

Pojke eller flicka?

Molekylära mekanismer vid könsdifferentiering

Könskromosomavvikelser är sedan länge kända orsaker till störd könsutveckling. På senare år har ett växande antal enskilda gener identifierats som är ansvariga för störd könsutveckling på molekylär nivå. Därigenom förändras våra möjligheter att förstå och handlägga dessa tillstånd. I vissa fall har denna kunskap inneburit att DNA-diagnostik är tillgänglig.

Störd könsutveckling innefattar ett brett spektrum av tillstånd. De mest extrema avvikelserna medför allvarliga symtom såsom genitala missbildningar, ofta med tveksam könstillhörighet, eller utebliven pubertetsutveckling och sterilitet. Mindre allvarliga störningar kan innebära lindrigare genitala missbildningar, försenad eller för tidig pubertetsutveckling, eller nedsatt fertilitet i vuxen ålder. Orsakerna till störd könsutveckling är många. Ibland är kromosomavvikelser associerade, och i andra fall kan det röra sig om multifaktoriella tillstånd där även omgivningsfaktorer är av betydelse. Spekulationer om att den ökande incidensen av testikelcancer och eventuellt av hypospadi, reten-

tio testis och nedsatt spermie kvaliteten skulle bero på omgivningsfaktorer har fått stor uppmärksamhet [1].

På senare år har dock ett växande antal gener identifierats som är ansvariga för störd könsutveckling på molekylär nivå. Detta är på väg att förändra våra möjligheter att förstå och hantera dessa tillstånd. Denna artikel syftar till att ge en översikt över de molekylära mekanismer som i dagsläget är kända vid olika former av störd könsutveckling. I vissa fall har denna relativt nyvunna kunskap inneburit att DNA-diagnostik finns tillgänglig för motsvarande syndrom.

Normal könsutveckling

Människans normala könsdifferentiering illustreras schematiskt i Figur 1. Embryot är könsmissigt odifferentierat fram till femte till sjätte graviditetsveckan, och det normala embryot har potential att utvecklas antingen längs den manliga eller den kvinnliga utvecklingsvägen. De yttre könsorganen hos manliga och kvinnliga foster utvecklas från samma strukturer. Inre genitalia däremot utvecklas från två separata gångsystem som finns hos embryot tidigt i utvecklingen. De wolffska gångarna utvecklas till manliga inre genitalia, medan de müllerska gångarna utvecklas till kvinnliga inre könsorgan.

Det initiala könsbestämmande steget är uttryck av SRY-genen på Y-kromosomen; i närvaro av SRY (sex determinerande region on the Y chromosome) kommer den odifferentierade gonaden att utvecklas mot en testikel. För normal manlig könsutveckling måste testikeln producera åtminstone två faktorer: manligt könshormon (testosteron) från leydigcellerna som i vissa målorgan reduceras till den potenta androgenen dihydrotestosteron och antimüllerhormon (AMH) från sertolicellerna.

Testosteron stimulerar utvecklingen av manliga inre genitalier från de wolffska gångarna, medan dihydrotestosteron stimulerar tillväxten av de yttre genitalierna i manlig riktning. AMH orsakar regress av anlagen för kvinnliga inre genitalier, de müllerska gångarna. I frånvaro av SRY utvecklas i stället ett ovarium, förutsatt att fostret har två X-kromosomer. Inga kända faktorer behöver

produceras av ovariet under fosterutvecklingen för att normal utveckling av kvinnliga genitalier ska ske.

Ett stort antal kliniska tillstånd avspeglar störningar i denna utveckling. I denna artikel belyses bristande effekter av testosteron/dihydrotestosteron eller AMH som ger varierande grad av undermaskulinisering av manliga foster. Ökad produktion av testosteron ger i stället virilisering av kvinnliga foster där den enskilt vanligaste orsaken är adrenogenitalt syndrom (AGS).

FÖRKORTNINGAR

3 β -HSD	3 β -hydroxisteroid-dehydrogenas
17 β -HSD	17 β -hydroxisteroid-dehydrogenas
17OHP	17-hydroxiprogesteron
AGS	Adrenogenitalt syndrom
AHC	Adrenal hypoplasia congenita
AMH	Antimüllerhormon
AMH-R	Antimüllerhormon-receptorn
AR	Androgenreceptorn
DAX-1	DSS-AHC
	Critical region on the X chromosome, gene 1
DHEA	Dehydroepiandrosteron
DHT	Dihydrotestosteron
DSS	Dosage sensitive sex reversal
FSH	Follikelstimulerande hormon
LH	Luteotrop hormon
P450c11	11-hydroxylas
P450c17	17-hydroxylas
P450c21	21-hydroxylas
P450aldo	Aldosteronsyntetiserande isoform av 11-hydroxylas
P450aro	Aromatas
P450scc	Side-chain cleavage enzyme
PCR	Polymerase chain reaction
PMDS	Persistent Müllerian duct syndrome
SF-1	Steroidogenic factor 1
SOX9	SRY-type HMG-box, gene 9
SRY	Sex determining region on the Y chromosome
StAR	Steroidogenic Acute Regulatory protein
TDF	Testis determining factor
WT1	Wilms' tumörigen 1

Författare

ANNA WEDELL

docent, leg läk, forskarassistent vid Medicinska forskningsrådet, institutionen för molekylärmedicin, avd för klinisk genetik

E-post: Anna.Wedell@cmm.ki.se

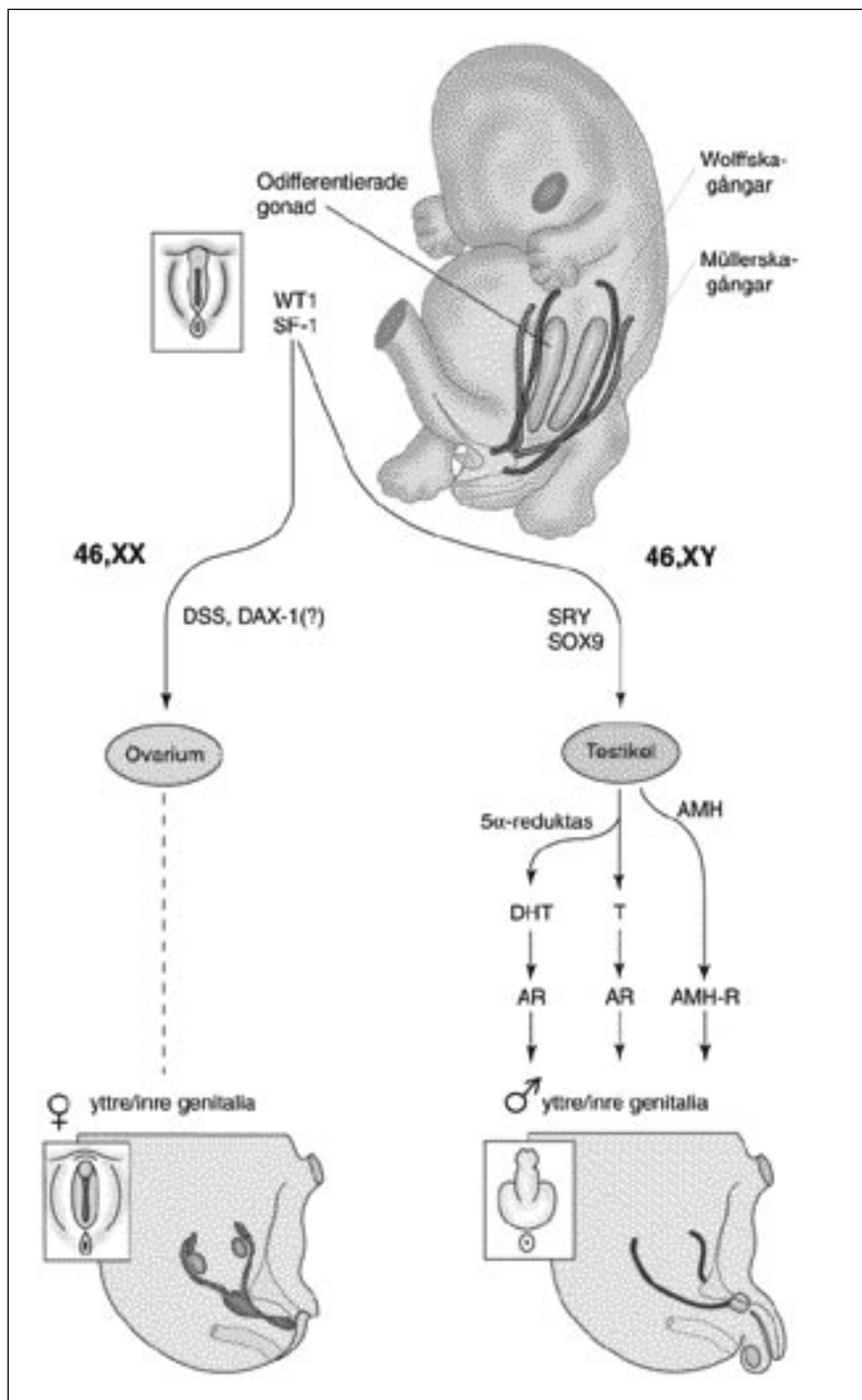
MARTIN RITZÉN

professor, överläkare, institutionen för kvinnors och barns hälsa, Astrid Lindgrens Barnsjukhus

AGNETA NORDENSKJÖLD

docent, biträdande överläkare, barnkirurg, institutionerna för molekylärmedicin och kvinnors och barns hälsa, Astrid Lindgrens Barnsjukhus, samtliga vid Karolinska sjukhuset, Stockholm.

E-post: agneta.nordenskjold@cmm.ki.se



Figur 1. Schematisk illustration av könsutvecklingen hos människa med ett antal nyckelfaktorer utritade. Defekt funktion av någon av dessa faktorer leder till könsutvecklingsrubbningar. För testikeln syntes av testosteron (T) och dihydrotestosteron (DHT) krävs dessutom ett antal steroidproducerande enzymer. Dessa är illustrerade i Figur 4. WT1-genen krävs för utveckling av den primitiva odifferentierade gonaden. Om två nyckelgener (SRY och SOX9) saknas eller inte fungerar kan inte den odifferentierade gonaden utvecklas till en testikel. I stället bildas bindvävsstråk eller ovarievävnad. Möjlig deltar en gen på X-kromosomen i ovarieutvecklingen (DAX-1 är en kandidat för denna gen). SRY och SOX9 driver gonadutvecklingen till en testikel, som i sin tur styr yttre och inre genitalier i manlig riktning genom att bilda testosteron och antimüllerhormon (AMH), det senare hormonet genom att tillbakabilda kvinnliga inre genitalier. En defekt verkan av androgener kan bero på en mutation i androgenreceptorn (AR), och i sin mest uttalade form resulterar detta i en till det yttre helt kvinnlig fenotyp, dock med avsaknad av inre genitalier. Testosteron måste reduceras till DHT för att yttre genitalier skall bli normalt manliga. Man kan säga att den kvinnliga utvecklingen utgör »default pathway» – det spår utvecklingen väljer i avsaknad av inflytande från testiklar. En programmering till manlig utveckling kräver tillägg av aktivt styrande faktorer.

Könskromosomavvikelser

Y-kromosomen är förknippad med manligt kön, och två X-kromosomer krävs för kvinnlig utveckling. Ett överskott av X-kromosomer hos pojkar förhindrar normal differentiering av testiklar, och en förlust av den ena X-kromosomen hos flickor hindrar utvecklingen av ovarier. Många könsutvecklingsrubbningar beror följaktligen på avvikande antal könskromosomer. De vanligaste sjukdomarna med könskromosomavvikelse är Turners syndrom (45,X, incidens ca 1/2 500 flickor), vilket leder till dysgenetiska gonader hos flickor, samt Klinefelters syndrom (47,XXY, incidens ca 1/600) som medför hypogo-

nadism hos män. Båda dessa syndrom innefattar också karakteristiska avvikelser i kroppsproportioner och längd, men är alltså inte förenade med missbildningar av de yttre könsorganen.

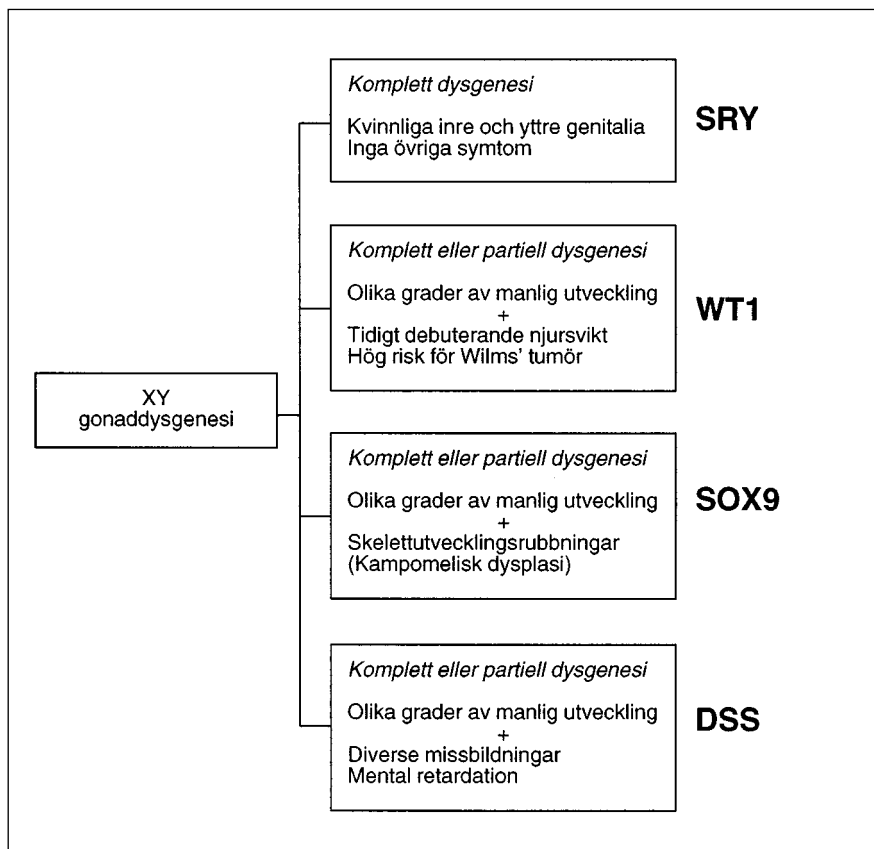
Ett brett spektrum av andra könskromosomavvikelser förekommer dock, med mycket varierande fenotyper. Individer med olika former av mosaikism där cellinjer med både manlig och kvinnlig könskromosomuppsättning ingår kan uppvisa en mycket varierande klinisk bild (t ex 47,XXY/46,XX eller 46,XY/45,X). Gemensamt för dem alla är att gonadernas utveckling drabbas. Beroende på proportionerna av X- respektive Y-celler utvecklas olika

mycket testikelvävnad, och därmed bildas olika mycket av de nödvändiga androgenerna och AMH, vilket innebär olika grader av manlig utveckling. Ett barn med denna typ av könskromosomavvikelse kan i sin fenotyp vara allt från en flicka till en normalutvecklad pojke. Kromosomanalys ingår därför i utredningen av alla patienter med störd könsutveckling. Det är viktigt att identifiera könskromosom-mosaikism, eftersom det medför en hög risk för tumörer i gonaderna.

Molekylära orsaker till störd könsutveckling

På senare år har ett växande antal en-

ANNONS



Figur 2. Olika former av XY-gonaddysgenesi där genetiska defekter identifierats. De olika faktorerna (fetstilta) beskrivs närmare i texten i rutorna.

sering (46,XY female). De har inte heller uppvisat några övriga symtom eller stigmata.

WT1, SOX9 och DSS. WT1-genen (Wilms' tumörigen 1) identifierades initialt på grund av sin roll som tumör-suppressorgen vid uppkomsten av nefroblastom (Wilms' tumör). Specifika mutationer i WT1 kan också ge upphov till andra urogenitala rubbningar såsom nefropati med njursvikt samt gonaddysgenesi, hos både XX- och XY-individer [3]. Denna gen kan således misstänkas vara skadad hos små barn med genitala missbildningar i kombination med tidigt debuterande njursvikt och Wilms' tumör (Drashs syndrom). Eftersom gonaddysgenesin inte ger symtom förrän vid tidpunkten för puberteten är det svårt att upptäcka Drashs syndrom i tid hos flickor. På grund av tumörrisken är det dock viktigt att ha denna diagnos i åtanke även hos flickor med tidigt debuterande njursvikt.

Kampomelisk dysplasi är en skelettutvecklingsrubbning som ofta förekommer i kombination med gonaddysgenesi hos XY-individer. Skelettanomaliteterna består bland annat i karakteristiskt böjda extremiteter, mest tydligt på underbenen, och gonaddysgenesin kan vara fullständig eller partiell. Tillståndet har visats bero på inaktiverande mutationer i en autosomal gen som är SRY-liknande och som kallas SOX9 (SRY-type HMG box 9) [4].

DSS (dosage sensitive sex-reversal region) är ett område på X-kromosomens korta arm som, om det är duplicerat, leder till bristande testikeldifferentiering [5]. De patienter som hittills beskrivits med duplicerad DSS har haft XY-gonaddysgenesi av varierande grad, med motsvarande varierande grad av bristande utveckling av manliga genitalier. Dessutom har multipla missbildningar och mental retardation förekommit samtidigt.

Äkta hermafroditism. Äkta hermafroditism innebär att både testikulär och ovariell vävnad förekommer hos en och samma individ. Beroende på hur mycket testikelvävnad som utvecklats kommer dessa individer att uppvisa olika grader av manlig utveckling. De har oftast en normal kvinnlig kromosomuppsättning (46,XX). Endast i undantagsfall påträffas könskromosomavvikelse som kan förklara tillståndet, såsom mosaikism där Y-kromosomlinjer ingår.

skilda faktorer som är ansvariga för störd könsutveckling identifierats. Ännu är det främst allvarliga defekter som har utretts på molekylär nivå, de som medför extrema störningar såsom paradoxal könsutveckling (XY-kvinnor eller XX-män) eller missbildade genitalier vid födseln. Beroende på var den underliggande defekten ligger kan man grovt dela in könsutvecklingsrubbningar i tre olika grupper: störd utveckling av gonaderna, bristande manlig utveckling trots differentierade testiklar samt virilisering eller avvikande pubertetsutveckling hos flickor.

Gonadutvecklingsrubbningar

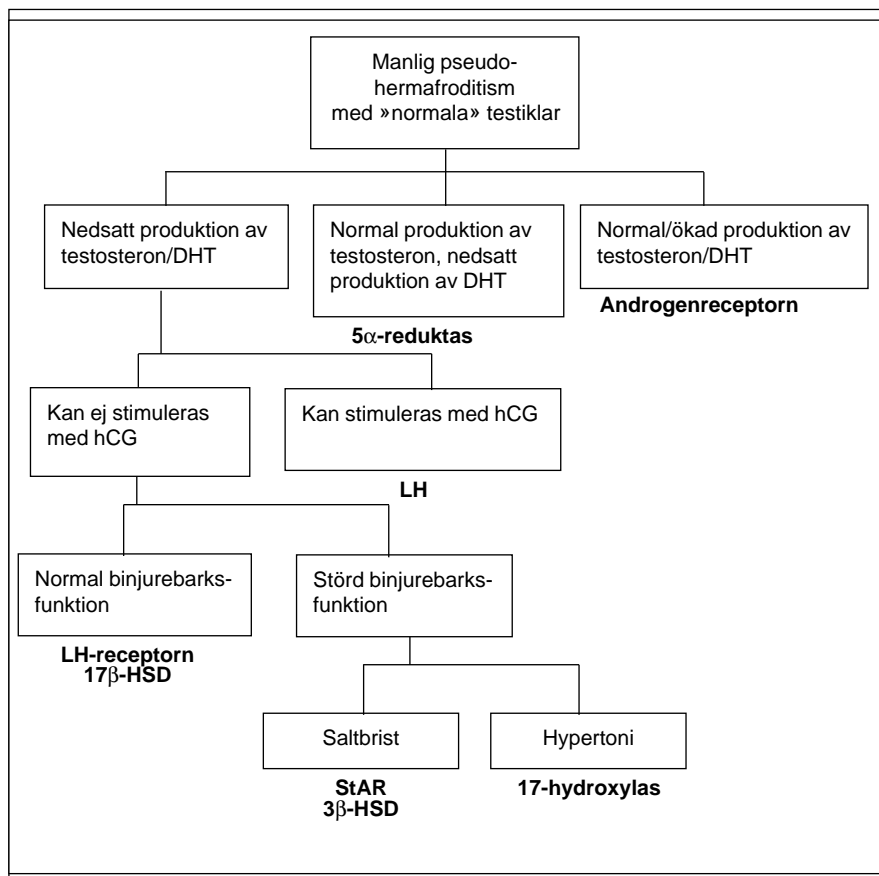
Förutom könskromosomrubbningar är ett litet antal faktorer kända som är nödvändiga för normal gonadutveckling. Hos ett XX-foster utan gonader sker organogenesis i övrigt normalt, och barnet föds med normala kvinnliga genitalier medan defekt utveckling av gonaderna i ett XY-foster kommer att leda till bristande maskulinisering, på grund av störd produktion av androgener och AMH (Figur 1). Ett XY-foster helt utan fungerande testiklar kommer att följa den kvinnliga utvecklingsvägen. Olika former av komplett XY- och XX-gonaddysgenesi diagnostiseras vanligen senare i livet, på grund av utebliven pubertetsutveckling hos flickor.

XY-gonaddysgenesi innebär att testikelvävnad inte utvecklas normalt, utan gonaderna består helt eller delvis av fi-

brösa bindvävsstråk. Vid partiell gonaddysgenesi är graden av maskulinisering mycket varierande, beroende på hur mycket testikelvävnad som förekommer. De olika molekylära mekanismer som hittills knutits till XY-gonaddysgenesi är illustrerade i Figur 2.

SRY. Genen för den faktor som är primärt ansvarig för differentieringen av den indifferent gonaden mot en testikel (testis determining factor, TDF) är lokaliserad på Y-kromosomens korta arm. Genom att analysera XX-män med små delar av Y-kromosomen translokerade till X-kromosomen och enstaka kvinnor med XY-gonaddysgenesi kunde ett litet område på Y-kromosomen ringas in och SRY-genen isoleras från detta område [2]. SRY har därefter visats vara antingen deleterad eller inaktiverad av mutationer i ca 15–20 procent av alla patienter med ren XY-gonaddysgenesi. Likaså har 80–90 procent av alla XX-män visats bära på SRY någonstans i genomet, vanligen på X-kromosomen. SRY är alltså genen för TDF, den initiala faktorn som sätter igång den kaskad av effekter som får den odifferentierade gonaden att börja utvecklas mot en testikel och som leder till manlig könsutveckling.

Alla patienter där SRY-defekter hittills har påträffats har haft fullständig gonaddysgenesi, med fibrotiska stråk (eller tumör) på platsen för gonaderna och fullständig avsaknad av maskulini-



Figur 3. Olika former av hormonellt betingad manlig pseudohermafraditism (med morfologiskt normala testiklar) där den underliggande molekyllära defekten är känd. Dessa är illustrerade med fet stil. I den kliniska utredningen bör ingå bedömning av förmågan till syntes av testosteron/DHT samt värdering av binjurebarksfunktionen för att den specifika defekten ska kunna ringas in.

Ännu har inte den bakomliggande gen-defekten kunnat påvisas.

Störd manlig könsutveckling

Ett flertal tillstånd medför bristande utveckling av manliga genitalier hos individer med testiklar, så kallad manlig pseudohermafraditism. De ansvariga faktorer som hittills är identifierade är alla inblandade i bildningen av eller svaret på testosteron/dihydrotestosteron. Figur 3 visar olika orsaker till manlig pseudohermafraditism där de underliggande molekyllära defekterna är kända. Som framgår av figuren bör en bedömning av förmågan till syntes av testosteron/dihydrotestosteron, gärna efter hCG-stimulering, samt bedömning av binjurebarksfunktionen ingå i utredningen av dessa patienter, för att den specifika defekten ska kunna ringas in.

LH/LH-receptorn. Leydigcellshypoplasi är ett autosomt recessivt nedärvt tillstånd med dåligt utvecklade leydigceller i testiklarna, vilket medför defekt produktion av testosteron/dihydrotestosteron, oftast i kombination med förhöjda LH-nivåer. I en del fall beror det på produktion av en muterad LH-

molekyl som är biologiskt inaktiv [6]. I andra familjer har tillståndet visats bero på inaktiverande mutationer i genen för LH-receptorn [7]. Dessa tillstånd kan särskiljas diagnostiskt med hCG-test då en ökad testosteronsyntes ses om det är LH-molekylen som är defekt. Testotokikos, som är en autosomt dominant nedärvd form av pubertas praecox hos pojkar, orsakas av aktiverande mutationer i LH-receptorn [8].

En annan form av pubertas praecox (McCune–Albrights syndrom) beror på somatiska mutationer i genen för ett stimulatoriskt G-protein som bland annat är associerat med LH-receptorn [9]. Mutationerna leder till en konstitutiv aktivering av proteinet, och pojkar och flickor med McCune–Albrights syndrom är mosaiker för dessa dominant mutationer. Symtomen är mycket varierande mellan olika patienter.

Gener för androgensyntes. Ett antal enzymatiska steg är nödvändiga i syntesen av testosteron/dihydrotestosteron. Bristande funktion av något av dessa enzymer kan ge bristande manlig utveckling trots närvaro av testiklar. Vid dessa tillstånd ger hCG-stimulering inte

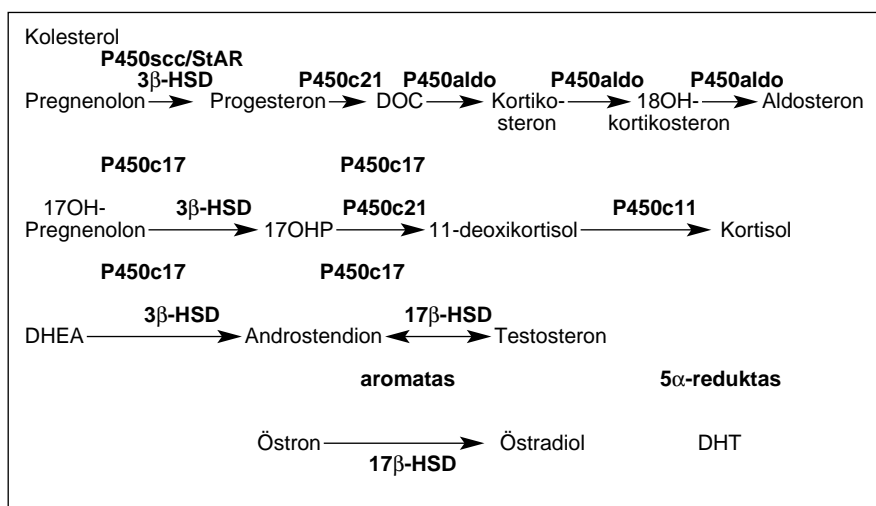
upphov till normal produktion av androgener, och det defekta enzymsteget kan ringas in genom mätning av de olika intermediärerna i testosteronsyntesen. En del av dessa enzymer är också inblandade i bildningen av kortisol och/eller aldosteron, och defekt funktion kommer därför samtidigt att leda till störningar i binjurebarkens steroid-syntes. Steroidsyntesen är illustrerad i Figur 4.

Det allra första enzymsteget i bildningen av alla klasser av steroidhormoner är side-chain-cleavage enzyme (P450_{scc}). Bristande funktion av detta enzym leder därför till defekt syntes av könshormoner i kombination med nedsatt produktion av kortisol och aldosteron med adrenogenitalt syndrom (AGS) som följd. Bristande funktion av detta enzym är ett mycket ovanligt, livshotande tillstånd, och de pojkar som hittills beskrivits har haft komplett avsaknad av maskulinisering med helt kvinnliga yttre genitalia. Man har aldrig kunnat påvisa mutationer i genen för P450_{scc}. Syndromet (lipoid adrenal hyperplasia) har istället visats bero på mutationer i ett associerat protein, Steroidogenic Acute Regulatory Protein, StAR [10]. Detta protein är ansvarigt för den initiala transporten av kolesterol över mitokondriemembranet, och defekter i dess gen medför att inga steroidhormoner kan bildas.

3β-HSD (3β-hydroxysteroiddehydrogenas) deltar i bildningen av alla grupper av steroidhormoner, inklusive binjurebarkssteroiderna, och medfödd 3β-HSD-brist leder därför till manlig pseudohermafraditism och binjurebarksvikt [11]. Pojkar med detta syndrom uppvisar olika grader av symptom beroende på enzymbristens grad. De svåraste formerna leder till en akut binjurebarksvikt under de första levnadsveckorna och kräver substitutionsbehandling. Åtminstone två olika gener kodar för två olika former av 3β-HSD varav typ 2 är den helt dominerande formen i binjurebark och gonader.

17-hydroxylas (P450_{c17}) är nödvändigt för syntesen av kortisol och könssteroider, men är inte inblandat i bildningen av aldosteron (Figur 4). Bristande funktion av 17-hydroxylas leder därför till kongenital binjurebarkshyperplasi och manlig pseudohermafraditism, oftast i kombination med hypertoni och hypokalemisk alkalos. Olika grader av bristande maskulinisering har rapporterats hos XY-individer med denna autosomt recessiva enzymrubning [12].

17β-hydroxysteroiddehydrogenas (17β-HSD) är ansvarigt för det sista steget i testosteronsyntesen. Brist på detta enzym är en autosomt recessivt nedärvd orsak till manlig pseudohermafraditism.



Figur 4. Schematisk illustration av steroidsyntesen i gonader och binjurebark. De olika enzymerna är illustrerade med fet stil. Testiklar och ovarier producerar olika proportioner av de manliga respektive kvinnliga könssteroiderna. Dihydrotestosteron bildas från testosteron i perifera vävnader.

ditism, med nedsatt produktion av både testosteron och dihydrotestosteron. De patienter som hittills beskrivits med 17β -HSD-brist har oftast haft en komplett kvinnlig fenotyp, men i vissa fall har lätt maskulinisering funnits. Dessutom är vanligen manliga inre genitalier utvecklade, vilket visar att en viss testostereffekt har förelegat under fostertiden. Liksom patienter med 5 α -reduktasbrist tenderar dessa patienter att viriliserar i puberteten. Åtminstone tre olika isoformer av 17β -HSD föreligger. Typ 3 är ansvarig för testiklarnas testosterosyntes, och mutationer i denna gen orsakar manlig pseudohermafroditism [13]. Det är sannolikt att förekomsten av de övriga isoformerna förklarar varför manliga inre genitalier kan utvecklas, och varför dessa patienter förmår producera ökade testosteronmängder i puberteten. 17β -HSD-brist kan alltså misstänkas hos manliga pseudohermafroditer med inre manliga genitalier, hög androstendion/testosteronkvot och tecken på virilisering i puberteten.

Androgenreceptorn. Androgenreceptorn är ett DNA-bindande protein som reglerar uttrycket av gener som är nödvändiga för normal manlig utveckling. Samma receptor binder testosteron och dess reducerade form dihydrotestosteron. Patienter med oförmåga att svara på androgener har därför defekt utveckling av både yttre och inre genitalier (wolffska gångarna), trots närvaro av normala testiklar och intakt produktion av dessa hormoner. Syntesen av AMH är också normal varför müllerska gångarna går i regress, och dessa patienter har därför varken manliga eller kvinnliga inre genitalier.

Androgenokänslighet är den enskilt vanligaste identifierade molekylära de-

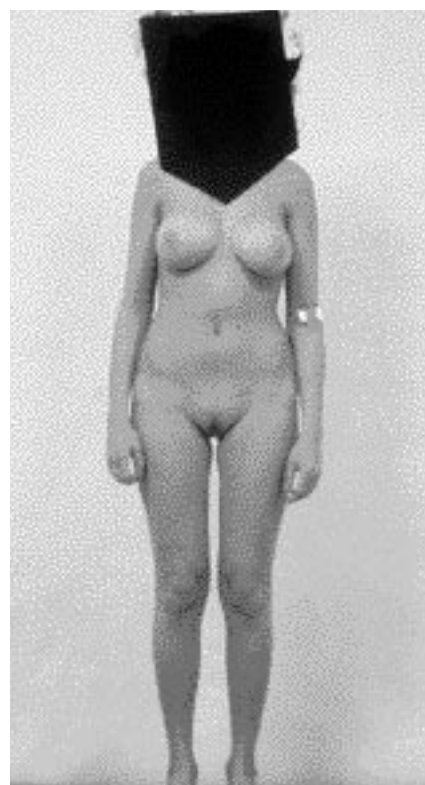
fekten vid manlig pseudohermafroditism. Syndromet förekommer i ett brett spektrum av svårighetsgrader, från fullständig okänslighet med helt kvinnlig fenotyp (Figur 5) till olika grader av ofullständig utveckling av de manliga könsorganen, såsom intersextillstånd eller pojkar med grav hypospadi och delad scrotum. Partiella former är uppenbara från födseln på grund av de genitala missbildningarna, medan fullständig androgenokänslighet oftast diagnostiseras senare i livet. Ibland finns testiklarna i ljumskarna hos dessa patienter, vilket kan leda till diagnosen under barndomen. I andra fall är testiklarna lokaliserade i buken, och patienterna diagnostiseras då ofta på grund av primär amenorré och avsaknad av könsbehåring, trots bröstutveckling och kvinnlig kroppsbyggnad. Man har länge spekulerat i huruvida mycket lindriga androgenreceptordefekter kan förekomma hos män med nedsatt spermieproduktion men utan genitala missbildningar.

Androgenresistens nedärvs X-bundet recessivt. Det innebär att man ofta får fram en »positiv» familjehistoria såsom infertila möstrar eller morbröder med avvikande genitalier. Närmare 400 olika mutationer har påträffats i androgenreceptorgen hos patienter med fullständig eller partiell androgenokänslighet [14]. Mutationsanalys av androgenreceptorgen utförs för att verifiera diagnosen androgenokänslighet när man står inför en nyfödd med avvikande genitalier och misstanke på detta syndrom föreligger. Vissa mutationer med partiellt inaktiverande effekt har visats få normal funktion in vitro efter stimulering med suprafysiologiska koncentrationer av androgener. Detta kan öppna möjligheter för att identifie-

ra patienter för individualiserad behandling i framtiden.

5 α -reduktas. För bildning av yttre genitalier reduceras testosteron av 5 α -reduktas till den mer potenta androgenen dihydrotestosteron i perifera målorgan (penis, scrotum och prostata, Figur 1). Brist på 5 α -reduktas leder följaktligen till bristande utveckling av yttre genitalier och prostata trots närvaro av övriga manliga inre genitalier. Patienter med 5 α -reduktasbrist har en patologiskt hög testosteron/dihydrotestosteronkvot, något som blir tydligast efter hCG-stimulering. Patienter med denna enzymrubbning tenderar också att viriliserar i puberteten. Liksom de flesta enzymrubbningar nedärvs 5 α -reduktasbrist autosomt recessivt.

Åtminstone två isoformer av 5 α -reduktas förekommer, och mutationer i den ena (typ 2) ger manlig pseudohermafroditism [15]. Det är sannolikt förekomsten av den andra isoformen som är orsaken till att dessa patienter tenderar att viriliserar i puberteten. Många likheter finns alltså mellan patienter med 17β -HSD-brist och 5 α -reduktasbrist.



Figur 5. Patient med kromosomuppsättningen 46,XY och en allvarlig androgenreceptordefekt, orsakande komplett androgenokänslighet, dvs fullständig utebliven utveckling av manliga genitalier. Patienter med fullständig androgenokänslighet utvecklas till det yttre som normala kvinnor, bortsett från avsaknad av sekundär könsbehåring. Dessa patienter saknar inre genitalier.

ANNONS



Figur 6. Nyfödd flicka (46,XX) med en svår form av adrenogenitalt syndrom till följd av 21-hydroxylasbrist orsakande kraftig virilisering på grund av överskottet av binjurebarksandrogener. Klitoris är hypertrofierad och de yttre blygdläpparna är sammanlödda i medellinjen till en scrotumliknande struktur. En bild som denna kan vara svår att skilja från den hos en pojke med bristande maskulinisering.

Kandidater för 5 α -reduktasbrist är alltså manliga pseudohermafrodititer med manliga inre genitalier, hög testosteron/dihydrotestosteronkvot i blod och tecken på virilisering i puberteten.

AMH/AMH-receptorn. Persistent Müllerian duct syndrome, PMDS, innebär närvaro av kvinnliga inre genitalier hos en i övrigt normalt viriliserad pojke. Tillståndet är ovanligt och debuterar ofta i form av ett vanligt ljumskbråck, oftast i kombination med retentio testis uni- eller bilateralt. Vid operation påträffas kvinnliga inre genitalier (uterus och tubor) i buken. Eftersom uterus ibland påträffas direkt i bråcksäcken kallas tillståndet också hernia uteri. Syndromet beror antingen på mutationer i genen för AMH [16] eller AMH-receptorn [17].

Störd kvinnlig könsutveckling

Utveckling av genitalier i manlig riktning hos en individ med ovarier, kvinnlig pseudohermafroditism, uppkommer vid exponering av det kvinnliga fostret för androgener. Den i särklass vanligaste orsaken till detta är kongenital binjurebarkshyperplasi eller adrenogenitalt syndrom (AGS). AGS är ett samlingsnamn för en grupp syndrom där binjurebarkens kortisol syntes är defekt. Några av de enzymbrister som kan ge adrenogenitalt syndrom medför över-

produktion av binjurebarksandrogener (Figur 4).

21-hydroxylas (P450c21). Av alla ärftliga störningar i binjurebarkens steroid syntes beror mer än 95 procent på defekter i enzymet 21-hydroxylas. Denna enzymbrist är också den enskilt vanligaste orsaken till avvikande genitalier hos nyfödda. Enzymet 21-hydroxylas är nödvändigt för bildningen av kortisol och aldosteron i binjurebarken. Minskad produktion av kortisol vid 21-hydroxylasbrist leder till ökad sekretion av ACTH från hypofysen, vilket i sin tur orsakar hyperplasi av binjurebarken och överproduktion av kortisolförstadierna. Dessa förstadierna till kortisol kommer att shuntas över till androgensyntesen. Symtomen på 21-hydroxylasbrist beror därför på en kombination av brist på kortisol och aldosteron samt överproduktion av binjurebarksandrogener. Sjukdomen förekommer med ett brett spektrum av svårighetsgrader, från livshotande former till lindriga varianter med lätt hyperandrogenism orsakande menstruationsrubbingar och infertilitet hos vuxna kvinnor. Tillståndet har beskrivits i en översiktsartikel i Läkartidningen [18]. Figur 6 visar ett exempel på en viriliserad flicka med en svår form av adrenogenitalt syndrom.

Genetiken bakom 21-hydroxylasbrist är mycket väl utredd, och i Sverige genomförs mutationsanalys för de allra flesta patienterna med detta tillstånd. På detta sätt kan man både bekräfta diagnosen och förutsäga sjukdomsutvecklingen, eftersom olika mutationer ger olika allvarliga symtom. Detta är mycket väsentligt då de flesta barn med denna sjukdom numera diagnostiseras genom neonatal screening innan symtom hunnit uppstå. Om första barnet i en familj är en pojke är mutationsanalys det enda sättet att säkert bedöma risken för prenatal virilisering av en flicka i händelse av en ny graviditet. Flickor med de svåraste formerna av 21-hydroxylasbrist kan behandlas redan in utero, genom dexametasonmedicinering av modern, för att förhindra uppkomsten av de viriliserande missbildningarna [18, 19].

En svensk prospektiv studie för att utvärdera effekterna och säkerheten av denna behandling planeras för närvarande. Mutationsanalys innebär också att man kan identifiera patienter med milda former av sjukdomen, som inte riskerar saltbrist. Därmed kan man undvika överbehandling av dessa individer.

Andra orsaker till virilisering. I likhet med 21-hydroxylasbrist medför 11-hydroxylasbrist minskad bildning av kortisol samt överproduktion av androgener, adrenogenitalt syndrom med viriliserande missbildningar hos flick-

or. Syntesen av steroider med mineral-kortikoid verkan är vid 11-hydroxylasbrist förhöjd, och dessa barn får ibland hypertoni. Det bästa sättet att kliniskt ringa in denna enzymbrist är att studera steroidutsöndringsmönstret i urin.

Som tidigare beskrivits leder bristande funktion av 3 β -HSD till bristande utveckling av alla klasser av steroidhormoner, med binjurebarkssvikt och manlig pseudohermafroditism som följd. Hos drabbade flickor är yttre genitalier oftast normala, men de kan vara lätt viriliserade. Detta anses bero på överproduktion av den svaga androgenen DHEA från binjurebarken (Figur 4).

Som framgår av Figur 4 är aromatase (P450aro) nödvändigt för omvandling av androgener till östrogener. Den fetala binjuren producerar stora mängder androgener, som normalt omvandlas (aromatiseras) till östrogener i placenta. En bristande aromatasefunktion leder därför till förhöjda androgennivåer hos både fostret och mamman med åtföljande virilisering. När den fetala binjurebarken tillbakabildas efter födelsen avstannar viriliseringen fram till puberteten, då ovarierna börjar producera androgener i stället för östrogener. Aromatasbrist är ett mycket ovanligt tillstånd som medför utebliven kvinnlig pubertetsutveckling samt fördröjd skelettmognad och osteoporos hos båda könen.

Störd pubertetsutveckling. Bristande effekt av kvinnliga könssteroider hos flickor kommer inte att bli uppenbar förrän vid tidpunkten för puberteten. Samma grad av rubbing som ger allvarliga missbildningar hos pojkar kan alltså föreligga hos en liten flicka, utan att det ger upphov till några som helst symtom. Liksom vid övriga former av könsutvecklingsrubbingar är kromosomanalys obligatorisk vid utredningen av primär amenorré och utebliven pubertetsutveckling hos flickor, i de fall då man inte kan förklara tillståndet med familjära, konstitutionella faktorer. Detta främst för att utesluta Turners syndrom, och för att försäkra sig om att det inte rör sig om en XY-individ med fullständigt utebliven maskulinisering, såsom vid XY-gonaddysgenesi eller komplett androgenokänslighet. Litet är ännu känt om de faktorer som styr ovariedifferencieringen hos XX-individer, men mutationer i några gener har kunnat knytas till ofullständig utveckling av ovarier.

FSH och FSH-receptorn. En autosomalt recessivt nedärvd form av ovariedysgenesi hos XX-individer utan andra symtom förekommer med relativt hög incidens i Finland (1/8 300 kvinnor). Detta tillstånd har visats bero på mutationer i genen för receptorn för det follikelstimulerande hormonet,

FSH-receptorn [20]. Flickor med homozygota mutationer i denna gen har dåligt utvecklade ovarier, vilket yttrar sig som utebliven pubertetsutveckling och primär amenorré. Brist på aktivt FSH till följd av homozygota mutationer i genen för FSH β kan också orsaka primär amenorré [21].

Steroidsyntesdefekter. Fullständigt upphävd funktion av de enzymer som samtidigt deltar i bildningen av binjurebarkssteroiderna ger sig i regel till känna i form av störd binjurebarksfunktion innan bristen på kvinnliga könshormoner blir uppenbar. Ett undantag utgör 17-hydroxylasbrist, som hos ett litet antal flickor visats orsaka primär amenorré och utebliven pubertetsutveckling, ofta i kombination med hypertoni. Defekt aromatisering av androgener till östrogener medför kvinnlig pseudohermafroditism, och diagnostiseras därför också i regel tidigt i livet.

Sammanfattning

Ett växande antal faktorer med nyckelroller för könsutvecklingen har identifierats, och ett flertal kliniska tillstånd har fått sin förklaring genom att mutationer i motsvarande gener identifierats. Detta har i en del fall inneburit att DNA-diagnostik etablerats och kan vara till hjälp i utredningen av denna typ av patienter. Ännu är det främst allvarliga rubbningar som fått sin förklaring, genom att svåra mutationer identifierats i dessa nyckelgener för könsutvecklingen. I vilken utsträckning mildare skador i dessa gener ligger till grund för mer subtila könsutvecklingsrubbningar, såsom störd pubertetsutveckling och nedsatt fertilitet, är med några få undantag okänt. Vi känner ännu bara till en bråkdel av den information som ligger förborgad i vår arvs massa. Utvecklingen går dock mycket snabbt, och det är sannolikt att molekylära analyser i framtiden kommer att ingå alltmer i utredningen av patienter med allehanda rubbningar i könsutvecklingen.

Referenser

1. Sharpe RM, Skakkebaek NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet* 1993; 341: 1392-5.
2. Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, Hawkins JR, Griffiths BL, Smith MJ et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 1990; 346: 240-4.
3. Little M, Wells C. A clinical overview of WT1 gene mutations. *Hum Mutat* 1997; 9: 209-25.
4. Foster JW, Dominguez-Steglich MA, Guioli S, Kwok C, Weller PA, Stevanovic M et al. Campomelic dysplasia and autosomal sex reversal caused by mutations in an SRY-related gene. *Nature* 1994; 372: 525-30.

5. Bardoni B, Zanaria E, Guioli S, Florida G, Worley KC, Tonini G et al. A dosage sensitive locus at chromosome Xp21 is involved in male to female sex reversal. *Nat Genet* 1994; 7: 497-501.
6. Axelrod L, Neer R, Kliman B. Hypogonadism in a male with immunologically active, biologically inactive luteinizing hormone: an exception to a venerable rule. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 48: 279-87.
7. Kremer H, Kraaij R, Toledo SPA, Post M, Fridman JB, Hayashida CY et al. Male pseudohermaphroditism due to a homozygous missense mutation of the luteinizing hormone receptor gene. *Nat Genet* 1995; 9: 160-4.
8. Shenker A, Laue L, Kosugi S, Merendino JJJ, Minegishi T, Cutler GBJ. A constitutively activating mutation of the luteinizing hormone receptor in familial male precocious puberty. *Nature* 1993; 365: 652-4.
9. Weinstein LS, Shenker A, Gejman PV, Merino MJ, Friedman E, Spiegel AM. Activating mutations of the stimulatory G protein in the McCune-Albright syndrome. *N Engl J Med* 1991; 325: 1688-95.
10. Lin D, Sugawara T, Strauss JF 3rd, Clark BJ, Stocco DM, Saenger P et al. Role of steroidogenic acute regulatory protein in adrenal and gonadal steroidogenesis. *Science* 1995; 267: 1828-31.
11. Rhéaume E, Simard J, Morel Y, Mebarki F, Zachmann M, Forest MG et al. Congenital adrenal hyperplasia due to point mutations in the type II 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase gene. *Nat Genet* 1992; 1: 239-45.
12. Kagimoto M, Winter JSD, Kagimoto K, Simpson ER, Waterman MR. Structural characterization of normal and mutant human steroid 17-alpha-hydroxylase genes: Molecular basis of one example of combined 17-alpha-hydroxylase/17,20 lyase deficiency. *Mol Endocrinol* 1988; 2: 564-70.
13. Geissler WM, Davis DL, Wu L, Bradshaw KD, Patel S, Mendonca BB et al. Male pseudohermaphroditism caused by mutations of testicular 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase 3. *Nat Genet* 1994; 7: 34-9.
14. AR mutation database: <http://www.mcgill.ca/androgendb/>
15. Wilson JD, Griffin JE, Russel DW. Steroid 5 α -reductase 2 deficiency. *Endocr Rev* 1993; 14: 577-93.
16. Imbeaud S, Carré-Eusèbe D, Rey R, Belleville C, Josso N, Picard J-Y. Molecular genetics of the persistent müllerian duct syndrome: a study of 19 families. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 125-31.
17. Imbeaud S, Faure E, Lamarre I, Mattéi M-G, di Clemente N, Tizard R et al. Insensitivity to anti-müllerian hormone due to a mutation in the human anti-müllerian hormone receptor. *Nat Genet* 1995; 11: 382-8.
18. Lajic S, Bui T-H, Holst M, Ritzén M, Wedell A. Prenatal diagnostik och behandling av adrenogenitalt syndrom förhindrar virilisering av flickfoster. *Läkartidningen* 1997; 94: 4781-6.
19. Forest MG, Betuel H, David M. Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: Update 88 of the french multicentric study. *Endocr Res* 1989; 15: 277-301.
20. Aittomäki K, Lucena JLD, Pakarinen P, Sistonen P, Tapanainen J, Gromoll J et al. Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell* 1995; 82: 959-68.
21. Matthews CH, Borgato S, Beck-Peccoz P, Adams M, Tone Y, Gambino G et al. Primary amenorrhea and infertility due to a mutation in the beta-subunit of follicle-stimulating hormone. *Nat Genet* 1993; 5: 83-6.

Summary

Boy or girl? Molecular mechanisms in sexual development

Anna Wedell, Martin Ritzén, Agneta Nordenskjöld

Läkartidningen 2000; 97: 449-57.

A growing number of factors have been recognized as crucial in sexual development, and many clinical conditions have become understandable as mutations in relevant genes have been identified. In some cases this has led to the development of DNA diagnostics, which can be of some aid in the workup of this type of patient. So far it is mainly more serious disorders which have been elucidated, thanks to the identification of extensive mutations in the key genes for sexual development. Exactly to what extent less severe damage in these genes underlies more subtle disorders of sexual development, such as disturbances in pubertal development and diminished fertility, is with few exceptions unknown. We are still aware of only a fraction of the information hidden in our genetic heritage. Developments in this field are nonetheless rapid, and molecular analyses will probably become more and more part and parcel of the workup of patients with a wide variety of disturbances in sexual development.

Correspondence: Agneta Nordenskjöld, Center for Molecular Medicine, L8:02, Karolinska sjukhuset, SE-171 76 Stockholm, Sweden.

E-mail: agneta.nordenskjold@cmm.ki.se