bonnemann, C. G., Medne, L., Ernst, L. M., Zackai, E. H., Deardorff, M. A., Krantz, I. D., Hakonarson, H., & Spinner, N. B. (2010). Mechanisms of mosaicism, chimerism and uniparental disomy identified by single nucleotide polymorphism array analysis. *Human Molecular Genetics*, 19(7), 1263–1275. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq003>
- Croft, B., Ohnesorg, T., Hewitt, J., Bowles, J., Quinn, A., Tan, J., Corbin, V., Pelosi, E., van den Bergen, J., Sreenivasan, R., Knarston, I., Robevska, G., Vu, D. C., Hutson, J., Harley, V., Ayers, K., Koopman, P., & Sinclair, A. (2018). Human sex reversal is caused by duplication or deletion of core enhancers upstream of SOX9. *Nature Communications*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07784-9>
- Dessinioti C. Congenital adrenal hyperplasia and acne in male patients. In: Zouboulis CC, Katsambas AD, Kligman AM, eds. Acne vulgaris and Rosacea: Pathogenesis and treatment of Acne and Rosacea. Springer-

- Verlag Berlin Heidelberg, 2014; XXVIII, 768, doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-540-69375-8>. ISBN: 978-3-540-69375-8
- Du, H., & Taylor, H. S. (2015). Development of the Genital System. In *Principles of Developmental Genetics: Second Edition* (pp. 487–504). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405945-0.00027-2>
- Elinson, R. P., Stewart, J. R., Bonneau, L. J., & Blackburn, D. G. (2014). Amniote yolk sacs: Diversity in reptiles and a hypothesis on their origin. *International Journal of Developmental Biology*, 58(10–12), 889–894. <https://doi.org/10.1387/ijdb.140239db>
- Forti G, Corona G, Vignozzi L, Krausz C, Maggi M. Klinefelter's syndrome: a clinical and therapeutical update. *Sex Dev.* 2010 Sep;4(4-5):249-58. doi: 10.1159/000316604. Epub 2010 Jul 21. PMID: 20664188.
- Gentilin, B., Forzano, F., Bedeschi, M. F., Rizzuti, T., Faravelli, F., Izzi, C., Lituania, M., Rodriguez-Perez, C., Bondioni, M. P., Savoldi, G., Grosso, E., Botta, G., Viora, E., Baffico, A. M., & Lalatta, F. (2010). Phenotype of five cases of prenatally diagnosed campomelic dysplasia harboring novel mutations of the SOX9 gene. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 36(3), 315–323. <https://doi.org/10.1002/uog.7761>
- Geschlechtsentwicklung, D., Verlag, M., & Zabransky, S. (2013). *Proceedingband 2013*.
- GILBERT, S. F. (2000). *Developmental biology*. Sunderland, Mass, Sinauer Associates.
- Hacker A, Capel B, Goodfellow P, Lovell-Badge R. Expression of Sry, the mouse sex determining gene. *Development.* 1995 Jun;121(6):1603-14. PMID: 7600978.
- Häfner, H., Riecher-Rössler, A., An Der Heiden, W., Maurer, K., Fätkenheuer, B., & Löffler, W. (1993). Generating and testing a causal explanation of the gender difference in age at first onset of schizophrenia. *Psychological Medicine*, 23(4), 925–940. <https://doi.org/10.1017/S0033291700026398>
- Hanley, N., Hagan, D., Clement-Jones, M., Ball, S., Strachan, T., Salas-Corte Âs, L., McElreavey, K., Lindsay, S., Robson, S., Bullen, P., Ostrer, H., & Wilson, D. (n.d.). *Gene expression pattern SRY, SOX9, and DAX1 expression patterns during human sex determination and gonadal development*. www.elsevier.com/locate/modo
- Harley, V. R., Clarkson, M. J., & Argentaro, A. (2003). The molecular action and

- regulation of the testis-determining factors, SRY (Sex-Determining Region on the Y Chromosome) and Sox9 [Sry-Related High-Mobility Group (HMG) Box 9]. In *Endocrine Reviews* (Vol. 24, Issue 4). <https://doi.org/10.1210/er.2002-0025>
- Harrison, S. M., Bush, N. C., Wang, Y., Mucher, Z. R., Lorenzo, A. J., Grimsby, G. M., Schlomer, B. J., Büllesbach, E. E., & Baker, L. A. (2019). Insulin-Like Peptide 3 (INSL3) Serum Concentration During Human Male Fetal Life. *Frontiers in Endocrinology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00596>
- Harrison SM, Bush NC, Wang Y, Mucher ZR, Lorenzo AJ, Grimsby GM, Schlomer BJ, Büllesbach EE and Baker LA (2019) Insulin-Like Peptide 3 (INSL3) Serum Concentration During Human Male Fetal Life. *Front. Endocrinol.* 10:596. doi: 10.3389/fendo.2019.00596
- Heemers HV, Tindall DJ. Androgen receptor (AR) coregulators: a diversity of functions converging on and regulating the AR transcriptional complex. *Endocr Rev.* 2007 Dec;28(7):778-808. doi: 10.1210/er.2007-0019. Epub 2007 Oct 16. PMID: 17940184.
- Hiort, O. (2013). The differential role of androgens in early human sex development. In *BMC Medicine* (Vol. 11, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-152>
- Hughes IA, Werner R, Bunch T, Hiort O. Androgen insensitivity syndrome. *Semin Reprod Med.* 2012 Oct;30(5):432-42. doi: 10.1055/s-0032-1324728. Epub 2012 Oct 8. PMID: 23044881.
- Huguet EL, McMahon JA, McMahon AP, Bicknell R, Harris AL. Differential expression of human Wnt genes 2, 3, 4, and 7B in human breast cell lines and normal and disease states of human breast tissue. *Cancer Res.* 1994 May 15;54(10):2615-21. PMID: 8168088.
- Jameson, S. A., Lin, Y. T., & Capel, B. (2012). Testis development requires the repression of Wnt4 by Fgf signaling. *Developmental Biology*, 370(1), 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2012.06.009>
- Jo, A., Denduluri, S., Zhang, B., Wang, Z., Yin, L., Yan, Z., Kang, R., Shi, L. L., Mok, J., Lee, M. J., & Haydon, R. C. (2014). The versatile functions of Sox9 in development, stem cells, and human diseases. *Genes and Diseases*, 1(2), 149–161. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2014.09.004>
- Jo, W. H., Jung, M. K., Kim, K. E., Chae, H. W., Kim, D. H., Kwon, A. R., & Kim, H. S. (2015). XYY syndrome: A 13-year-old boy with tall stature. *Annals of*

- Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 20(3).
<https://doi.org/10.6065/apem.2015.20.3.170>
- Kaftanovskaya EM, Feng S, Huang Z, Tan Y, Barbara AM, Kaur S, Truong A, Gorlov IP, Agoulnik AI. Suppression of insulin-like3 receptor reveals the role of β -catenin and Notch signaling in gubernaculum development. *Mol Endocrinol*. 2011 Jan;25(1):170-83. doi: 10.1210/me.2010-0330. Epub 2010 Dec 8. PMID: 21147849; PMCID: PMC3089031.
- KLIEGMAN, Robert M., Karen J. MARCDANTE a Hal B. JENSON. *Nelson Essentials of Pediatrics*. 1. vydání. China : Elsevier Saunders, 2006. 5; s. 234-235. ISBN 978-0-8089-2325-1.
- Kumar, Vinay; Abbas, Abul K.; Aster, Jon C. (2015). *Robbins and Cotran pathologic basis of disease (Ninth ed.)*. p. 1182. ISBN 9780808924500.
- Laji, S., Clauin, S., Robins, T., Vexiau, P., Blanché, H., Bellanne-Chantelot, C., & Wedell, A. (2002). Novel mutations in CYP21 detected in individuals with hyperandrogenism. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(6), 2824–2829. <https://doi.org/10.1210/jc.87.6.2824>
- Library, W. O., Brazel, A. J., & Vernimmen, D. (2016). The complexity of epigenetic diseases. *Journal of Pathology J Pathol*, 238, 333–344. <https://doi.org/10.1002/path.4647>
- Lubahn DB, Joseph DR, Sullivan PM, Willard HF, French FS, Wilson EM. Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome. *Science*. 1988 Apr 15;240(4850):327-30. doi: 10.1126/science.3353727. PMID: 3353727.
- Luu-The V. Assessment of steroidogenesis and steroidogenic enzyme functions. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2013 Sep;137:176-82. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.05.017. Epub 2013 Jun 13. PMID: 23770321.
- Mandel, H., Shemer, R., Borochowitz, Z. U., Okopnik, M., Knopf, C., Indelman, M., Drugan, A., Tiosano, D., Gershoni-Baruch, R., Choder, M., & Sprecher, E. (n.d.). *ARTICLE SERKAL Syndrome: An Autosomal-Recessive Disorder Caused by a Loss-of-Function Mutation in WNT4*. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.08.005>
- Mansour, S., Hall, C. M., Pembrey, M. E., & Young, I. D. (1995). Original articles A clinical and genetic study of campomelic dysplasia. *J Med Genet*, 32, 415–420. <https://doi.org/10.1136/jmg.32.6.415>
- McDowall, S, Argentaro, A, Ranganathan, S, Weller, P, Mertin, S, Mansour, S,

- Tolmie, J & Harley, V 1999, 'Functional and structural studies of wild SOX9 and mutations causing campomelic dysplasia', *Journal of Biological Chemistry*, vol. 274, no. 34, pp. 24023-24030. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.34.24023>
- Meyer, K. F., Freitas Filho, L. G., Silva, K. I., Trauzcinsky, P. A., Reuter, C., & Souza, M. B. M. (2019). The XY female and SWYER syndrome. *Urology Case Reports*, 26. <https://doi.org/10.1016/j.eucr.2019.100939>
- Meyers-Wallen, V. N., Boyko, A. R., Danko, C. G., Grenier, J. K., Mezey, J. G., Hayward, J. J., Shannon, L. M., Gao, C., Shafquat, A., Rice, E. J., Pujar, S., Eggers, S., Ohnesorg, T., & Sinclair, A. H. (2017). XX Disorder of Sex Development is associated with an insertion on chromosome 9 and downregulation of RSPO1 in dogs (*Canis lupus familiaris*). *PLoS ONE*, 12(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186331>
- Michala L, Goswami D, Creighton SM, Conway GS. Swyer syndrome: presentation and outcomes. *BJOG*. 2008 May;115(6):737-41. doi: 10.1111/j.1471-0528.2008.01703.x. PMID: 18410658.
- Narasimhan, M. L., & Khattab, A. (2019). Genetics of congenital adrenal hyperplasia and genotype-phenotype correlation. *Fertility and Sterility*, 111(1), 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.11.007>
- New MI. An update of congenital adrenal hyperplasia. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Dec;1038:14-43. doi: 10.1196/annals.1315.009. PMID: 15838095.
- PHOENIX CH, GOY RW, GERALL AA, YOUNG WC. Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology*. 1959 Sep;65:369-82. doi: 10.1210/endo-65-3-369. PMID: 14432658.
- Raziel A, Friedler S, Gidoni Y, Ben Ami I, Strassburger D, Ron-EI R. Surrogate in vitro fertilization outcome in typical and atypical forms of Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome. *Hum Reprod*. 2012 Jan;27(1):126-30. doi: 10.1093/humrep/der356. Epub 2011 Nov 3. PMID: 22052385.
- Renu D, Rao BG, Ranganath K (February 2010). "Persistent mullerian duct syndrome". primary. *The Indian Journal of Radiology & Imaging*. 20 (1): 72–4. doi:10.4103/0971-3026.59761. PMC 2844757. PMID 20352001
- R.S. Swerdloff, C. Wang, S. Bhasin, 10 Developments in the control of testicular function, *Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism*, Volume 6, Issue 2, 1992, Pages 451-483, ISSN 0950-351X, <https://doi.org/10.1016/S0950->

351X(05)801582.(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0950351X05801582>)

- Sagi L, Zuckerman-Levin N, Gawlik A, Ghizzoni L, Buyukgebiz A, Rakover Y, Bistrizter T, Admoni O, Vottero A, Baruch O, Fares F, Malecka-Tendera E, Hochberg Z. Clinical significance of the parental origin of the X chromosome in turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Mar;92(3):846-52. doi: 10.1210/jc.2006-0158. Epub 2006 Dec 27. PMID: 17192299.
- Sartor O, Zheng Q, Eastham JA. Androgen receptor gene CAG repeat length varies in a race-specific fashion in men without prostate cancer. *Urology.* 1999 Feb;53(2):378-80. doi: 10.1016/s0090-4295(98)00481-6. PMID: 9933058.
- SHAFFER, L. G., SLOVAK, M. L., & CAMPBELL, L. J. (2009). *ISCN 2009: an international system for human cytogenetic nomenclature (2009) : recommendations of the International Standing Committee on human cytogenetic nomenclature.* Basel, Karger.
- Sharifi N, Auchus RJ. Steroid biosynthesis and prostate cancer. *Steroids.* 2012 Jun;77(7):719-26. doi: 10.1016/j.steroids.2012.03.015. Epub 2012 Apr 5. PMID: 22503713
- Skuse DH, James RS, Bishop DV, Coppin B, Dalton P, Aamodt-Leeper G, Bacarese-Hamilton M, Creswell C, McGurk R, Jacobs PA. Evidence from Turner's syndrome of an imprinted X-linked locus affecting cognitive function. *Nature.* 1997 Jun 12;387(6634):705-8. doi: 10.1038/42706. PMID: 9192895.
- Soronen P, Laiti M, Törn S, Härkönen P, Patrikainen L, Li Y, Pulkka A, Kurkela R, Herrala A, Kaija H, Isomaa V, Vihko P. Sex steroid hormone metabolism and prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004 Nov;92(4):281-6. doi: 10.1016/j.jsbmb.2004.10.004. Epub 2004 Dec 19. PMID: 15663991.
- Solari, A., Groisman, B., Bidondo, M. P., Cinca, C., & Alba, L. (2008). Complete androgen insensitivity syndrome: Diagnosis and clinical characteristics. *Archivos Argentinos de Pediatría, 106*(3). <https://doi.org/10.1590/S0325-00752008000300014>
- Sry, G., & Sry, P. (n.d.). *Pohlaví a genetika.*
- Swyer Syndrome* 5 7 14. (n.d.).
- Strübbe EH, Willemsen WN, Lemmens JA, Thijn CJ, Rolland R. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome: distinction between two forms based on excretory urographic, sonographic, and laparoscopic findings. *AJR Am J*

- Roentgenol. 1993 Feb;160(2):331-4. doi: 10.2214/ajr.160.2.8424345. PMID: 8424345.
- TROJAN, Stanislav. Lékařská fyziologie. Vyd. 4., přeprac. a dopl. Praha: Grada Publishing, 2003. ISBN 80-247-0512-5.
- Viger RS, Mertineit C, Trasler JM, Nemer M. Transcription factor GATA-4 is expressed in a sexually dimorphic pattern during mouse gonadal development and is a potent activator of the Müllerian inhibiting substance promoter. *Development*. 1998 Jul;125(14):2665-75. PMID: 9636081.
- Wärnmark A, Treuter E, Wright AP, Gustafsson JA. Activation functions 1 and 2 of nuclear receptors: molecular strategies for transcriptional activation. *Mol Endocrinol*. 2003 Oct;17(10):1901-9. doi: 10.1210/me.2002-0384. Epub 2003 Jul 31. PMID: 12893880.
- Wigby, K., D'Epagnier, C., Howell, S., Reicks, A., Wilson, R., Cordeiro, L., & Tartaglia, N. (2016). Expanding the phenotype of Triple X syndrome: A comparison of prenatal versus postnatal diagnosis. *American Journal of Medical Genetics, Part A*, 170(11), 2870–2881. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37688>
- Witchel SF. Nonclassics congenital adrenal hyperplasia. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012 Jun. 19(3):151-8.
- Zimmermann S, Schöttler P, Engel W, Adham IM. Mouse Leydig insulin-like (Ley I-L) gene: structure and expression during testis and ovary development. *Mol Reprod Dev*. 1997 May;47(1):30-8. doi: 10.1002/(SICI)1098-2795(199705)47:1<30::AID-MRD5>3.0.CO;2-R. PMID: 9110312.
- Zitzmann M, Nieschlag E. The CAG repeat polymorphism within the androgen receptor gene and maleness. *Int J Androl*. 2003 Apr;26(2):76-83. doi: 10.1046/j.1365-2605.2003.00393.x. PMID: 12641825.
- Zouboulis CC, Degitz K. Androgen action on human skin -- from basic research to clinical significance. *Exp Dermatol*. 2004;13 Suppl 4:5-10. doi: 10.1111/j.1600-0625.2004.00255.x. PMID: 15507105.
- Zuber MX, Simpson ER, Waterman MR. Expression of bovine 17 alpha-hydroxylase cytochrome P-450 cDNA in nonsteroidogenic (COS 1) cells. *Science*. 1986 Dec 5;234(4781):1258-61. doi: 10.1126/science.3535074. PMID: 3535074.

<https://www.aogdalton.com/womens-health/healthwise/?DOCHWID=zm2279>

<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Steroidogenesis.png>

<http://www.genetika-biologie.cz/poruchy-fertilizace>

<http://www.genetika-biologie.cz/pohlavni-hormony>

<https://www.modrykonik.cz/snazime-se/estrogen/>

<https://cs.wikipedia.org/wiki/Testosteron>