

Н.Ю. Райгородская¹, Н.В. Болотова¹, Д.А. Морозов^{2,3}, В.К. Поляков¹, Е.Н. Цмокалюк¹

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГОНАД У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ВАРИАНТАМИ НАРУШЕНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ПОЛА В ПЕРИОД МИНИ-ПУБЕРТАТА

¹ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского МЗ РФ, г. Саратов; ²ФГБНУ Научный центр здоровья детей НИИ детской хирургии, Москва; ³ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ, Москва, РФ

N.Y. Raigorodskaya¹, N.V. Bolotova¹, D.A. Morozov^{2,3}, V.K. Polyakov¹, E.N. Tsmokalyuk¹

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF GONADS IN CHILDREN WITH DIFFERENT TYPES OF SEX DEVELOPMENT DISORDERS DURING MINI-PUBERTY

¹Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky; ²Scientific Center of Children's Health, Research Institute of Pediatric Surgery, Moscow; ³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russia

Показатели репродуктивных гормонов у детей первых месяцев жизни характеризуют постнатальное развитие половых желез. Целью работы явилась оценка состояния гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы детей с различными вариантами нарушения формирования пола в период мини-пубертата. Проведено обследование 45 пациентов с нарушением формирования пола и 40 здоровых мальчиков. Обследование включало клиническое, эхографическое, лапароскопическое обследование половой системы и определение уровня репродуктивных гормонов в сыворотке крови в возрасте 1–3 месяцев. В результате комплексного обследования определены характерные изменения репродуктивных гормонов для различных нозологических вариантов нарушения формирования пола. Результаты гормонального обследования определяли выбор половой принадлежности, являлись основанием для проведения морфологического и молекулярно-генетического обследования, имели значение для верификации диагноза.

Ключевые слова: нарушение формирования пола, дисгенезия гонад, мини-пубертат, репродуктивные гормоны, дети первых месяцев жизни.

Indicators of reproductive hormones in children during first months of life characterize the postnatal development of the sex glands. Objective of the study – to assess the state of hypothalamic–pituitary–gonadal system in children with different types of sex development disorders during mini-puberty. The study involved 45 patients with sex development disorders and 40 healthy boys. It included clinical, echographic, laparoscopic examination of the reproductive system and determination of reproductive hormones level in blood serum at the age of 1–3 months. Comprehensive survey allowed to identify characteristic changes in reproductive hormones for different clinical variants of sex development disorders. Results of hormonal examination determined gender choice, became basis for morphological and molecular genetic testing, were important for diagnosis verification.

Keywords: sex development disorders, gonadal dysgenesis, mini-puberty, reproductive hormones, children's first months of life.

Контактная информация:

Райгородская Надежда Юрьевна – к.м.н., асс. каф. пропедевтики детских болезней, детской эндокринологии и диабетологии, научный сотрудник НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии ГБОУ Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского МЗ РФ
Адрес: Россия, 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112
Тел.: (917) 210-86-13,
E-mail: nraygorodskaya@gmail.com
Статья поступила 10.06.14,
принята к печати 23.09.15.

Contact Information:

Raigorodskaya Nadezhda Yurievna – Ph.D., Assistant of Propaedeutics of Children's Diseases, Pediatric Endocrinology and Diabetology Department, Associate of Research Institute of Fundamental and Clinical Urology, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky
Address: Russia, 410012, Saratov, Bolshaya Kazachya str., 112
Tel.: (917) 210-86-13,
E-mail: nraygorodskaya@gmail.com
Received on Jun. 10, 2015,
submitted for publication on Sep. 23, 2015.

Для пациентов с нарушением формирования пола (НФП), имеющих двойственное строение наружных гениталий, отсутствие пальпируемых гонад, важна своевременная оценка гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы. Функциональное состояние гипофиза и половых желез определяет выбор пола, постановку диагноза и тактику ведения ребенка с НФП [1]. До недавнего времени определение и анализ репродуктивных гормонов проводился в период полового созревания. Выбор половой принадлежности у пациентов с НФП осуществляли без учета функции гонад и прогноза полового развития.

Данные о ранней постнатальной активации гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы обозначили возможность диагностики врожденной патологии полового развития у детей первых месяцев жизни [2]. Со 2-й недели неонатального периода показатели гонадотропинов, тестостерона и антимюллерова гормона (АМГ) прогрессивно увеличиваются и достигают максимума ко 2–3-му месяцу. Параллельно в возрасте 3–6 месяцев отмечается пик секреции ингибина В. К концу первого полугодия уровень репродуктивных гормонов постепенно снижается и практически не определяется до наступления периода полового созревания [3–6]. Исключение составляет АМГ, его высокие показатели сохраняются в течение всего препубертатного периода [7]. Транзиторная активация гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы у детей первых месяцев жизни получила название «мини-пубертат».

Целью данной работы явилась оценка состояния гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы детей с различными вариантами НФП в период мини-пубертата.

Материалы и методы исследования

Под нашим наблюдением находились 45 новорожденных и детей первых месяцев жизни с НФП. 1-ю группу составили 25 пациентов с нарушением дифференцировки тестикулярных гонад, в ходе обследования которых были обнаружены дериваты мюллеровых протоков. 2-ю группу составили 20 пациентов с различными вариантами 46, XY НФП, в ходе обследования которых дериваты мюллеровых протоков отсутствовали. Контрольную группу составили 40 здоровых доношенных новорожденных мальчиков.

Обследование пациентов включало изучение генетического и антенатального анамнеза; фенотипическую оценку наружных половых органов; ультразвуковое исследование гонад и органов малого таза; определение репродуктивных гормонов в сыворотке крови; цитогенетические и молекулярно-генетические исследования; лапароскопическую визуализацию полости малого таза; биопсию гонад с последующим гистологическим исследованием. Ультрасонографию гонад выполняли при помощи аппарата Medison SA 9900, Южная Корея в В-режиме с использованием линейного датчика Prime 5–12 МГц при продольном и поперечном сканировании во фронтальной и сагиттальной плоскостях. При отсутствии мошоночных и паховых

гонад проводили эхографическую и лапароскопическую визуализацию органов малого таза. При обнаружении дисгенетичных гонад проводили гонадэктомию с последующим гистологическим исследованием интраоперационного материала; биопсию гонад при обнаружении овотестис. Гормональное обследование пациентов с НФП и здоровых мальчиков было проведено в возрасте 1–3 месяцев и включало определение в сыворотке крови гонадотропинов, тестостерона, АМГ и ингибина В методом прямого твердофазного иммуноферментного анализа. Исследования выполняли на анализаторе StatFax, США с использованием наборов реагентов производства ЗАО «ДРТ Техсистемс», Россия и DRG Inhibin BELISA, и DRG AMH ELISA, США. Цитогенетические исследования проводили на базе Областной медико-генетической лаборатории, г. Саратов и ФГБНУ Медико-генетического научного центра, г. Москва. ДНК-диагностику при моногенных формах НФП проводили в лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ Эндокринологический научный центр (зав. отделением – д.м.н. А.Н. Тюльпаков), г. Москва.

Результаты и их обсуждение

При обследовании пациентов с нарушением дифференцировки тестикулярных гонад (1-я группа) кариотип 46, XY имели 18 из 25 детей (72%), остальные 28% детей имели различные варианты гоносомного мозаицизма (табл. 1).

Таблица 1

Кариотип пациентов с нарушением дифференцировки гонад

Варианты кариотипа	Число детей (n=25)
46,XY	18
46,XY/45,X	3
48,XYYY/45,X/46,XY	1
45,X/47,XXY/46,XX/46,XY	1
47,XX+mar/46,XY	1
46,XY/46,XX	1

При оценке фенотипического строения наружных гениталий практически все пациенты (92%) имели двойственное строение наружных половых органов с различной степенью вирилизации. Двое мальчиков (8%) имели маскулинное строение наружных половых органов с отсутствием одного яичка в мошонке. При выписке из родильного дома пол не был установлен у 4 детей, регистрация в женском гражданском поле была рекомендована 5 новорожденным, остальные 16 детей были зарегистрированы мальчиками.

При эхографической и лапароскопической визуализации полости малого таза дериваты мюллеровых протоков – маточные трубы и матка различной степени зрелости были обнаружены у всех пациентов, у 9 (36%) детей визуализировано влагалище. Дисгенетичные гонады билатерально определены у 32% пациентов; стрек-гонада с одной стороны и мошоночная гонада контрлатерально – у 52%. 4 из 25 паци-

Концентрация репродуктивных гормонов в сыворотке крови пациентов с нарушением дифференцировки гонад в период мини-пубертата

Показатели	Пациенты с НДГ		Контрольная группа		P
	Me	[Q1; Q3]	Me	[Q1; Q3]	
ЛГ, мМЕ/мл	1,8	[1,0; 3,1]	3,3	[2,2; 4,1]	0,6
ФСГ, м МЕ/мл	3,4	[1,1; 8,3]	0,9	[0,7; 1,2]	0,001
Тестостерон, нмоль/л	1,3	[0,7; 3,9]	5,5	[4,5; 6,2]	0,005
АМГ, нг/мл	19	[3,6; 44,3]	129	[104; 152,6]	0,0001
Ингибин Б, пг/мл	128	[87; 144]	340	[255; 437]	0,0001

ентов (16%) имели неоднородные гонады в проекции яичников, макроморфология которых определена как овотестис. Определение концентрации репродуктивных гормонов у пациентов с нарушением дифференцировки гонад проведено в возрасте 1–3 месяцев. Результаты представлены в табл. 2.

Как показали результаты гормонального обследования, концентрация сывороточного тестостерона имела широкий разброс значений – от практически неопределяемой до нижней границы нормы. Нормальные показатели тестостерона – 4,5 [3,75; 5,4] нмоль/л и физиологические для данного возраста значения лютеинизирующего гормона (ЛГ) определены у 8 (32%) детей, что имело прогностическое значение для пубертата, указывало на возможность адаптации в мужском поле. Низкий уровень тестостерона – 1,1 [0,5; 1,2] нмоль/л имели 17 (68%) пациентов. Показатели ЛГ у этих детей составили 2,1 [0,9; 3,4] мМЕ/мл. Показатели АМГ и ингибина Б были низкими у всех детей с нарушением дифференцировки гонад (НДГ), при этом у 14 (56%) отмечалось повышение уровня фолликулостимулирующего гормона (ФСГ).

Окончательный морфологический диагноз у пациентов с НДГ был верифицирован после проведения хирургического лечения и гистологического исследования материала гонад. Так, смешанная дисгенезия тестикул, характеризующаяся наличием одного из тестикулов и стрек-гонады контрлатерально, была установлена у 6 (24%) пациентов. Частичная билатеральная дисгенезия гонад имела место у 17 (68%) детей. Овотестикулярные гонады гистологически подтверждены у двоих (8%) пациентов. Результаты гистологического исследования при различных вариантах НДГ показаны на рисунке.

На основании анализа результатов клинического, гормонального и морфологического обследования пациентов были выделены характерные особенности для каждого варианта НДГ.

• **Смешанная дисгенезия тестикул** – у 6 (24%) пациентов характеризовалась неправильным маскулиненным строением наружных

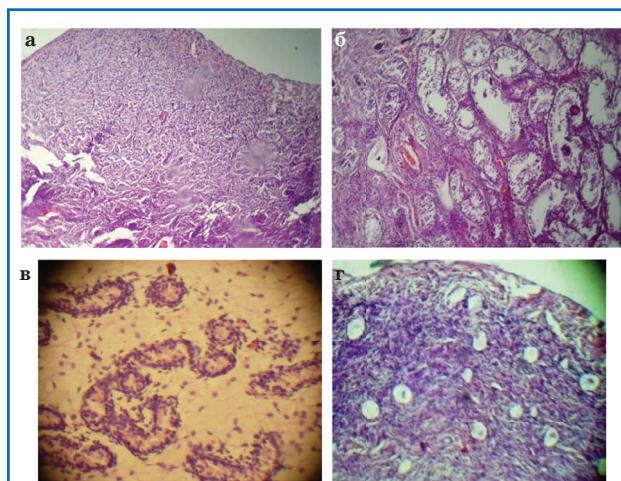


Рисунок. Морфологическое строение гонады при овотестикулярном НФП и гистологические варианты НДГ.

а – микроскопическая картина стрек-гонады у пациента со смешанной дисгенезией гонад: участок ткани, напоминающий фиброзированную строму яичника; окраска гематоксилином и эозином, ув. 120; б – элементы ткани яичка в составе дисгенетичной гонады: среди плотной фиброзной ткани кистознорасширенные каналы с недифференцированными эпителиальными клетками, кальцинатами в просвете; окраска гематоксилином и эозином, ув. 250; в – компоненты ткани яичка: среди рыхлой стромы, напоминающей незрелую мезенхиму, скопление мелких канальцев с недифференцированным эпителием; окраска гематоксилином и эозином, ув. 250; г – корковый слой ткани яичника: межуточная ткань со скоплением примордиальных фолликулов; окраска гематоксилином и эозином, ув. 200.

гениталий, соответствующим III–IV стадии по Прадеру, с отсутствием одного яичка в мошонке; нарушением топографии и гипоплазией мюллеровых производных, их смещением в сторону дисгенетичной гонады. Концентрация тестостерона в сыворотке крови – 4,5 [3,75; 5,4] нмоль/л соответствовала референсным значениям, концентрация АМГ была снижена в 2,3 раза. Гистологическая структура стрек-гонады была представлена плотной фиброзированной соединительной тканью (рис. а).

• **Частичная (парциальная) дисгенезия тестикул** – у 15 (60%) характеризовалась двойственным строением наружных гениталий с отсутствием пальпируемых гонад, вирили-

зация соответствовала II–III стадии Прадера; типичным расположением и обычным морфологическим строением мюллеровых производных. В структуре маточных труб располагались дисгенетичные гонады. Отмечались низкие показатели тестостерона – 1,1 [0,5; 1,2] нмоль/л и АМГ – 14 [3,6; 29,3] нг/мл, повышенный уровень ФСГ – 13 [5,6; 19] мМЕ/мл. Гистологическая структура гонад была представлена незрелой тестикулярной тканью: рыхлая интерстициальная ткань с участками неравномерного склероза, кистозно-измененными канальцами с выраженными дистрофическими изменениями (рис. б).

• **Овотестикулярное НФП** – у 4 (16%) характеризовалось интерсексуальным строением наружных половых органов с отсутствием яичек в лабиоскротальных складках. Мюллеровы структуры были хорошо сформированы, имелись матка, маточные трубы, влагалище. Гонады располагались в проекции яичников и состояли из двух или более компонентов, различных по структуре. Уровень тестостерона [3,8–4,1] нмоль/л был приближен к нижней границе референсного диапазона и отражал присутствие тестикулярной ткани в составе гонад, соответствовал вирилизации. Отмечалось повышение концентрации гонадотропинов, уровень АМГ практически не определялся. При гистологическом исследовании подтверждено наличие овариального и тестикулярного компонентов гонады. Тестикулярный компонент был представлен рыхлой межклеточной тканью с атрофичными канальцами, выстланными недифференцированными эпителиальными клетками (дисгенетичная ткань яичка); овариальный компонент – структурированной тканью яичника, дифференцировалось корковое и мозговое вещество, определялись примордиальные фолликулы (рис. в).

Пациентов с полной дисгенезией гонад среди детей, обследованных в период мини-пубертата, выявлено не было.

В период мини-пубертата были также обследованы 20 пациентов, имеющих 46,XY тестикулярное НФП. Все пациенты данной группы имели тестикулярные гонады и незавершенную маскулинизацию наружных половых органов. Морфометрические характеристики тестикул не отличались от здоровых детей. Изолированную перинеоскротальную гипоспадию имели 14 (65%) детей, гипоспадию в сочетании с крипторхизмом – 6 (30%) мальчиков: с двусторонним – 2, с односторонним – 4. Одной из фенотипических черт являлась микропения, установленная у 45% мальчиков.

При гормональном обследовании у 4 пациентов были определены показатели тестостерона – 7,4–11,2 нмоль/л, превышающие референсный диапазон значений. Такое сочетание клинических и гормональных данных, а именно: незавершенная маскулинизация при наличии тестикулярных гонад, микропения и высокий уровень тестостерона требовали исключения синдрома резистентности к андрогенам [8–10]. При проведении молекулярно-генетического обследования данный диагноз подтвердился у 2 (10%) пациентов. У остальных пациентов уровень гонадотропинов и андрогенов соответствовал показателям здоровых мальчиков 1–3 месяцев. При исследовании показателей, характеризующих функциональное состояние клеток Сертоли, низкая концентрация АМГ определена у 67% мальчиков, низкий уровень ингибина В – у 58% мальчиков данной группы.

Заключение

Обобщая результаты проведенного исследования, приводим сравнительную характеристику показателей репродуктивных гормонов у пациентов с различными вариантами НФП в табл. 3. Как показано в табл. 3, период мини-пубертата у пациентов с НФП характеризовался определенной совокупностью гормональных изменений для каждого нозологического вари-

Таблица 3

Показатели репродуктивных гормонов у пациентов с НФП в возрасте 1–3 месяцев

Варианты НФП	ЛГ, мМЕ/мл	ФСГ, мМЕ/мл	Тестостерон, нмоль/л	АМГ, нг/мл
Смешанная дисгенезия гонад	1,8 [1,0; 3,1]	3,4 [1,1; 8,3]	4,5 [3,7; 5,4]	48,6 [41; 59]
Частичная дисгенезия гонад	5,6 [2,2; 4,1]	13 [5,6; 19]	1,1 [0,5; 1,2]	14 [3,6; 29,3]
Овотестикулярное НФП	5,6; 3,2	3,4; 7,1	3,8; 4,1	3,7; 6,3
Изолированная мошоночная гипоспадия	3,1 [1,1; 5,1]	1,5 [0,5; 3,4]	4,9 [2,9; 6,3]	99 [82; 121]
Синдром резистентности к андрогенам	2,7; 3,1	1,3; 1,7	8,0; 10,7	44; 65
Здоровые мальчики	3,3 [2,2; 4,1]	0,9 [0,7; 1,2]	5,5 [4,5; 6,2]	129 [104; 153]

анта. Нормальные показатели тестостерона и физиологические для данного возраста значения ЛГ были определены у пациентов со смешанной дисгенезией тестикул, что имело принципиальное значение при выборе мужского пола, определяло прогноз полового развития. Показатели АМГ были низкими у всех детей с НДГ и сочетались с повышением уровня ФСГ у 56%, что отражало нарушение постнатальной дифференцировки клеток Сертоли. При синдроме периферической резистентности к андрогенам имели место нормальная либо повышенная концентрация тестостерона, низкие показатели АМГ и ингибина Б, что определило необходимость молекулярно-генетического обследования, позволило верифицировать диагноз в первые месяцы жизни, имело

решающее значение для выбора половой принадлежности.

Рекомендации по выбору пола и дальнейшей тактике лечения были даны пациентам на основании комплексной оценки совокупности факторов с учетом фенотипического строения наружных гениталий, функциональной активности половых желез, прогноза полового развития. В итоге, результаты постнатального гормонального обследования пациентов с НФП позволили оценить функциональное состояние тестикул, сформировать алгоритм дальнейшего диагностического поиска, определить объем молекулярно-генетических исследований, направленных на верификацию диагноза, выбор пола, прогноз полового развития.

Литература

1. Houk CP, Hughes IA, Ahmed FS, Lee PA. Consensus Statement on Management of Intersex Disorders. International Intersex Consensus Conference. *J. Pediatrics*. 2006; 118 (Suppl. 2): 753–758.
2. Hadziselimovic F, Zivkovic D, Bica DT, Emmons LR. The importance of mini-puberty for fertility in cryptorchidism. *J. Urol*. 2005; 174 (4 Pt. 2): 1536–1539.
3. Andersson AM, Toppari J, Haavisto AM, Petersen JH, Simell T, Simell O and Niels E. Longitudinal Reproductive Hormone Profiles in Infants: Peak of Inhibin B Levels in Infant Boys Exceeds Levels in Adult Men. *J. of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1999; 83 (2): 675–681.
4. Bergada I, Milani C, Bedecarra's P, Andreone L, Ropelato MG, Gottlieb S, Bergada C, Campo S, Rey RA. Time course of the serum gonadotropin surge, inhibins, and anti-Mullerian hormone in normal newborn males during the first month of life. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2006; 9: 4092–4098.
5. Main KM, Toppari J, Shakkebek NE. Gonadal development and reproductive hormones in infant boys. *Eur. J. of Endocrinology*. 2006; 155: 51–57.
6. Ji C, Huang XW, Yang RW, Wang XU, Yan Z. Gonadotropins and sex hormones in healthy chinese infants. *Indian Pediatrics*. 2008; 45: 489–492.
7. Grinspon RP, Rey RA. Anti-Mullerian Hormone and Sertoli Cell Function in Paediatric Male Hypogonadism. *Horm. Research in Pediatrics*. 2010; 73 (2): 81–92.
8. Bouvattier C, Carel JC, Lecoindre C, David A, Sultan C, Bertrand A-M, Morel Y, Chaussain. Postnatal changes of T, LH, and FSH in 46,XY infants with mutations in the AR gene. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2002; 87: 29–32.
9. Колодкина А.А. Молекулярно-генетические и клинические варианты синдрома резистентности к андрогенам: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2011.
10. Quigley CA. The postnatal gonadotropin and sex steroid surge-insights from the androgen insensitivity syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002; 87 (1): 24–28.