Varianten der Geschlechtsentwicklung/DSD – Update Genetik

Hintergrund

Varianten der Geschlechtsentwicklung („differences of sex development, DSD“) sind Zustände, bei denen das chromosomale, gonadale und/oder anatomische Geschlecht nicht typisch männlich/weiblich ausgebildet ist. Durch diese weite Definition reicht die Bandbreite von minimaler Hypospadie bis hin zu nicht zuordenbarem Genitale und ist dadurch das Auftreten insgesamt mit 1:300 nicht selten, wobei es sich dabei in 75 % um Hypospadien handelt. Ausgeprägte Zustände im Sinne von Interengeschlechtlichkeit sind mit 1:4500 selten. Die systematische Einteilung erfolgt in 46,XX-DSD (10–15 %), 46,XY-DSD (80 %) und chromosomale DSD (inklusive Turner- und Klinefelter-Syndrom) [1, 2].

Eine Vielzahl von Genen ist in die gonadale bzw. genitale Differenzierung involviert (Abb. 1; [3–5]). Bei 46,XX-DSD findet man in >90 % ein adrenogenitales Syndrom (AGS) durch 21-Hydroxylasedefekt. 46,XY-DSD, wo die genetische Aufklärungsrate bisher etwa bei einem Drittel liegt, können einerseits durch Gonadendysgenesien, andererseits durch Androgenbiosynthesedefekte (17- β -HDS-, 5- α -Reduktasemangel) oder Androgenwirkungsdefekte (komplette/partielle Androgeninsensitivität) hervorgerufen sein. Bei kompletten Gonadendysgenesien oder numerischen

Chromosomenanomalien kann ein unauffälliges äußeres Genitale vorliegen, sodass die Diagnose erst im Verlauf (z. B. Ausbleiben der Pubertät) gestellt wird.

Klinische Diagnostik

Neben der Schwangerschaftsanamnese (Hormonpräparate? Virilisierung der Mutter?) kann die Familienanamnese (DSD? Pubertätsstörungen? Infertilität? Konsanguinität?) aufschlussreich sein. Die Beurteilung des äußeren Genitales sollte systematisch erfolgen und das Vorhandensein palpabler Gonaden, die Ausprägung des Phallus inklusive Position des Meatus und den Grad der Fusion der Labioskrotalfalten umfassen. Die Einteilung der Virilisierung erfolgt nach Prader ([6]; v. a. bei 46,XX), bzw. dem „external masculinization score (EMS)“ [7]. Da ca. 25 % von DSD syndromal auftreten [8], ist eine weiterführende pädiatrische Abklärung wichtig (Z. n. Mangelgeburt? Dysmorphie? Herzfehler? Nieren-/ZNS-/skelettale Anomalien?).

17-Hydroxyprogesteron wird als Marker für ein adrenogenitales Syndrom (AGS) bereits im Neugeborenencreening mituntersucht. Neben Anti-Müller-Hormon (AMH) und Testosteron (T) werden abhängig vom Phänotyp weitere hormonelle Parameter mittels Immunoassay erhoben (z. B. LH, FSH, Androstendion, Dihydrotestosteron (DHT), Cortisol), ggf. ergänzt durch einen hCG-Test. Bei der Harnsteroidanalyse wird das Metabolom mittels Massenspektrometrie mit größerer Genauigkeit analysiert.

Bezüglich Bildgebung steht die Sonographie im Vordergrund. Als Alternative zu MRI bietet bei unklaren Befunden eine Laparoskopie den Vorteil der direkten Visualisierung wie auch die Möglichkeit einer Gonadenbiopsie [5, 9].

Genetische Diagnostik

Bei der spezifischen Fragestellung DSD dient eine genetische Untersuchung insbesondere den folgenden Zwecken:

1. Bei bekannten DSD-Genen kann der Verlauf besser abgeschätzt werden, insbesondere hinsichtlich primärer Geschlechtszuweisung, des möglichen Auftretens einer Virilisierung während der Pubertät (bei weiblicher Geschlechtszuordnung) oder des Fertilitätspotenzials.
2. Weiters können über das maligne Entartungspotenzial (ca. 30 % bei 46,XY-Gonadendysgenesie) abhängig vom Vorhandensein von Y-Material, dysgenetischen Veränderungen und Gonadenposition eine Aussage gemacht und entsprechende Überwachungsmaßnahmen (Gonadopexie; regelmäßig Ultraschall, Tumormarker; gegebenenfalls Biopsie vor/nach Pubertät) geplant werden.
3. Bei familiärem Auftreten (z. B. autosomal rezessiv) bzw. Nachweis der Veränderung beim gegengeschlechtlichen Elternteil (X-rezessiv; autosomal dominant) kann das Wiederholungspotenzial bei künftigen Schwangerschaften prognostiziert werden [2, 4].

Abb. 1 ▲ Genetische Regulation der Gonaden- und Genitalentwicklung im zeitlichen Ablauf während der Frühschwangerschaft. „Frühe“ Entwicklungsgene, z. B. *WT1*, spielen bereits im Rahmen der primären urogenitalen Differenzierung eine Rolle. Bei 46,XY triggert *SRY* die geschlechtsdimorphe Differenzierung ab Schwangerschaftswoche 6. Es folgt die Expression von *SOX9*, dem eine Schlüsselfunktion sowohl bei der Hodendifferenzierung als auch bei der Suppression „weiblicher“ Gene zukommt (z. B. *FOXL2*). *NR5A1* (*SF1*) wirkt als wesentlicher Kofaktor bei der Gonadendifferenzierung wie auch bei der AMH(Anti-Müller-Hormon)-Induktion und Steroidogenese. Die ovarielle Differenzierung bei 46,XX ist ebenfalls ein aktiv gesteuerter Prozess (*RSPO1*, *FOXL2*, *WNT4*, *FST*), durch welche Gene teils direkt, teils indirekt wiederum die *SOX9*-Expression antagonisiert wird. (Adaptiert nach [3, 4])

Chromosomenuntersuchung

Sie dient als orientierende Grundlage für die (vorläufige) Geschlechtszuordnung und als Basis für die weitere Diagnostik. Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) oder quantitative Fluoreszenz-Polymerasekettenreaktion (QF-PCR) können zum raschen Nachweis (1–2 Tage) von Y-Material bzw. Aneuploidien verwendet werden. Ein konventioneller Karyotyp erweitert das diagnostische Spektrum um strukturelle Anomalien, Translokationen und Mosaikzustände [2].

Array-comparative genomic hybridization (aCGH)

Bei ca. 25 % können zusätzliche Symptome im Sinne eines syndromalen DSD gefunden werden [8], die durch Verlust oder Zugewinn von kleineren genetischen Abschnitten verursacht sein können („copy number variants, CNV“). Mittels aCGH können solche Mikrodeletionen und -duplikationen <5 Mb aus peripherem Blut nachgewiesen werden, die Detektionsrate liegt bei ca. 20 % [10]. Daher wird die Methode zunehmend routinemäßig eingesetzt. Nachteile sind die fehlende Nachweisbarkeit von balancierten chromosomalen Rearrangements sowie die

zufällige Detektion von Varianten mit unklarer Signifikanz (VUS) [2].

Sanger-Sequenzierung

Bei 46,XX-DSD durch AGS wird nach biochemischer Diagnose (17-OHP-Screening) eine Sequenzierung des *CYP21A2*-Gens (21-Hydroxylase) durchgeführt. Während v. a. bei 46,XY-DSD früher schrittweise Einzelgenuntersuchungen, verbunden mit „multiplex ligation-dependent probe amplification“ (MLPA), je nach klinischem/hormonellem Phänotyp durchgeführt wurden, haben heutzutage viele genetische Labors sogenannte „Gen-Panels“ zur rascheren, kostengünstigeren Analyse

der häufigeren Gendefekte (*AR*, *NR5A1*, *SRY*, *SRD5A2*, *HSD17B3*) etabliert. Gen-Panels in Kombination mit MLPA und aCGH können die Diagnoserate in einem selektionierten Patientengut auf >50 % steigern [11].

Next generation sequencing (NGS)

Massively parallel sequencing mittels multiplex-PCR/capture hybridization mit DSD-Panel-Selektion („enrichment“)

Die >1000-fach höhere Amplifizierungsleistung der verwendeten Systeme erlaubt eine relativ rasche, gleichzeitige Analyse von >100 Genen, sodass große Panels von bekannten DSD-Genen deutlich effizienter als mit der herkömmlichen Sanger-Technik analysiert werden können. Die Diagnoserate von bis dahin unklaren 46,XY-DSD lag bei 40 % [12].

Massively parallel sequencing mittels whole exome sequencing (WES) oder whole genome sequencing (WGS) und bioinformatischer DSD-gezielter Analyse

Durch rasante technische Entwicklungen der Analysemaschinen und der bioinformatischen Verarbeitung nehmen NGS-Techniken wie WES zunehmend Einzug in die klinische Diagnostik, während WGS bisher im Forschungszusammenhang eingesetzt wird. Vorteil von WES/WGS ist, dass es nicht nur zur Analyse bekannter DSD-Gene (Aufklärungsrate 35 % in [13]), sondern auch von neuen ursächlichen Genen herangezogen werden kann. Nachteil von WES/WGS sind die teure Anschaffung und Etablierung insbesondere der bioinformatischen Infrastruktur [2]. Die Methode setzt ein multidisziplinäres Team mit Genetikern und erfahrenen Klinikern voraus, um die Signifikanz von entdeckten Varianten adäquat einzuschätzen. Regelungen betreffend das Informationsausmaß über anderweitige, miterfasste Veränderungen gegenüber Patienten müssen parallel etabliert und kontinuierlich weiterentwickelt werden. Auch wenn WGS das gesamte Genom abdeckt, ist die Methode bisher dadurch eingeschränkt, dass weite Teile

J. Klin. Endokrinol. Stoffw. 2018 · 11:64–67 <https://doi.org/10.1007/s41969-018-0032-9>
© Der/die Autor(en) 2018

S. Riedl

Varianten der Geschlechtsentwicklung/DSD – Update Genetik

Zusammenfassung

Varianten der Geschlechtsentwicklung („differences of sex development“, DSD) sind angeborene Zustände mit einem chromosomal, gonadal oder anatomisch untypischen Geschlecht. Sie werden nach zugrunde liegendem Karyotyp eingeteilt (46,XX-DSD; 46,XY-DSD; chromosomale DSD). Neben seltenen ausgeprägten intergeschlechtlichen Zuständen (1:4500) werden nach dieser Definition auch die relativ häufigen Hypospadien (1:300) sowie numerische Chromosomenvarianten (45,X; 47,XXY) dazugezählt. Die genetische Aufklärungsrate, insbesondere bei 46,XY-Varianten, liegt bisher bei etwa einem Drittel bei einer ständig wachsenden Zahl von neu entdeckten Genen, die in die gonadale bzw. genitale Differenzierung involviert sind. Nach der Ausgangsdiagnostik (klinischer Phänotyp,

Hormonstatus, konventioneller Karyotyp, Ultraschall) stehen je nach klinischem Verdacht eine Reihe weiterführender genetischer Untersuchungen zur Verfügung (Floureszenz-in-situ-Hybridisierung [FISH], array-Comparative Genomic Hybridization [aCGH], Sanger-Sequenzierung). „Next generation sequencing“ (NGS) mittels Gen-Panel-Selektion bzw. „whole exome sequencing“ (WES) potenziert die diagnostische Effizienz und ermöglicht neben der raschen gleichzeitigen Analyse bekannter Gene auch die Entdeckung neuer Gene der Geschlechtsdifferenzierung.

Schlüsselwörter

Varianten der Geschlechtsentwicklung · DSD-Genetik · Next generation sequencing · Whole exome sequencing

Differences of sex development—update on genetics

Abstract

Variations/differences of sex development (DSD) are congenital conditions in which development of chromosomal, gonadal or anatomical sex is atypical. They are classified according to the underlying karyotype (46,XX-DSD; 46,XY-DSD; chromosomal DSD). This definition comprises, apart from the rare distinct intersex conditions (1:4500), also conditions such as hypospadias, which are relatively frequent (1:300), as well as numeric chromosomal variants (45,X; 47,XXY). Genetic diagnosis is currently achieved only in approximately one third of patients, especially in 46,XY-DSD, accompanied by a steady increase of newly unveiled genes involved in gonadal/genital development. After initial evaluation (clinical phenotype, hormonal

pattern, karyotype, ultrasound) a number of additional genetic tests are applicable (fluorescence-in-situ hybridization [FISH], array-comparative genomic hybridization [aCGH], Sanger sequencing) according to suspected diagnosis. Next generation sequencing (NGS) using gene panel selection or whole exome sequencing (WES) potentiates the diagnostic yield, facilitating not only speedy simultaneous analysis of known genes but also discovery of new genes involved in DSD.

Keywords

Differences of sex development · DSD genetics · Next generation sequencing · Whole exome sequencing

der nichtkodierenden DNA-Regionen (noch) nicht interpretierbar sind. Das ENCODE-Projekt (Encyclopedia for DNA Elements) wird hier künftig zur sukzessiven Aufklärung beitragen [14].

Ausblick

Es ist davon auszugehen, dass die Rate an molekulargenetischen Diagnosen von DSD kontinuierlich steigen wird. Dies könnte dazu führen, dass in Zukunft

die genetische Diagnostik die bisherige klinische/hormonelle Ausgangsdiagnostik ablöst und spezifische biochemische Untersuchungen sekundär zur Prüfung der funktionellen Relevanz gefundener Veränderungen eingesetzt werden. Zum ultimativen Nutzen für den Patienten sind eine Standardisierung und Harmonisierung der komplexen Diagnostik durch multidisziplinäre Zusammenarbeit, übergreifende Patientenregister und Netzwerkbildung auf europäischer

Ebene (European Reference Networks, ERNs) erforderlich [15].

Fazit für die Praxis

- Der Nachweis genetischer Varianten bei DSD unterstützt die prognostische Einschätzung hinsichtlich Geschlechtszuweisung, Fertilität, Tumorrisiko und Erbllichkeit.
- „Next generation sequencing“ potenziert die diagnostische Effizienz und ermöglicht mittels „whole exome/genome sequencing“ (WES/WGS) die Entdeckung bisher unbekannter ursächlicher DSD-Gene.
- Die Komplexität von DSD erfordert eine Standardisierung/Harmonisierung der Diagnostik und des Managements, die nur durch multidisziplinäre Zusammenarbeit und Vernetzung von Expertisezentren gelingen kann.

Korrespondenzadresse

Dr. S. Riedl
St. Anna Kinderspital,
Medizinische Universität
Wien
Wien, Österreich
stefan.riedl@stanna.at
stefan.riedl@
meduniwien.ac.at

Dr. Stefan Riedl Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Universität Wien, Musikpädagogikstudium an der Hochschule für Musik und darstellende Kunst Wien, staatliche Lehrbefähigung; Facharzt für Kinder- und Jugendheilkunde, Facharzt für Pädiatrische Endokrinologie und Diabetologie (2003); Consultant für Paediatric Endocrinology & Diabetes am Princess Margaret Hospital in Perth/Australien (2005–7); Oberarzt und Leiter der endokrinologischen Ambulanz am St. Anna Kinderspital (2008); Leiter der Ambulanz für Varianten der Geschlechtsentwicklung an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Wien

Funding. Open access funding provided by Medical University of Vienna.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. S. Riedl gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine von den Autoren durchgeführten Studien an Menschen oder Tieren.

Open Access Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Literatur

1. Hughes IA, Houk C, Ahmed SF, Lee PA, Consensus Group Consensus Group (2006) Consensus statement on management of intersex disorders. *Arch Dis Child* 91:554–563
2. Alhomaidah D, McGowan R, Ahmed SF (2017) The current state of diagnostic genetics for conditions affecting sex development. *Clin Genet* 91:157–162
3. Ono M, Harley VR (2012) Disorders of sex development: new genes, new concepts. *Nat Rev Endocrinol* 9:79–91
4. Kyriakou A, Lucas-Herald AK, McGowan R, Tobias ES, Ahmed SF (2015) Disorders of sex development: advances in genetic diagnosis and challenges in management. *Adv Genomics Genet* 5:165–177
5. Rodriguez-Buritica D (2015) Overview of genetics of disorders of sexual development. *Curr Opin Pediatr* 27:675–684
6. 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. *Helv Paediatr Acta* 9:231–248
7. Ahmed SF, Khwaja O, Hughes IA (2000) The role of a clinical score in the assessment of ambiguous genitalia. *BJU Int* 85:120–124
8. Cox K, Bryce J, Jiang J, Rodie M, Sinnott R, Alkhawari M et al (2014) Novel associations in disorders of sex development: findings from the I-DSD Registry. *J Clin Endocrinol Metab* 99:E348–55
9. Ahmed SF, Achermann JC, Arlt W, Balen A, Conway G, Edwards Z et al (2016) Society for Endocrinology UK guidance on the initial evaluation of an infant or an adolescent with a suspected disorder of sex development (Revised 2015). *Clin Endocrinol (Oxf)* 84:771–788
10. Tannour-Louet M, Han S, Corbett ST, Louet JF, Yatsenko S, Meyers L et al (2010) Identification of de novo copy number variants associated with human disorders of sexual development. *PLoS ONE* 5:e15392
11. Laino L, Majore S, Preziosi N, Grammatico B, De Bernardo C, Scommegna S et al (2014) Disorders of sex development: a genetic study of patients in a multidisciplinary clinic. *Endocr Connect* 3:180–192
12. Arboleda VA, Vilaine E (2009) Disorders of sex development, In: Strauss JF, Barbieri RL (Hrsg) Yen & Jaffe's reproductive endocrinology, 6. Aufl. Elsevier Saunders, Philadelphia, S 367–393
13. Baxter RM, Arboleda VA, Lee H, Barseghyan H, Adam MP, Fechner PY et al (2015) Exome sequencing for the diagnosis of 46,XY disorders of sex development. *J Clin Endocrinol Metab* 100:E333–44
14. ENCODE Project Consortium (2012) An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 489:57–74
15. Ahmed SF, Bryce J, Hiort O (2014) International networks for supporting research and clinical care in the field of disorders of sex development. *Endocr Dev* 27:284–292

Hier steht eine Anzeige.