

Нарушение дифференцировки гонад: дисгенезия и овотестикулярное нарушение формирования пола

Проф. Д.А. МОРОЗОВ^{2,3}, к.м.н. Н.Ю. РАЙГОРОДСКАЯ^{1*}, проф. Н.В. БОЛОТОВА¹,
к.м.н. Е.С. ПИМЕНОВА^{2,3}, проф. Г.Н. МАСЛЯКОВА¹, Е.Н. ЦМОКАЛЮК¹

¹ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России; ²ФГБУ «Научный центр здоровья детей РАН НИИ детской хирургии»; ³ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Цель работы — дифференциальная диагностика между овотестис и дисгенетичной гонадой, выбор пола и хирургической тактики в отношении половых желез. Диагностика нарушения дифференцировки гонад требует морфологической верификации. Овотестикулярная гонада характеризуется наличием зрелой овариальной ткани и дисгенетичного тестикулярного компонента. Описана хирургическая сепарация овотестис с сохранением отсеков, представленных зрелой овариальной тканью. Наличие незрелых овариальных элементов в составе тестикулярной гонады является одним из признаков ее дисгенезии. В этих случаях необходимо хирургическое удаление дисгенетичных гонад.

Ключевые слова: овотестис, дисгенезия гонад, сепарация гонады, мозаицизм по половым хромосомам.

The disturbed gonadal differentiation: dysgenesis and ovotesticular disorder of sex formation

D.A. MOROZOV^{2,3}, N.YU. RAYGORODSKAYA^{1*}, N.V. BOLOTOVA¹, E.S. PIMENOVA^{2,3}, G.N. MASLYAKOVA¹,
E.N. TSMOKALYUK¹

¹V.I. Razumovsky Saratov State Medical University», Saratov; ²Research Centre of Children's Health; ³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

The objective of the present study was differential diagnostics between ovotestis and gonadal dysgenesis, the choice of the gender and the surgical strategy for the treatment of abnormal sexual glands. Diagnostics of the disturbances of gonadal differentiation (DGD) requires morphological verification. The ovotesticular gonad is characterized by the presence of a mature ovarian tissue and a dysgenetic testicular component. The authors describe the surgical separation of the ovotestis with preservation of the segments represented by the mature ovarian tissue. The presence of immature ovarian elements in the testicular gonad is one of the signs of its dysgenesis. Such cases need to be treated by the surgical removal of dysgenetic gonads.

Key words: ovotestis, gonadal dysgenesis, separation of gonads, sex chromosome mosaicism.

Овотестикулярное нарушение формирования пола (ОТНФП) является редким вариантом патологической дифференцировки гонад; на его долю приходится не более 10% всех нарушений формирования пола [1]. Около 30% двойственных гонад ассоциированы с мозаицизмом по половым хромосомам, около 60% имеют кариотип 46,XX. В единичных работах описаны моногенные случаи овотестис у пациентов с кариотипом 46,XY [2, 3]. Диагностика ОТНФП требует морфологического исследования гонады, подтверждающего наличие овариальных фолликулов и тестикулярных канальцев в составе одной или обеих половых желез [1, 4, 5]. Согласно современным международным рекомендациям, основанием для выбора пола и хирургической тактики лечения пациентов являются возможность пубертата, сексуальной функции и фертильности [7]. Операцией выбора является частичная резекция овотестис на основании интраоперационного гистологического исследования, сохранение половых желез, соответствующих полу воспитания, и удаление не-

дифференцированных частей гонады [5]. Однако часто прибегают к гонадэктомии, что обосновано высоким риском малигнизации овотестикулярных гонад. Злокачественные опухоли гонад (дисгерминомы, семиномы, гонадобластомы) обнаруживают у 2,6% пациентов с ОТНФП [8–10]. Выбор лечебной тактики у пациентов с ОТНФП требует обсуждения. Мы приводим описание случаев и лечения 4 пациентов с различными генетическими и морфологическими вариантами ОТНФП. Во всех случаях поводом для гистологического подтверждения диагноза было обнаружение неоднородной гонады в проекции одного или обоих яичников.

Материал и методы

Кариотипирование и FISH-анализ интерфазных клеточных ядер в препаратах культуры лимфоцитов периферической крови с использованием ДНК-зондов на центромерные районы хромосом X (DXZ1) и Y (DYZ1 или DYZ3) выполнялись на базе

областной медико-генетической лаборатории Саратова и Медико-генетического научного центра РАМН (Москва). Молекулярный анализ Y хромосомы проводился в лаборатории ДНК-диагностики Медико-генетического научного центра РАМН (зав. — д.б.н., проф. А.В. Поляков).

Эхографию мошонки, паховых областей и органов малого таза выполняли с помощью аппарата Siemens SONOLANE G 40. С целью визуализации и определения макроскопической структуры гонад проводилась лапароскопия. Всем пациентам проведено морфологическое исследование интраоперационного материала либо биоптата ткани гонад. Гормональное исследование включало определение содержания гонадотропинов и тестостерона в сыворотке методом твердофазного иммуноферментного анализа и проведение 3-дневной диагностической пробы с хорионическим гонадотропином (5000 ед на 1 м² площади поверхности тела ребенка). Проба считалась положительной при уровне тестостерона выше 3,5 нмоль/л.

Описание клинических случаев

Поводом для обращения пациентов в клинику во всех случаях было неправильное строение наружных половых органов. Цель обследования — верификация морфологического диагноза, определение оптимального пола воспитания ребенка, выбор хирургической тактики гонад.

1. Пациент С., 3,5 года. При рождении имел неправильное строение наружных половых органов, гонады не пальпировались.

В родильном доме проведено исследование крови на 17-гидроксипрогестерон — 15 нмоль/л, электролиты — в пределах нормы, на основании чего исключена врожденная дисфункция коры надпочечников, обусловленная дефицитом 21-гидроксилазы. Ребенок зарегистрирован в мужском паспортном поле. Впервые родители обратились в возрасте ребенка 3,5 года с жалобами на отсутствие яичек в мошонке, малые размеры полового члена. При осмотре: рост — 93 см (SDS —1,46); масса тела — 14 кг, (SDS ИМТ 0,49). Наружные половые органы имели двойственное строение, гонады при пальпации не определялись. Клиторофаллос с головкой и хорошо развитыми кавернозными телами соответствовал III степени вирилизации по Прадеру. Лабиоскrotальные складки расщеплены, умеренно пигментированы, отверстие уретры на промежности. Базальные уровни 17-гидроксипрогестерона, тестостерона и эстрадиола соответствовали норме. При стандартной 3-дневной пробе с хориогонином уровень тестостерона возрастал до 5,7 нмоль/л. При эхографии полости малого таза визуализирована матка размером 20×9×12 мм с полостью диаметром 1 мм. Справа и слева от матки визуализированы гонады размером 20×12×14 мм с анэхогенными структурами, со-

ответствующими фолликулярному аппарату яичника. Выявлен мозаицизм по половым хромосомам 46,XX (89%)/47,XX,mar(11%) с присутствием нерегулярной маркерной хромосомы. В результате FISH-диагностики было установлено, что маркерная хромосома представляет собой изохромосому Y по короткому плечу (isoYp), присутствующую в 11% исследованных ядер.

При лапароскопии в полости малого таза визуализирована матка размером 6×4 см. В составе маточных труб с обеих сторон располагались гонады 1,5×1 см, состоящие из отсеков различной по структуре ткани, визуально соответствующие овотестис. Правая гонада состояла из двух частей, левая — из трех. Для подтверждения овотестикулярного строения гонады и определения тактики хирургического лечения выполнена биопсия различных по структуре частей правой гонады. В препарате одной из частей среди фиброзной ткани неравномерно располагались каналы с элементами атрофии. В просвете канальцев — недифференцированные клетки. Гистологическая структура соответствовала дисгенетичной тестикулярной ткани (**рис. 1 на цв. вклейке**). Другая часть гонады была представлена тканью яичника, имелась четкая граница между корковым и мозговым веществом. В корковом веществе обнаружены примордиальные фолликулы, в том числе созревающие фолликулы. Препарат соответствовал обычному гистологическому строению овариальной гонады (**см. рис. 1, б на цв. вклейке**). Таким образом, гистологическое исследование позволило установить наличие дифференцированной овариальной и дисгенетичной тестикулярной ткани в составе одной гонады. Установлен морфологический диагноз: овотестикулярное нарушение формирования пола.

Консилиум специалистов различного профиля (генетик, эндокринолог, хирург, психолог) предположил воспитание ребенка в женском паспортном поле. Родителями принято решение о смене паспортного пола. Хирургическое лечение включало двустороннюю сепарацию овотестис с полным удалением тестикулярной ткани и сохранением овариальных частей гонады (**рис. 2 на цв. вклейке**). Технические возможности операции определялись строением гонады: овариальная и тестикулярная части гонады были четко разделены между собой оваскулярной прослойкой соединительной ткани. Отсутствие тестикулярной ткани после проведения данной операции подтверждено диагностической 3-дневной пробой с хорионическим гонадотропином, уровень тестостерона после пробы — 0,1 нмоль/л. Ребенок адаптирован в женском поле, проведена феминизирующая пластика.

2. Пациентка Л., 3 года. Родилась с неправильным строением наружных половых органов, что послужило основанием для проведения кариотипирования. Установлен кариотип 46,XX/46,XY — химе-

ризм. При таком варианте мозаицизма наиболее вероятно формирование овотестикулярных гонад. В ходе лапароскопии визуализирована матка. В составе обеих маточных труб — гонады, по структуре напоминающие овотестис. Проведена сепарация овариальной и тестикулярной частей гонад. При гистологическом исследовании диагноз подтвержден. В препарате тестикулярной части обнаружены кистозно расширенные канальцы, атрофия эпителия, фиброз. Препарат овариальной части гонады соответствовал гистологической структуре яичника; определялось деление на корковое и мозговое вещество, имелись скопления примордиальных фолликулов. Проведена сепарация с сохранением овариальных гонад. Выполнена феминизирующая пластика наружных гениталий.

3. Пациент *Ш.*, 5 мес. Родился с двойственным строением наружных половых органов. Пол при рождении не установлен. Гонады при пальпации не определены. В родильном доме проведено кариотипирование — 46,XY(53%)/45,X(47%), после чего ребенку был присвоен мужской гражданский пол. Впервые обследован в возрасте 5 месяцев. Рост — 60 см (SDS —0,61). Масса тела — 5630 г (ИМТ 15,56 кг/м²). Вирилизация наружных гениталий соответствует II—III стадии по Прадеру: имеется клиторофаллос длиной 28 мм, искривлен, головка сформирована, кавернозные тела развиты плохо. Отверстие уретры на промежности, ниже меатуса имеется отверстие влагища. Гонады в лабиоскrotальных складках отсутствуют, при пальпации паховой области не определяются. При ультразвуковом исследовании обнаружена матка, по средней линии, размером 9×6 мм, и левая гонада неоднородной структуры. Правая гонада не визуализирована. Результаты гормонального обследования соответствовали мини-пубертату: базальный уровень тестостерона 3,8 нмоль/л (референсный интервал — РИ: 4,5—6,3); уровень тестостерона, стимулированный хоригоном — 14,2 нмоль/л; ЛГ — 3,1 мМЕ/мл (РИ: 2,2—4,1 мМЕ/мл). Уровень антимюллерова гормона значительно снижен — 3,7 нмоль/л (РИ: 104—153), содержание ФГС в сыворотке повышено — 5,6 (РИ: 0,7—2,1 мМЕ/мл). При ДНК-диагностике обнаружена делеция AZF-региона Y хромосомы по маркеру SY 1192. Совокупность результатов генетических, клинических и гормональных исследований указывала на частичную дисгенезию гонад. С целью визуализации гонад и решения вопроса о гонадэктомии была проведена лапароскопия. Визуализирована гипоплазированная матка, в составе ее круглых связок располагались гонады. Левая гонада представляла собой стрек и была удалена. Правая (округлой формы) состояла из двух отсеков и макроскопически выглядела как овотестис. Проведена сепарация овотестис с удалением тестикулярного отсека гонады. Овариальная часть сохранена. На микропрепаратах тестикуляр-

ная ткань представлена кистозно-расширенными канальцами с выраженными дистрофическими изменениями, которые располагались среди рыхлой интерстициальной ткани. Предположительно овариальная часть гонады представлена овариальной стромой. Наличие недифференцированной овариальной стромы не позволяет говорить о наличии овотестис. На основании результатов гистологического исследования был выставлен диагноз: хромосомное нарушение формирования пола, частичная дисгенезия гонад. Проведена гонадэктомия. Учитывая наличие хорошо развитой матки и влагища, отсутствие гонад, слабую вирилизацию наружных половых органов, целесообразным является выбор женского пола воспитания. Предложение о смене пола принято и оформлено родителями. Выполнена феминизирующая пластика наружных половых органов.

4. Пациентка *Х.*, 2,5 года. Родители обратились с жалобами на неправильное строение наружных половых органов, увеличение клитора. Объективно: рост — 85,5 см (SDS —1,37), масса тела — 11 кг 150 г (ИМТ 15 кг/м²). Наружные половые органы больше соответствуют женскому фенотипу, лабиоскrotальные складки полностью расщеплены, вирилизация клитора соответствует II стадии по Прадеру. Гонады не пальпируются. Имеются отверстия влагища и уретры.

При обследовании: кариотип 46,XY, в полости малого таза определена гипоплазированная матка. Влагище прослеживается на всем протяжении. Правая гонада не визуализирована. Слева в проекции яичника визуализируется гонада, неоднородная по структуре, с четкими контурами (**рис. 3 на цв. вклейке**). Результаты гормонального обследования: ЛГ — 0,2 мМЕ/мл, ФГС — 8,3 мМЕ/мл. Уровень тестостерона на пробе с хоригоном (9,3 нмоль/л) свидетельствует о наличии тестикулярной ткани в составе гонад. Высокий уровень ФГС характерен для дисгенезии тестикулярного компонента. Проведена гонадэктомия. При гистологическом исследовании материал гонады был представлен кистозно расширенными канальцами, выстланными незрелым эпителием с выраженными дистрофическими изменениями, в просвете канальцев мелкие кальцинаты (**рис. 4, а на цв. вклейке**). К ткани яичка прилежит участок коркового слоя яичника (**см. рис. 4, б на цв. вклейке**). Ткань яичника склерозирована. Структуры, напоминающие примордиальные фолликулы, с выраженными дистрофическими изменениями. Гистологическая структура гонады двойственна.

Обсуждение

Морфологическая структура недифференцированной гонады зависит от экспрессии и взаимодействия генов, участвующих в формировании тестику-

ла [11]. Общеизвестно, что для верификации овотестикулярного нарушения формирования пола необходимо гистологическое исследование, подтверждающее наличие овариальной и тестикулярной ткани в составе одной гонады [1, 7]. Однако разные авторы не всегда идентично описывают овотестикулярные гонады. Классическим вариантом овотестис является двойственная абдоминальная гонада, состоящая из отдельных отсеков различной по структуре ткани. Тестикулярные части гонады, как правило, дисгенетичны, являясь источником для малигнизации и подлежат обязательному удалению [4–6]. Овариальные отделы в большинстве случаев содержат дифференцированные структуры яичника с наличием примордиальных фолликулов различной степени зрелости [12, 13]. Такая структура гонад описана нами у первых двух пациентов. В обоих случаях формирование овотестикулярной гонады обусловлено гоносомным мозаицизмом с присутствием клона, содержащего Y хромосому. Гистологическое строение гонады определяет выбор женского паспортного пола у большинства пациентов с овотестис [14, 15]. Проведенная нами сепарация с сохранением овариальных частей создает возможность самостоятельного пубертата, не исключает фертильность. Согласно данным литературы [4, 5, 14], большинство пациенток с овотестис благодаря наличию функциональной овариальной ткани имеют нормально развитые молочные железы. Примерно $2/3$ пациенток с истинным гермафродитизмом и кариотипом 46,XX менструируют, а у половины из них установлено наличие овуляции.

Другими авторами ОТНФП описываются как наличие овариальных и тестикулярных структурных элементов в составе лабиальной либо паховой гонады [16, 17]. В предыдущем исследовании, анализируя группу из 25 пациентов с дисгенезией гонад, мы обнаружили овариальную строму и примордиальные фолликулы у 7 (28%) детей с кариотипом 46,XY [18]. В настоящей работе в клинических случаях 3 и 4 наблюдались абдоминальные смешанные гонады, при морфологическом анализе которых установлена незрелость как тестикулярного, так и яичникового компонентов. В 2009 г. D. Wilhelm и L. Washburn [11] описали развитие овотестис у XY плодов мышей. В одной и той же ткани гонады методом иммунофлюоресценции была изучена экспрессия специфических маркеров, определяющих развитие яичка (SRY, SOX 9) и яичника (FOXL2, Rspo1). Авторы

показали, что развитие овотестикулярной гонады у XY особей прослеживалось в тех случаях, когда экспрессия тестикулдетерминирующих генов была недостаточной для подавления овариального пути развития. В том же году были опубликованы результаты гистологического и иммуногистохимического исследований 5 пациентов со смешанной дисгенезией гонад 46,XY. У 2 пациентов в стректовых гонадах были обнаружены редкие примордиальные фолликулы. Иммуногистохимическая экспрессия овариального маркера (FOXL2) обнаруживалась во всех стректовых гонадах [19]. Результаты этих исследований объясняют механизм развития овариальной ткани в составе дисгенетичной тестикулярной гонады XY у 46 пациентов. С этой точки зрения, наиболее правомочным диагнозом у пациентов 3 и 4 является дисгенезия гонад. Данный диагноз отражает механизм формирования гонады и определяет дальнейшие лечебные мероприятия. Безусловным выбором хирургической тактики в этих случаях является гонадэктомия.

Выводы

1. Для дифференциальной диагностики ОТНФП и дисгенезии гонад необходимо проведение гистологического исследования. Овотестис характеризуется наличием зрелой овариальной ткани в составе смешанной гонады. Наличие незрелой овариальной ткани в составе гонад 46,XY у пациентов является одним из признаков их дисгенезии.

2. При наличии зрелой овариальной ткани в составе дольчатой овотестикулярной гонады хирургическим решением явилась сепарация с сохранением овариального компонента. При наличии незрелой ткани в составе гонад выполнялась гонадэктомия.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Д.А. Морозов, Н.В. Болотова

Сбор и обработка материала — Н.Ю. Райгородская, Д.А. Морозов, Е.С. Пименова, Г.Н. Маслякова, Е.Н. Цмокалюк, Н.В. Болотова

Написание текста — Н.Ю. Райгородская, Е.Н. Цмокалюк

Редактирование — Н.И. Болотова, Д.А. Морозов

ЛИТЕРАТУРА

1. Krob G, Braun A, Kuhnle U. True hermaphroditism: Geographical distribution, clinical findings, chromosomes and gonadal histology. *Eur. J. Pediatr.* 1994;153(1):2–10. doi: 10.1007/bf02000779.
2. Ludbrook LM, Bernard P, Bagheri-Fam S, et al. Excess DAX1 Leads to XY Ovotesticular Disorder of Sex Development (DSD) in Mice by Inhibiting Steroidogenic Factor-1 (SF1) Activation of the Testis Enhancer of SRY-box-9 (Sox9). *Endocrinology.* 2012;153(4):1948–1958. doi: 10.1210/en.2011-1428.
3. Ledig S, Hiort O, Wunsch L, Wieacker P. Partial deletion of DMRT1 causes 46,XY ovotesticular disorder of sexual develop-

- ment. *European Journal of Endocrinology*. 2012;167(1):119-124. doi: 10.1530/eje-12-0136.
4. Nihoul-Fékété C, Thibaud E, Lortat-Jacob S, Josso N. Long-Term Surgical Results and Patient Satisfaction With Male Pseudohermaphroditism or True Hermaphroditism: A Cohort of 63 Patients. *The Journal of Urology*. 2006;175(5):1878-1884. doi: 10.1016/s0022-5347(05)00934-1.
5. Verkauskas G, Jaubert F, Lortat-Jacob S, et al. The Long-Term Followup of 33 Cases of True Hermaphroditism: A 40-Year Experience With Conservative Gonadal Surgery. *The Journal of Urology*. 2007;177(2):726-731. doi: 10.1016/j.juro.2006.10.003.
6. Морозов Д.А., Райгородская Н.Ю., Болотова Н.В., и др. Хирургическое лечение детей с патологией пола в соответствии с международным консенсусом. // Российский вестник детской хирургии анестезиологии и реаниматологии. — 2010. — №1 — С. 66–73. [Morosov DA, Raigorodskaya NJ, Bolotova NV, et al. Surgical treatment of children with sex pathology according to the international consensus. *Rossiyskiy vestnik detskoy khirurgii anesteziologii i reanimatologii*. 2010;(1):66–73.]
7. Lee PA, Houk CP, Ahmed SF, Hughes IA. Consensus Statement on Management of Intersex Disorders. *Pediatrics*. 2006;118(2):e488-e500. doi: 10.1542/peds.2006-0738.
8. Malavaud B, Mazerolles C, Bieth E, et al. Pure Seminoma in a Male Phenotype 46,Xx True Hermaphrodite. *The Journal of Urology*. 2000;164(1):125-126. doi: 10.1016/s0022-5347(05)67467-8.
9. Letterie GS, Page DC. Dysgerminoma and Gonadal Dysgenesis in a 46,XX Female with No Evidence of Y Chromosomal DNA. *Gynecol. Oncol.* 1995;57(3):423-425. doi: 10.1006/gyno.1995.1166.
10. Tsuchiya K, Reijo R, Page DC, Distèche CM. Gonadoblastoma: molecular definition of the susceptibility region on the Y chromosome. *Amer. J. Hum. Genet.* 1995;57(6):1400-1407.
11. Wilhelm D, Washburn LL, Truong V, et al. Antagonism of the testis- and ovary-determining pathways during ovotestis development in mice. *Mech. Dev.* 2009;126(5-6):324-336. doi: 10.1016/j.mod.2009.02.006.
12. Matsui F, Shimada K, Matsumoto F, et al. Long-term outcome of ovotesticular disorder of sex development: A single center experience. *Int. J. Urol.* 2011;18(3):231-236. doi: 10.1111/j.1442-2042.2010.02700.x.
13. Hisamatsu E, Nakagawa Y, Sugita Y. Two Cases of Late-Diagnosed Ovotesticular Disorder of Sex Development. *APSP Journal of Case Reports*. 2013;4(3):40-40.
14. Damiani D, Fellous M, McElreavey K, et al. True hermaphroditism: clinical aspects and molecular studies in 16 cases. *European Journal of Endocrinology*. 1997;136(2):201-204. doi: 10.1530/eje.0.1360201.
15. Raygorodskaya NY, Chernykh VB, Morozov DA, et al. A 3-year-old boy with ovotestes: gender reassignment and surgical management. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2011;24(7-8). doi: 10.1515/jpem.2011.244.
16. Ozsü E, Mutlu GY, Cizmecioglu FM, et al. Ovotesticular disorder of sexual development and a rare 46,XX/47,XXY karyotype. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2013;26(7-8). doi: 10.1515/jpem-2012-0386.
17. Irkilata HC, Basal S, Taslipinar A, et al. Ovotesticular disorder of sex development with a prostatic gland and review of literature. *Andrologia*. 2009;41(6):387-391. doi: 10.1111/j.1439-0272.2009.00945.x.
18. Райгородская Н.Ю., Морозов Д.А., Болотова Н.В., и др. Врожденные нарушения дифференцировки гонад: клинико-морфологические варианты и оперативное лечение. // Урология. — 2012. №5 — С. 86–91. [Raigorodskaya NY, Morozov DA, Bolotova NV, et al. Congenital disorders of gonadal differentiation: clinico-morphological variants and surgical treatment. *Urologiia*. 2012;(5):86–91.]
19. Verkauskas G, Macianskyte D, Janciauskas D, et al. [Diagnosis and management of 46,XY mixed gonadal dysgenesis and disorder of sexual differentiation]. *Medicina (Kaunas)*. 2009;45(5):357-364.