

Multidisciplinaire richtlijn

Genetisch onderzoek bij Disorders of Sex Development

Betrokken beroepsgroepen: kinderendocrinologen, kinderurologen,
klinisch cytogenetici, klinisch genetici, klinisch moleculair genetici

Goedgekeurd door VKGL, VKGN en NVK (sectie kinderendocrinologie)

Oktober 2010

Auteurs: C.M.A. van Ravenswaaij-Arts (VKGN), m.m.v.
B. Otten (NVK-SEK), K. Wolfenbuttel (kinderurologie),
B. Sikkema-Raddatz (VKGL-LOC), Y. van Bever (VKGN), D. Smeets (VKGL-LOC),
H. Bruggenwirth (VKGL-LOD), E. Sistermans (VKGL-LOD) en N. Hanemaaijer.

De totstandkoming van deze richtlijn is gefinancierd door SKMS project 4132154

Deze richtlijn is geldig tot: 01-10-2012

Genetisch onderzoek bij Disorders of Sex Development

INHOUD

Hoofdstuk	blz
Afkortingen	3
1. Inleiding en Verantwoording	4
2. Classificatie DSD	8
3. Genetisch onderzoek bij de <u>pasgeborene</u> met een onduidelijk geslacht	9
- stappenplan I: ambigu genitaal	21
- stappenplan II: micropenis	24
- stappenplan III: uitwendig geslacht afwijkend van (prenatale) karyotypering	25
4. Genetisch onderzoek bij verdenking DSD op <u>kinderleeftijd</u> en uitblijvende of incomplete <u>puberteits</u> ontwikkeling	27
- stappenplan IV: uitblijven puberteit bij normaal karyotype	34
5. Bepalen risico op gonadale kiemceltumoren	36
6. Genetisch onderzoek bij onduidelijk geslacht bij <u>prenataal</u> echoscopisch onderzoek	40
- stappenplan V: onduidelijk geslacht prenataal	41
7. Referenties	43
- overige literatuur	47
Bijlagen	50
- B1: Beknopte samenvatting normale embryologie en genetica	50
- B2: DSD teams	54
- B3: Leesgroep	56

AFKORTINGEN

AD	autosomaal dominant
AGS	adrenogenitaal syndroom
AMH	anti-Müllerian hormone (=Mullerian inhibiting factor)
AIS	androgen insensitivity syndrome
AR	autosomaal recessief
CAH	congenital adrenal hyperplasia
CAIS	complete androgen insensitivity syndrome
CGH	comparative genomic hybridisation
dn	de novo
DSD	disorder(s) of sex development
FISH	fluorescente in situ hybridisatie
KS	Kallmann syndroom (= hypogonadotroop hypogonadisme met anosmie)
LOC	landelijk overleg cytogenetica
LOD	landelijk overleg DNA-diagnostiek
MR	mentale retardatie
nIHH	normosmisch idiopathisch hypogonadotroop hypogonadisme
NVOG	Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie
PAIS	partial androgen insensitivity syndrome
Q-F PCR	kwantitatieve PCR-analyse
SLO	Smith-Lemli-Opitz syndroom
XR	X-gebonden recessief
XsD	semi-dominante X-gebonden overerving
VKGN	Vereniging Klinische Genetica Nederland

1. INLEIDING en VERANTWOORDING

De geboorte van een kind met een onduidelijk geslacht resulteert in een situatie waarbij direct optimale diagnostiek vereist is om de ouders zo snel mogelijk adequaat te kunnen informeren over het geslacht van hun kind. Soms is de oorzaak snel duidelijk, bijvoorbeeld bij een evidente syndromale afwijking of bij adrenogenitaal syndroom. Er bestaan echter vele zeldzame oorzaken van geslachtelijke ontwikkelingsstoornis. Om die reden is begeleiding en diagnostiek vanuit een multidisciplinair team vereist (zie bijlage B2). De diagnostiek rond geslachtelijke ontwikkelingsstoornissen is complex. Deze richtlijn probeert hierin sturing te geven. De commissie realiseert zich dat het hier niet alleen gaat om complexe, maar ook om veelal zeldzame aandoeningen. Dit betekent dat er weinig evidence-based informatie beschikbaar was en niet te voorkomen was dat deze richtlijn vooral geschikt is voor klinisch genetici, cytogenetici, moleculair genetici en kinderendocrinologen met affiniteit voor en ervaring in deze materie.

Onderhavige richtlijn is bedoeld om, **uitgaande van de presentatie van de patiënt**, een diagnostisch stappenplan te geven. Waar mogelijk wordt bij de bespreking dus uit gegaan van de klinische presentatie, met name in de stappenplannen. De huidige internationale DSD-indeling zoals besproken in hoofdstuk 2 is echter gebaseerd op etiologie.

Omdat in de richtlijn de diagnostiek centraal staat, wordt niet in gegaan op de behandeling van geslachtelijke ontwikkelingsstoornissen. De commissie nodigt graag de betrokken beroepsgroepen uit hiervoor een richtlijn te schrijven. Momenteel wordt o.a. gewerkt aan een multidisciplinaire richtlijn primaire amenorroe op initiatief van de NVOG.

De nadruk bij deze richtlijn ligt op de **genetische diagnostiek**. Vanuit genetisch oogpunt dienden de volgende vragen als uitgangspunt:

- aantal te analyseren cellen bij chromosomenonderzoek?
- FISH, Q-F PCR of standaardkaryotypering?
- Hoe bepalen gonadoblastoomrisico?
- Welk moleculair genetisch onderzoek bij ambigu genitaal?
- Welk vooronderzoek om tot zo gericht mogelijk genetisch onderzoek te komen?

Gericht DNA-onderzoek kan niet los gezien worden van de resultaten van o.a. lichamelijk, endocrinologisch en beeldvormend onderzoek. Waar nodig voor de genetische diagnostiek wordt dit daarom ook behandeld.

De belangrijkste delen van deze richtlijn zijn de **stappenplannen** (in kaders).

Evidence en Kwaliteitsindicatoren

Helaas is er ten aanzien van onderzoek bij geslachtelijke ontwikkelingsstoornissen weinig evidence-based literatuur voorhanden. De meeste in de richtlijn besproken aandoeningen zijn zeldzaam en etiologische studies zijn noodzakelijkerwijs vaak gebaseerd op kleine aantallen. De normaliter in richtlijnen gehanteerde classificatie van mate van bewijs¹ (evidence) is weer gegeven in tabel 1 voor diagnostisch onderzoek, etiologisch onderzoek en prognose (deze zijn voor deze richtlijn resp. van toepassing op het cytogenetisch onderzoek, het DNA-onderzoek en het risico op kiemceltumoren). Waar van toepassing en mogelijk is de mate van bewijs (tabel 1b) in de kantlijn weer gegeven:



¹ CBO 2000

Tabel 1a **Indeling van methodologische kwaliteit van individuele studies²**

	Diagnostische accuratesse onderzoek	Etiologie, prognose
A1	Systematische review van tenminste twee onafhankelijk van elkaar uitgevoerde onderzoeken van A2-niveau	
A2	Onderzoek ten opzichte van een referentietest (een 'gouden standaard') met tevoren gedefinieerde afkapwaarden en onafhankelijke beoordeling van de resultaten van test en gouden standaard, betreffende een voldoende grote serie van opeenvolgende patiënten die allen de index- en referentietest hebben gehad.	Prospectief cohort onderzoek van voldoende omvang en follow-up, waarbij adequaat gecontroleerd is voor 'confounding' en selectieve follow-up voldoende is uitgesloten.
B	Onderzoek ten opzichte van een referentietest, maar niet met alle kenmerken die onder A2 zijn genoemd	Prospectief cohort onderzoek, maar niet met alle kenmerken als genoemd onder A2 of retrospectief cohort onderzoek of patiëntcontrole onderzoek
C	Niet-vergelijkend onderzoek	
D	Mening van deskundigen	

Tabel 1b **Niveau van conclusies²**

	Conclusie gebaseerd op
1	Onderzoek van niveau A1 of tenminste 2 onafhankelijk van elkaar uitgevoerde onderzoeken van niveau A2
2	1 onderzoek van niveau A2 of tenminste 2 onafhankelijk van elkaar uitgevoerde onderzoeken van niveau B
3	1 onderzoek van niveau B of C
4	Mening van deskundigen

De commissie stelt de volgende kwaliteitsindicatoren voor aangaande genetisch onderzoek bij DSD:

1. Elk kind met een congenitaal ambigu genitaal dient verwezen te worden naar een DSD team. Een DSD team bestaat ten minste uit een kinderendocrinoloog, kinderuroloog, klinisch geneticus en kinderpsycholoog/psychiater of psychosociaal werker en er is een vaste consulent kinderchirurgie en gynaecologie. Ouders dienen zo snel mogelijk na vaststelling van een ambigu genitaal bij hun kind, verwezen te worden naar een psycholoog/psychosociaal werker van het DSD-team (zowel postnataal als prenataal, hoofdstuk 3h en 6) (zie bijlage B2 voor DSD teams).

Indicator:

Elk kind met een congenitaal onduidelijk geslacht dat in jaar X binnen 5 dagen post partum gezien wordt door een team DSD gedeeld door alle nieuwe verwijzingen naar het betreffende team DSD in jaar X.

2. Bij een pasgeborene met onduidelijk geslacht dient zo spoedig mogelijk na de geboorte een chromosomale geslachtsbepaling plaats te vinden (blz.12). De uitslag dient uiterlijk 2 werkdagen na ontvangst van het materiaal bekend te zijn.
(voor de uitslagtermijnen van de overige chromosomen- en DNA-onderzoeken gelden landelijke richtlijnen).

² Gebaseerd op CBO 2000

Indicator:

Het percentage kinderen met onduidelijk geslacht geboren in jaar X, waarvan de analytische uitslag van het chromosomaal geslacht binnen 1 en 2 werkdagen bekend is.

Waar mogelijk zijn de kwaliteitsaspecten omkaderd in de tekst opgenomen. Daarnaast komen zij grotendeels terug in de **stappenplannen**.

Algemene opmerkingen en Verantwoording

- Prematuur ovariëel falen, azoöspermie e.a. volwassen uitingsvormen van bijv. mozaïek Turner en Klinefelter syndroom zijn buiten de richtlijn gehouden.
- In deze richtlijn is niet alleen de presentatie bij pasgeborenen opgenomen, maar ook op de puberteitsleeftijd, omdat er etiologisch grote overlap is.
- Aangevraagd onderzoek en uitslagtermijn zijn sterk afhankelijk van de leeftijd en klinische presentatie van de patiënt. De indeling van deze richtlijn (hfdst. 3 vs. 4) is hierop gebaseerd.
- Het risico op kiemceltumoren is apart geplaatst om het belang te versterken.
- Met het oog op kwaliteit en ten behoeve van snelle diagnostiek bij pasgeborenen wordt het DNA-onderzoek in de door het Landelijk Overleg DNA-diagnostiek (LOD) vastgestelde erkende DNA-laboratoria geconcentreerd (www.dnadiagnostiek.nl). Indien DNA-onderzoek alleen in het buitenland mogelijk is, dan adviseert de commissie dit via één van de erkende Nederlandse DNA-laboratoria te laten verlopen.
- Tot slot is deze richtlijn gebaseerd op kennis en inzichten van dit moment. Daarom is vooralsnog gekozen voor een beperkte geldigheidsduur.

Geldigheidsduur en reeds te voorziene aanpassingen

Deze richtlijn is geldig tot 2 jaar na accordering door VKGL en VKGN. Uiterlijk 3 maanden voor het verstrijken van deze termijn zullen de leden van VKGN, VKGL en DSD-teams gevraagd worden om commentaar. De huidige commissieleden hebben toegezegd de richtlijn, mede op basis van het geleverde commentaar, t.z.t. te reviseren.

Tijdens het ontwikkelen van deze richtlijn bleek weinig evidence-based literatuur voorhanden. Dat leidde tot nieuwe vragen welke de commissie in de komende 2 jaar hoopt te kunnen beantwoorden. Het gaat hierbij met name om de vragen hoe de follow-up plaats vindt van meisjes met een prenataal vastgesteld 45,X karyotype in het kader van het uitsluiten van gonadoblastoom risico. Ook de indicatie voor FISH op wangslimvliescellen³ bij een 45,X karyotype zal kritisch geëvalueerd moeten worden in het licht van landelijke en internationale ervaringen. In de herziene richtlijn zal hierop worden ingegaan. Ook de recent opgerichte Vlaams-Nederlandse Turner syndroom werkgroep zal zich over deze materie buigen⁴.

³ Waar in deze richtlijn staat "FISH op wangslimvlies" mag ook onderzoek in fibroblasten gelezen worden. Echter FISH op wangslimvliescellen is technisch eenvoudiger en veel patiëntvriendelijker, zodat er vanuit gegaan wordt dat in de meeste laboratoria deze techniek gebruikt wordt.

⁴Afgesproken in het landelijk overleg van de kinderendocrinologen (SEK) dd. 8-10-2010. M. Cools, deskundige op het gebied van gonadoblastoom heeft ook zitting in deze werkgroep.

Werkgroepleden:

Conny van Ravenswaaij-Arts (coördinator), klinisch geneticus, Genetica, UMC Groningen

Barto Otten, kinderendocrinoloog, Kindergeneeskunde, UMC St Radboud

Katja Wolffenbuttel, kinderuroloog, Urologie, Erasmus MC

Birgit Sikkema-Raddatz, klinisch cytogeneticus, Genetica, UMC Groningen

Yolande van Bever, klinisch geneticus, Erasmus MC

Dominique Smeets, klinisch cytogeneticus, UMC St Radboud

Hennie Bruggenwirth, klinisch moleculair geneticus, Erasmus MC

Erik Sistermans, klinisch moleculair geneticus, VU MC

Literatuuronderzoek en administratieve ondersteuning

Nicolien Hanemaaijer, student-assistent, UMC Groningen

2. CLASSIFICATIE DSD

In bijlage B1 wordt een samenvatting van de embryologie gegeven. Deze achtergrondgegevens zijn bedoeld om de in hoofdstuk 3 en verder genoemde aanbevolen onderzoeken te kunnen plaatsen binnen de etiologie van de geslachtelijke ontwikkelingsstoornis.

Sinds 2006 spreekt men van Disorders of Sex Development (DSD) [Hughes 2006; Lee 2006]. DSD wordt gedefinieerd als “congenital conditions in which development of chromosomal, gonadal or anatomic sex is atypical”.

De volgende indeling wordt daarbij gehanteerd:

- geslachtschromosomale DSD
- 46,XX DSD
- 46,XY DSD

Zie tabel 2 voor een overzicht van de belangrijkste oorzaken van DSD (niet uitputtend). Deze internationaal gehanteerde indeling is gebaseerd op diagnosegroepen. Voor de diagnostiek is echter de klinische presentatie het primaire uitgangspunt. De internationale DSD-indeling geeft daarom maar beperkt richting aan het onderzoek, nadat het karyotype bekend is. In deze richtlijn wordt daarom primair uit gegaan van de presentatie (zie stappenplannen aan het eind van hoofdstuk 3, 4 en 6).

Tabel 2. Indeling Disorders of Sex Development

	Sex Chromosoom DSD	46,XY DSD	46,XX DSD
A	47,XXY (Klinefelter en varianten)	Gonadale (testis) ontwikkelingsstoornis: - gonadale dysgenese (<i>SRY, SOX9, SF1, WT1, DHH</i>) - ovotesticulaire DSD - testis regressie	Gonadale (ovarium) ontwikkelingsstoornis: - gonadale dysgenese - ovotesticulaire DSD - testiculaire DSD (<i>SRY+</i> , dup <i>SOX9</i>)
B	45,X (Turner en varianten)	Androgeenstoornis - androgeen synthese stoornis (SLO, deficiënties van LH-receptor, 5 α -reductase type II, 3 β -OHsteroïddehydrogenase, 17 β -OHsteroïddehydrogenase type III, 17 α -hydroxylase) - androgeenongevoeligheid (<i>AR</i>)	Androgeen teveel - foetaal (deficiënties van 3 β -OHsteroïddehydrogenase, 21-hydroxylase, 11 β -hydroxylase) - foetoplacentair (aromatase deficiëntie, oxireductase deficiëntie) - maternaal (viriliserende tumor, medicatie)
C	45,X/46,XY mozaïcisme (mixed gonadale dysgenese)	Overig - syndromen met abnormaal genitaal - persisterend Müllerian duct syndroom - vanishing testis syndrome - geïsoleerde hypospadie - congenitaal hypogonadotroop hypogonadisme - cryptorchisme	Overig - syndromen met abnormaal genitaal - Müllerse agenesie (MURCS) - uterusafwijkingen (MODY5) - vaginale atresie (McKusick-Kaufman, Bardet-Biedl)
D	46,XX/46,XY (chimerisme)		

3. GENETISCH ONDERZOEK BIJ DE PASGEBORENE MET EEN ONDUIDELIJK GESLACHT

In dit hoofdstuk worden eerst definities gegeven van de mogelijke presentaties binnen deze groep (a), daarna volgt een beschrijving van de diverse onderzoeken (b-h) en tot slot wordt een stappenplan gegeven voor het uit te voeren onderzoek (i) afhankelijk van de presentatie. Dit stappenplan is leidend voor het uit te voeren onderzoek.

Omdat niet alleen de presentatie, maar ook de volgorde van het uit te voeren onderzoek en de daarbij horende streef-uitslagtermijnen anders zijn, wordt genetisch onderzoek bij verdenking op geslachtschromosomale afwijking op de kinderleeftijd en uitblijvende/incomplete puberteitsontwikkeling in een apart hoofdstuk behandeld (hoofdstuk 4).

Diagnostiek bij een pasgeborene met onduidelijk geslacht dient altijd door een DSD-team uitgevoerd/gecoördineerd te worden (bijlage B2).

a. Definitie

Van een (mogelijk) onduidelijk geslacht bij de pasgeborene kan gesproken worden bij geïsoleerd of syndromaal⁵ voorkomen van [Claahsen-van der Grinten 2008;Hughes 2006;Lee 2006]:

- vergrote clitoris⁶
- posterieure fusie van de labia
- palpabele gonade(n) in de liezen of labia
- beiderzijds niet-ingedaalde en niet in het scrotum te brengen testikels²
- micropenis
- perineale hypospadie
- alle vormen van hypospadie met uni- of bilaterale niet-ingedaalde testikels
- cloacale malformatie [Wheeler 2001].
- discrepantie tussen uitwendig genitaal en prenataal karyotype

Bij alle bovengenoemde situaties is verder onderzoek door een DSD-team noodzakelijk (zie bijlage B2). In ieder geval dient z.s.m. na de geboorte chromosomenonderzoek plaats te vinden (zie d. uitslagtermijn, blz.13). Daarnaast kan chromosomenonderzoek aangewezen zijn bij een positieve familieanamnese voor androgeenon gevoeligheidsyndroom (AIS).

Bij een pasgeborene met onduidelijk geslacht dient zo spoedig mogelijk na de geboorte een chromosomale geslachtsbepaling plaats te vinden.

Overig (moleculair) genetisch onderzoek (g.) hangt af van de bevindingen bij anamnese (b.), lichamelijk onderzoek (c.), chromosomenonderzoek (d.), beeldvormend onderzoek (e.) en endocrinologisch onderzoek (f.).

⁵ In combinatie met andere aangeboren afwijkingen of dysmorphieën

⁶ Bij a terme neonaat en bij vroege prematuren zonder andere verschijnselen is afwachten vaak genoeg

Hieronder worden eerst deze onderzoeken kort beschreven met voor de genetische onderzoeken ook de criteria. Daarna volgt een stappenplan om de volgorde van de onderzoeken en de keuzes voor het genetisch (met name DNA-) onderzoek aan te geven.

b. Anamnese

Bij de anamnese dient o.a. aandacht te zijn voor [Claahsen-van der Grinten 2008; Nicolino 2004; Ogilvy-Stuart 2004; Low 2003]:

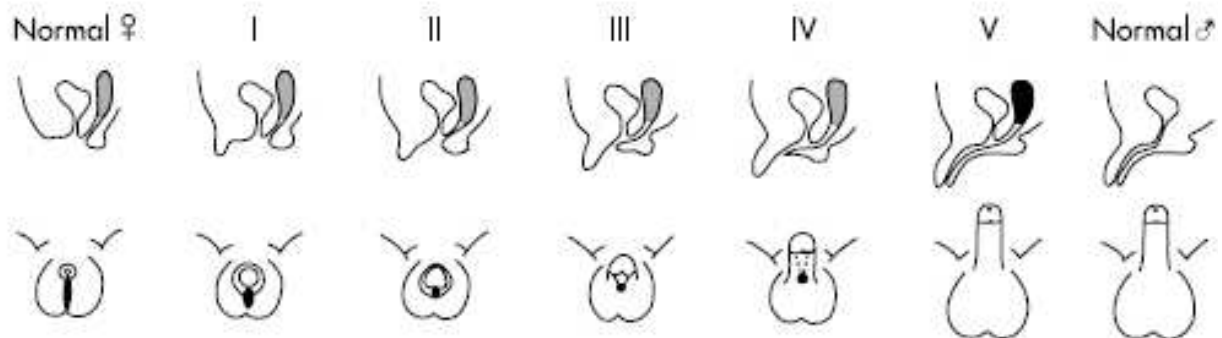
- Beloop zwangerschap
- Medicijn- en drugsgebruik in zwangerschap
- Androgeengebruik tijdens zwangerschap
- Tekenen van virilisatie bij moeder tijdens de zwangerschap
- Familieanamnese: drie generatie-stamboom met aandacht voor:
 - consanguïniteit
 - ambigu genitaal
 - adrenogenitaal syndroom
 - aangeboren afwijkingen in het algemeen
 - primaire amenorroe of late puberteit
 - vroeg neonataal overleden kinderen
 - habituele abortus
 - infertiliteit, ongewenste kinderloosheid

c. Lichamelijk onderzoek

Er dient een volledig lichamelijk onderzoek plaats te vinden met speciale aandacht voor [Nicolino 2004; Ogilvy-Stuart 2004; Claahsen-van der Grinten 2008; Low 2003]:

- Biometrie (gewicht, lengte en schedelomtrek) incl. verhoudingen
- Lokalisatie gonaden (indien mogelijk)
- Beschrijven en opmeten uitwendig genitaal (phallus, labioscrotaal wallen, urethra-positie) en vastleggen volgens Prader-indeling (zie figuur 1 en tabel 3)
- Slijmafscheiding uit vaginaopening (wijst op aanwezigheid uterus)
- Dysmorphieën (evt. ook bij ouders nakijken)
- Huid: pigmentatie van scrotum, labia, tepels
- Bloeddruk

Zowel dysmorphieën als het genitaal dienen fotografisch vast gelegd te worden (in meerdere richtingen !).

Figuur 1. Prader-stadiëring: Verschillende stadia van virilisatie volgens Prader

Graad I: vrouwelijk met iets vergrote clitoris; **graad II:** vergrote phallus met posterieure fusie van de labioscrotale wallen, zonder urogenitale sinus; **graad III:** significant vergrote phallus met vrijwel complete fusie van de labioscrotale wallen en de aanwezigheid van een urogenitale sinus met perineale opening; **graad IV:** phallus met complete fusie van de labioscrotale wallen en een urogenitale sinus met opening aan de ventrale basis van de phallus; **graad V:** goed ontwikkelde phallus met complete fusie van de labioscrotale wallen en een urogenitale sinus met opening op de schacht of de glans van de phallus. [Prader 1954]

Tabel 3. Normaalwaarden genitalia externa

Normaalwaarden man	Gestreckte penislengte cm (sd)	Testisvolume ml	Referentie
A term	3,5 (0,4)	0,52	[Feldman 1975; Schonfield 1942]
0-5 maanden	3,9 (0,8)	0,52	[Massa 1997; Schonfield 1942; Zachmann 1974]
6-12 maanden	4,3 (0,8)	-	[Massa 1997]
1-2 jaar	4,7 (0,8)	-	[Massa 1997]
Volwassen	13,3 (1,6)	16,5-18,2	[Massa 1997; Schonfield 1942; Zachmann 1974]
Normaalwaarden vrouw	Clitorislengte mm (sd)	Clitorisbreedte mm (sd)	Referentie
A term	4,0 (1,2)	3,3 (0,8)	[Oberfield 1989]
Volwassen	19,1 (8,7)	5,5 (1,7)	[Lloyd 2005]

d. Chromosomenonderzoek (karyotypering en moleculaire cytogenetica)

Bij een afwijkend/ambigu genitaal in combinatie met meerdere aangeboren afwijkingen en dysmorphieën (anders dan gebruikelijk bij Turner syndroom, zie hoofdstuk 4):

2

- voor een snelle chromosomale geslachtsbepaling: fluorescente-in-situ hybridisatie (FISH) van 30 interfasekernen met centromeerprobes voor het X- en het Y-chromosoom⁷ of Q-F PCR dan wel PCR van SRY⁸

3

- indien geen verdenking bestaat op een syndroom waarvoor gericht DNA-diagnostiek⁹ mogelijk is, bij voorkeur arrayCGH met een resolutie van tenminste 200 kb¹⁰ of anders routine karyotypering: 5 metafasen analyseren en totaal 30 metafasen tellen¹¹

Geïsoleerd ambigu genitaal:

2

- voor een snelle geslachtsbepaling: fluorescente-in-situ hybridisatie (FISH) van 30 interfasekernen met centromeerprobes voor het X- en het Y-chromosoom⁷ of Q-F PCR dan wel PCR van SRY⁸

2

- ter uitsluiting mozaïek geslachtschromosomale afwijking: FISH van 100 interfasekernen met centromeerprobes voor het X- en voor het Y-chromosoom
- routine karyotypering: 5 metafasen analyseren¹¹

3

- indien bij voorgaande en verdere moleculaire diagnostiek geen verklaring wordt gevonden dient FISH-onderzoek in een tweede weefsel (wangslimvlies of huid) en arrayCGH met een resolutie van tenminste 200 kb overwogen te worden¹⁰.

Complete sex reversal:

Dit is neonataal alleen een toevallsbevinding omdat uitwendig geslacht niet klopt met het prenatale karyotype of omdat om een andere reden karyotypering werd verricht.

2

- Allereerst dient verwisseling uitgesloten te worden.
- 46,XX jongen: FISH met SRY probe (indien eerste 10 cellen geen signaal: doortellen tot 100 cellen, ev. ook in wangslimvlies ter uitsluiting 46,XX/46,XY mozaïek), of SRY-PCR.

2

- 46,XY meisje: FISH met SRY probe (10 cellen) of SRY-PCR, indien negatief DNA-onderzoek (zie g.)

3

- Indien FISH en DNA-onderzoek (zie g.) geen aanknopng geeft: arrayCGH met een resolutie van tenminste 200 kb [Silfhout 2009, Ledig 2010].

Bij hypospadie met één- of tweezijdig cryptorchisme, hypospadie met kleine (qua lengte en/of diameter) penis en bij alle perineale en scrotale hypospadieën:

2

- 5 cellen karyotyperen en 100 cellen FISH met SRY-probe en X-centromeer.
- Indien geen verdenking bestaat op een syndroom waarvoor gericht DNA-diagnostiek mogelijk is: arrayCGH met een resolutie van tenminste 200 kb.

3

⁷ I.p.v. centromeer Y kan ook een SRY-probe gebruikt worden. Bij gebruik centromeerprobe Y dient bij XX-jongen en XY-meisje altijd alsnog een SRY-probe gebruikt te worden.

⁸ Een SRY-deletie of SRY-translocatie op X worden als zodanig niet gedetecteerd met SRY-PCR, maar geven ook geen syndromaal onduidelijk geslacht, maar een discrepantie tussen geslacht bij geboorte en bevinding bij (prenataal) chromosomenonderzoek. Desgewenst kan MLPA i.p.v. FISH of PCR plaats vinden.

⁹ Bijvoorbeeld campomele dysplasie, Smith-Lemli-Opitz syndroom (verhoogd 7-dehydrocholesterol), etc (zie paragraaf g)

¹⁰ Zie van Silfhout 2009 en Ledig 2010

¹¹ Met name letten op: X, Y, 9p24.3, 9q33.3, 10q25q26, 11p13

Kiemceltumoren:

Voor nadere diagnostiek in het kader van risico op kiemceltumoren zie hoofdstuk 5.

Uitslagtermijn:

Er moet altijd gestreefd worden naar snelle duidelijkheid over het geslacht van het kind. Niet in alle situaties zal het chromosomenonderzoek even urgent zijn. Maar bij een pasgeborene met twijfels over het geslacht dient bij voorkeur binnen 1, uiterlijk binnen 2 werkdagen na ontvangst van een bloed- of wangslijmvliesmonster een voorlopige FISH of PCR-uitslag bekend te zijn¹². Bij onduidelijk geslacht kan eventueel ook karyotypering op kort-gekweekt bloed plaats vinden.

Bij een pasgeborene met twijfels over het geslacht dient uiterlijk binnen 2 werkdagen na ontvangst van het materiaal tenminste een FISH of PCR-uitslag bekend te zijn.

De andere chromosomale onderzoeken (specifieke FISH en arrayCGH) en het eventueel inzetten van DNA-onderzoek zijn afhankelijk van de overige bevindingen (zie stappenplan en tabel 5). Voor de uitslagtermijnen van het (overig) chromosomen-, array- en FISH-onderzoek gelden landelijke richtlijnen [Mellink 2003,2008]:

- cytogenetisch onderzoek: <http://www.nvhg-nav.nl/page.aspx?page=vkglcommissies>
- DNA-diagnostiek: <http://www.dnadiagnostiek.nl>

e. Beeldvormend onderzoek

Echografisch onderzoek voor:

- lokalisatie en morfologie van de gonaden, uterus, utriculuscyste
- morfologie nieren en bijnieren (Denys-Drash, AGS)

Een gevulde blaas is hierbij een voorwaarde. Zonodig na drinken de echo herhalen.

2

Echo-onderzoek dient binnen 2 dagen post partum plaats te vinden omdat de uterus in de eerste dagen nog gestimuleerd is door expositie aan maternale oestrogenen en in die fase gevisualiseerd kan worden. [Claahsen-van der Grinten 2008]

Een normale grootte van de bijnieren sluit een adrenogenitaal syndroom *niet* uit.

Bij uitzondering kan een genitogram (contrastinloopfoto) gemaakt worden om de aanwezigheid van een uterus vast te stellen, eventueel samen met een scopie door de kinderuroloog.

Echo-onderzoek van het inwendig urogenitaal systeem dient binnen 2 dagen post partum plaats te vinden.

Bij een gedisproportioneerde pasgeborene of verdenking skeletdysplasie dient een babygram gemaakt te worden.

Bij verdenking op een syndroom dient op geleide van symptomen verder gericht (beeldvormend) onderzoek van hersenen, hart, nieren, ogen, etc. plaats te vinden.

¹² Geaccordeerd tijdens Landelijk Overleg Cytogenetici dd. 18-03-2009

f. Endocrinologisch en biochemisch onderzoek

Binnen 4-6 uur post partum moet het plasma testosteron gemeten worden [Claahsen-van der Grinten 2008], evenals ACTH/cortisol en renine. De bijniersteroiden kunnen pas na 48 uur bepaald worden (zie tabel 4). Indien testosteron niet direct bepaald wordt, dan kan dit pas weer op de leeftijd van 6 weken (minipuberteit door toename LH/FSH), met zo nodig herhalen op 3 maanden, of door middel van een HCG-test (Pregnyl).

1

Bij ambigu genitaal moeten binnen 4-6 uur post partum plasma testosteron, ACTH/cortisol en renine bepaald worden. De bijniersteroiden dienen na 48 uur bepaald te worden.

Daarnaast dient urineonderzoek plaats te vinden voor het bepalen van de elektrolytenconcentraties. Zoutverlies is echter pas meetbaar vanaf de 8^e dag na de geboorte. In de periode daarvoor is er gewichtsverlies van de neonaat door gecombineerd zout- en vochtverlies.

Het endocrinologisch onderzoek is onder te verdelen in drie verschillende sets (tabel 4). De te verrichten bepalingen zijn afhankelijk van het karyotype, maar er dient altijd zo snel mogelijk post partum bloed afgenomen te worden voor de testosteronbepaling (zie boven).

Tabel 4. Endocrinologisch onderzoek¹³

Set A (bijniersteroiden) ¹⁴	Set B (bijnier algemeen)	Set C (testikel)
17-OH progesteron	ACTH/cortisol	progesteron
compound S (11-deoxycortisol)	renine	testosteron
17OH pregnenolon		DHT
Androsteendion		inhibine B
DHEA		AMH

Testosteron (< 6uur post partum) en set B (z.s.m. post partum)

Bij 46,XX:

- set A (zie tabel 4). Niet eerder dan 48-72 uur post partum¹⁵

Bij 46,XY:

- set A (zie tabel 4). Niet eerder dan 48-72 uur post partum¹¹

Als bijnierprobleem is uitgesloten:

- Op tijdstip 6-8 weken post partum: LH, FSH en set C.
- Op later tijdstip: pregnylstimulatie test (1500^E Pregnyl IM) met na 72 uur bepaling set C (zie tabel 4).

¹³ normaalwaarden kunnen variëren per laboratorium en worden daarom hier niet vermeld.

¹⁴ alle steroidbepalingen dienen gechromatografeerd te worden uitgevoerd. Kan zowel in bloed als 24-uurs urine

¹⁵ vanwege de bijmenging van placentaire steroiden dient dit onderzoek niet eerder plaats te vinden

g. DNA-onderzoek

Het uit te voeren DNA-onderzoek is sterk afhankelijk van de klinische presentatie. In Tabel 5 worden alle tot nu toe bekende genen genoemd die gepaard kunnen gaan met een onduidelijk geslacht. Op basis van de bevindingen bij (familie-)anamnese, lichamelijk en beeldvormend onderzoek, karyotypering en endocrinologisch onderzoek én op basis van prevalentie moet een prioritering in het uit te voeren DNA-onderzoek worden aangegeven. Zie ook het stappenplan (blz.21).

Omdat DNA-onderzoek in de regel pas wordt ingezet nadat het karyotype bekend is en er een indruk is over syndromale dan wel geïsoleerde genitale afwijking, is tabel 5 hiernaar ingedeeld.

Voor een overzicht van de laboratoria waar het betreffende DNA-onderzoek plaats vindt zie: www.dnadiagnostiek.nl en www.Orpha.net (Europa). Hier zijn ook de benodigde aanvraagformulieren te downloaden.

Tabel 5. Genen betrokken bij DSD

De indeling in deze tabel is gebaseerd op chromosomaal geslacht en presentatie (anders dan tabel 2 waarbij de indeling gebaseerd is op etiologie). Ook de oorzaken voor een volledige discrepantie tussen het uitwendig en chromosomaal geslacht zijn hier opgenomen (in strikte zin dus geen ambigu genitaal). Voor bepalen volgorde DNA-onderzoek: zie ook de stappenplannen (vanaf blz.20). Deze tabel is uiteraard een samenvatting, voor details zie OMIM en literatuur.

2-3

Omdat het veelal om zeldzame aandoeningen gaat is de mate van bewijs beperkt (met name wat betreft prevalentie), met uitzondering van de frequent voorkomende vormen van adrenogenitaal syndroom.

De in grijs aangegeven genen zijn minder relevant, maar opgenomen ter completering.

A. 46,XX DSD, syndromaal¹⁶

Gen OMIM ¹⁷	Bij verdenking op, Presentatie	Prevalentie (indien bekend) en erfmodus ¹⁸
POR *124015	<i>Bijnierinsufficiëntie met botafwijkingen (Antley-Bixler)</i> Virilisatie, abnormale huidpigmentatie passend bij AGS, craniosynostose, radio-ulnaire synostose, gebogen femora; maternale virilisatie Op geleide van steroïdonderzoek ¹⁹ (p450c17 en p450c21 deficiëntie) [Krone 2009]	AR
RSP01 *609595 #610644	<i>palmoplantaire hyperkeratose met squameus celcarcinoom en XX-sex reversal</i> Ovarieel en testiculair weefsel (ovotestis), uitwendig geviriliseerd genitaal tot complete sex reversal, palmoplantaire hyperkeratose, staar, gehoorsverlies	AR

¹⁶ Syndromen met als enig kenmerk micropenis/hypogonadotroop hypogonadisme zijn hier niet opgenomen, zie daarvoor tabel 7, blz.32 en stappenplan II, blz.24 (in tabel 5 alleen syndromen met onduidelijk geslacht of discrepantie uitwendig-chromosomaal geslacht)

¹⁷ Zie <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>

¹⁸ AR = autosomaal recessief; AD=autosomaal dominant, dn = (altijd) de novo; XR = X-gebonden recessief; XsD = X-gebonden semi-dominant (minder ernstig klinisch beeld in draagster vrouwen)

¹⁹ In bloed of 24 uren urine

H19 *103280 #180860	<i>Silver-Russell syndroom (m.n. door H19 hypomethylatie)</i> uterus- en bovenste deel vagina-aplasie, prenatale groeiretardatie, kleine lengte [Bruce 2009]	dn (incidenteel chromosomaal)
BBS1 t/m BBS14 #209900	<i>Bardet-Biedl syndroom</i> Vagina-atresie ± uterusafwijking, hydrometrocolpos (soms al prenataal), polydactylie. Later: nierafwijkingen, retinitis pigmentosa, obesitas. MR	AR
MKKS= BBS6 #236700	<i>McKusick-Kaufman syndroom</i> Vagina-atresie, hydrometrocolpos, polydactylie, congenitale hartafwijking (onderscheid met BBS neonataal niet mogelijk)	AR
HOXA13 *142959	<i>Hand Foot Genital syndroom</i> <i>Uterus septum of bicornis, hand- en voetafwijkingen (vaak subtiel)</i>	zeldzaam, AR

B. 46,XX DSD, aanwijzingen voor adrenogenitaal syndroom²⁰

Gen OMIM	<i>Bij verdenking op, Presentatie</i>	Prevalentie (indien bekend) en erfmodus
CYP21A2 +201910	<i>Adrenogenitaal syndroom</i> Mild-ernstige virilisatie, abnormale huidpigmentatie passend bij AGS, "salt-loosing", premature menarche/pubarche Op geleide van steroïdonderzoek (21-hydroxylase deficiëntie) [Claahsen-van der Grinten 2007]	90% van AGS, AR
CYP11B1 *610613	<i>Adrenogenitaal syndroom</i> Mild-ernstige virilisatie, abnormale huidpigmentatie passend bij AGS, "salt-loosing" en hypertensie, premature menarche/pubarche Op geleide van steroïdonderzoek (11-b hydroxylase deficiëntie) [Krone 2009]	AR
HSD3B2 +201810	<i>Adrenogenitaal syndroom</i> Normaal of milde virilisatie, abnormale huidpigmentatie passend bij AGS, premature menarche Op geleide van steroïdonderzoek (3-b hydroxysteroid dehydrogenase deficiëntie)	AR
STAR *600617	<i>Congenitale lipoïde bijnierhyperplasie</i> Bij XX alleen zoutverlies en Addison, geen abnormale geslachtelijke ontwikkeling	AR
CYP11A1 +118485	<i>Cholesterol side chain cleavage-deficiëntie</i> Bij XX geen abnormale geslachtelijke ontwikkeling	AR

C. 46,XX DSD, overig

Gen OMIM	<i>Bij verdenking op, Presentatie</i>	Prevalentie (indien bekend) en erfmodus
SRY *480000 #400045	<i>XX-male</i> Translocatie SRY naar X-chromosoom Uitblijvende puberteit, kleine testikels, vrouwelijke vetverdeling	chromosomaal dn
WNT4 *603490	<i>Dominant-negatieve mutatie:</i> Virilisatie en regressie buizen van Müller, (bij)nierafwijkingen	zeldzaam dn
CYP19A1 +107910	<i>Aromatase-deficientie</i> Virilisatie moeder, ambigu genitaal bij geboorte, amenorroe, variabele borstontwikkeling, polycysteuze nieren	AR

²⁰ In de hielprik wordt o.a. gescreend op AGS. Indien de klinische presentatie van de patiënt echter de diagnose AGS doet vermoeden is het niet wenselijk te wachten totdat de uitslag van de hielprik bekend is.

SOX9 (*608160)	<i>Duplicatie SOX9</i> ²¹ Sex reversal (in- en uitwendig)	dn
LHCGR +152790	<i>Inactiverende mutatie LH receptor</i> <i>Primaire amenorrhoe, verhoogd LH, laag plasma 17-b-oestradiol, geen ambigu genitaal</i>	AR
CYP17A1 *609300	<i>17-α-hydroxylase deficiëntie</i> <i>Amenorrhoe, POF, hypertensie, geen ambigu genitaal [Krone 2009]</i>	zeldzame vorm CAH ($\pm 1\%$), AR

D. 46,XY DSD, syndroomaal

Gen OMIM	<i>Bij verdenking op,</i> Presentatie	Prevalentie (indien bekend) en erfmodus
POR *124015	<i>Bijnierinsufficiëntie met botafwijkingen (Antley-Bixler)</i> Ondervirilisatie of abnormale pigmentatie passend bij AGS, craniosynostose, radio-ulnaire synostose, gebogen femora; maternale virilisatie. Op geleide van steroïdonderzoek (p450c17 en p450c21 deficiëntie) [Krone 2009]	AR
DHCR7 *602858	<i>Smith-Lemli-Opitz syndroom</i> Ondervirilisatie, MCA, microcephalie, syndactylie teen II-III Verhoogd 7-dehydrocholesterol [Jira 2003]	AR
HOXA13 *142959	<i>Hand Foot Genital syndroom</i> Hypospadie, bifide scrotum, hand- en voetafwijkingen (vaak subtiel) Neonataal makkelijk te missen	AR
SOX9 *608160	<i>Campomele dysplasie (mutatie/deletie)</i> Complete sex reversal (varianties van Wolfse en Mullerse structuren), skeletdysplasie met verkromming van de lange pijpbeenderen, letaal	AD dn
DMRT #154230	<i>Distale deletie 9p syndroom</i> Normaal genitaal tot complete sex reversal, \pm Mullerse structuren, mentale retardatie, faciale dysmorfieën, trigonocephalie (afhankelijk van grootte deletie)	chromosomaal
WT1 *607102 #194080	<i>Denys-Drash syndroom / deletie 11p13 (WAGR syndroom)</i> Hypospadie, cryptorchisme, soms uitwendig vrouwelijk, Wilms tumor, nierfunctiestoornis (meestal voor 2e jr) WAGR tevens: aniridie en MR (WT1- en PAX6-deletie) [Fischbach 2005]	AD / chromo- somaal, beide vaak dn
ATRX *300032 #301040	<i>Alfa-thalassemie mentale retardatie syndroom</i> Cryptorchisme, hypospadie tot ambigu genitaal/sex reversal, faciale dysmorfieën, microcefalie, ernstige MR, mild HbH	XR
ARX *300382	<i>X-linked lissencephalie met ambigu genitaal</i> Micropenis/ambigu genitaal, neonatale epilepsie, chronische diarree, temperatuur regulatiestoornis, ernstige MR, lissencephalie, corpus callosum agenesie	XsD
H19 *103280 #180860	<i>Silver-Russell syndroom (m.n. door H19 hypomethylatie)</i> ambigu genitaal, cryptorchisme, testiculaire dysgenesie, dysmorfieën, prenatale groeiretardatie, kleine lengte [Bruce 2009]	dn (incidenteel chromosomaal)

²¹ Loss-of-function mutaties in SOX9 geven bij 46,XX wel campomele dysplasie, maar geen DSD

E. 46,XY DSD, aanwijzingen voor adrenogenitaal syndroom²²

Gen OMIM	Indicatie: Bij verdenking op	Prevalentie (indien bekend) en erfmodus
HSD3B2 +201810	<i>Adrenogenitaal syndroom</i> Normaal of ondervirilisatie (hypospadie, bifide scrotum), abnormale huidpigmentatie passend bij AGS, premature pubarche Op geleide van steroidonderzoek (3-b hydroxysteroid dehydrogenase deficiëntie) [Moisan 1999, Krone 2009]	zeldzaam AR
STAR *600617	<i>Congenitale lipoïde bijnierhyperplasie</i> Normaal of ambigue genitalia, zoutverlies	AR
CYP11A1 +118485	<i>Cholesterol side chain cleavage-deficiëntie</i> Uitwendig vrouwelijke genitalia met afwezige Mullerse structuren, wel testes, variërend tot hypospadie en cryptorchisme, geen puberteit, zoutverlies (bijnierinsufficiëntie, corpus callosum agenesie, tethered cord, kleine lengte, hypothyreoidie)	AR
CYP21A2 +201910	<i>Adrenogenitaal syndroom</i> Abnormale huidpigmentatie passend bij AGS, "salt-loosing", geen ambigu genitaal, premature pubarche, Op geleide van steroidonderzoek (21-hydroxylase deficiëntie) [Krone 2009]	90% van alle AGS AR
CYP11B1 *610613	<i>Adrenogenitaal syndroom</i> Abnormale huidpigmentatie passend bij AGS, "salt-loosing" en hypertensie, geen ambigu genitaal, premature pubarche Op geleide van steroidonderzoek (11-b hydroxylase deficiëntie) [Krone 2009]	AR

F. 46,XY DSD, overig

Gen OMIM	Indicatie: Bij verdenking op	Prevalentie (indien bekend) en erfmodus
SRY *480000 #400044	<i>XY-female, puntmutaties of deleties</i> Uit- en inwendig vrouwelijk, gonadale dysgenese, uitblijvende puberteit, "streak gonads". Bij puntmutaties soms onvolledige sex reversal. Incidenteel mozaïek mutatie bij vader beschreven.	1% van XY met ambigu genitaal, 15% van XY met complete sex reversal ²³ dn
NR5A1 (SF1) +184757 #612965	<i>Mutaties en deleties, steroidogenese factor-deficiëntie</i> Sex reversal +/- Müllerse structuren +/- verlaagd testosteron (<i>altijd</i> inzetten bij verdenking AIS zonder mutatie in AR). Kan overerven via niet-aangedane moeder	13% van alle XY-DSD ²⁴ AD XY-limited

²² In de hielpruk wordt o.a. gescreend op AGS. Indien de klinische presentatie van de patiënt echter de diagnose AGS doet vermoeden is het niet wenselijk te wachten totdat de uitslag van de hielpruk bekend is

²³ Gebaseerd op analyse bij 400 personen met XY DSD of complete sex reversal

²⁴ NR5A1: Bij verdenking op partiele androgeen ongevoeligheid (PAIS) zonder mutatie in AR-gen, tenminste 10% mutatie of deletie van dit gen [van Silfhout, 2009]

AR *313700	<i>Androgeenon gevoeligheid</i> Extern vrouwelijk (liesbreuk, clitoromegalie) of ambigu genitaal, zonder uterus. Normaal of verhoogd testosteron <i>geen</i> frequente oorzaak geïsoleerde/familiaire hypospadie	1:50.000, XR mutatie- detectie: CAIS ±95% PAIS ±40%
DHH *605423	<i>XY-gonadale dysgenese ± neuropathie</i> Partieel (heterozygote mutaties) tot volledige sex reversal (homozygote of compound heterozygote mutaties) incl. uterus en streak gonaden. ± neuropathie	20% van XY met amb. genitaal (AD), 50% van XY met sex reversal (AR) ²⁵
NROB1 (DAX1) #300018	<i>Duplicatie</i> Ambigu of vrouwelijk in- en uitwendig genitaal, MR e.a. symptomen afhankelijk van grootte duplicatie	Zeldzaam chromosomaal meestal dn
WNT4 ²⁶ *603490	<i>Duplicatie of gain-of-function mutatie</i> Sex reversal via DAX1 up-regulatie	zeldzaam
LHCGR +152790	<i>Inactiverende mutatie LH receptor</i> Vrouwelijk of ambigue genitalia, hypospadie cryptorchisme, geen puberteit, Leydig cell hypoplasie, (nl Sertoli dus AMH) geen uterus <i>Activerende mutatie LH receptor</i> pubertas praecox	AR AD, XY- limited
CYP17A1 *609300	17- α -hydroxylase deficiëntie Ambigue of vrouwelijke genitalia, geen puberteit, hypertensie, hypokaliemie	AR
HSD17B3 *605573	<i>17-β-HSD type III</i> Vrouwelijk of ambigu genitaal, vaak aanzienlijke virilisatie tijdens puberteit. Bij endocrinologisch onderzoek: verlaagde testosteron/ androsteendion ratio. Inzetten bij personen met AIS waarbij geen mutatie in AR of NR5A1 is gevonden.	incidentie 1:147.000 AR
SRD5A2 *607306	<i>5-α-reductase type II-deficiëntie</i> Vrouwelijk extern genitaal, aanzienlijke virilisatie tijdens puberteit Ook pseudovaginale perineoscrotale hypospadie Verhoogde testosteron/dihydrotestosteron ratio	AR
AMH *600957	<i>Anti-Müllerian hormoon deficiëntie</i> Müllerse structuren, uitwendig normaal mannelijk, soms cryptorchisme en hernia inguinalis [Josso 2005]	AR
AMH-R *600956	<i>Anti-Müllerian hormoon receptor deficiëntie</i> Müllerse structuren bij normaal mannelijk uitwendig genitaal [Josso 2005]	AR
MAMLD1 *300120	<i>Mutations in mastermind-like domain containing 1</i> Hypospadie	ws. laag ²⁷
CBX2 *602770	<i>Loss of function van chromobox homolog 2</i> Complete sex reversal inclusief uterus en ovaria [Biaison-Lauber 2009]	AR
TSPYL1 *604714	<i>Mutations in TSPY-like</i> Afwijkingen van testiculaire ontwikkeling en functie, variërend van complete sex-reversal (gonadale dysgenese) tot azoöspermie [Vinci 2009]	AD dn

²⁵ Canto et al 2005²⁶ WNT4 mutatie analyse d.m.v. sequentie analyse opgezet in Rotterdam. Tot op heden DNA van enkele personen gescreend, geen afwijkingen gevonden²⁷ In Rotterdam 23 hypospadie patiënten getest met normaal karyotype, normale testosteron spiegels, geen AR mutatie (SSCP analyse). Geen pathogene mutaties gevonden

h. Psychosociale begeleiding

Het is van groot belang dat ouders van alle patiënten met een DSD worden verwezen naar een psycholoog van het DSD-team, dit dient zo snel mogelijk na vaststelling van het onduidelijke/afwijkende geslacht te gebeuren.

Ouders dienen zo snel mogelijk na vaststelling van een ambigu genitaal bij hun kind verwezen te worden naar een psycholoog/psychosociaal werker van het DSD-team.

i. Stappenplannen

Onderstaande stappenplannen dienen uitgevoerd/gecoördineerd te worden door een DSD-team (zie bijlage B2).

Bij deze stappenplannen wordt uit gegaan van 3 verschillende klinische presentaties (I, II en III) bij de pasgeborene (bij een presentatie op oudere leeftijd zie hoofdstuk 4). Uiteraard kan dezelfde etiologische diagnose tot verschillende klinische presentaties leiden.

Waar van toepassing vinden in het stappenplan terugverwijzingen naar eerder omschreven diagnostiek plaats.

Indeling klinische presentatie:

- I Pasgeborene met ambigu genitaal (zie definitie blz.9)
- II Micropenis (zie tabel 3)
- III Discrepantie tussen uitwendig genitaal en prenataal karyotype

I Pasgeborene met ambigu genitaal

STAP 1:

Direct doen:

1. anamnese met speciale aandacht voor (zie ook blz.10):
 - a. medicatie/virilisatie in zwangerschap (androgenen)
[indien androgenen en XX → oorzaak; indien maternale virilisatie → zie tabel 5]
 - b. familieanamnese:(AGS, AIS, consanguiniteit, ongewenst kinderloze paren, etc.)
[bij vermoeden familiale aandoening hier onderzoek op in zetten, zie tabel 5, en denk bij ongewenste kinderloosheid aan X-linked AIS en minimaal PAIS]
2. lichamelijk onderzoek (zie ook blz.10):
 - a. syndromaal²⁸: aanwijzingen voor SLO, campomele dysplasie, etc (zie tabel 5)
→ 7-dehydrocholesterol (SLO), gericht DNA-onderzoek en chromosomenonderzoek incl. array CGH
 - b. pigmentatie passend bij AGS
→ onderzoek AGS inzetten

klinische foto's in 2 richtingen van externe genitalia en dysmorfieën
3. chromosomenonderzoek
zoals beschreven op blz.12, met chromosomale geslachtsbepaling ≤2 werkdagen
4. beeldvorming (echo) gonaden, inwendig genitaal, (bij)nieren
zoals beschreven op blz.13 binnen 2 dagen
5. testosteron (binnen 4-6 uur post partum), set B (zie tabel 4), electrolyten in urine
zoals beschreven op blz.14
6. psychosociale begeleiding regelen

→ **Op basis van bevindingen keuze maken bij STAP 2**

²⁸ Bij syndromaal uiterlijk tevens: echo hart, consult oogarts, skeletstatus op indicatie, etc.

STAP 2: op basis van karyotype en inwendig genitaal

NB1: het aantonen of uitsluiten van een uterus kan erg moeilijk zijn. Indien geen uterus aantoonbaar is, dan kan het zinvol zijn ook de stappen onder Ia of Ic te volgen

NB2: Bij syndromaal uiterlijk, eerst aanvullend onderzoek zoals aangegeven bij stap 1.

Ia Virilisatie met XX karyotype en Müllerse structuren

NB. De aan- of afwezigheid van de uterus is niet altijd met zekerheid vast te stellen. Bovendien zijn aandoeningen beschreven waarbij Müllerse structuren zowel aan- als afwezig kunnen zijn. Deze indeling is vooral richtinggevend bedoeld voor de diagnostiek.

1. Endocrinologisch onderzoek: set A en set B, zie tabel 4 (set B z.s.m. post partum) (Set A niet eerder dan 48-72 uur post partum i.v.m. bijmenging placentaire steroïden [Garagorri 2008])
→ DNA: *CYP21A2*, *CYP11B1*, *HSD3B2*, *POR* (zie tabel 5) op basis van biochemie
2. syndromaal → *POR* (botafwijkingen; Antley-Bixler), *HOXA13* (Hand Foot Genital syndrome), *RSPO1* (palmaire plantaire hyperkeratose, squameus celcarcinoom)
3. *CYP19A1* (aromatasedeficiëntie, maternale virilisatie tijdens zwangerschap, cave andere oorzaken voor maternale virilisatie, zie stap 1)

Ib Virilisatie met XX karyotype zonder Müllerse structuren

1. FISH voor *SRY*, indien negatief: duplicatie *SOX9*, *WNT4* mutatie uitsluiten
2. syndromaal → *RSPO1* (palmaire plantaire hyperkeratose, squameus celcarcinoom), *H19* (groei retardatie, Silver-Russell)

Ic Ondervirilisatie met XY karyotype en aanwezige uterus/Müllerse structuren

NB1. Dit betekent een vroeg-embryonaal defect, zie ook bijlage B1 (te weinig testosteron én te weinig AMH).

NB2. Testosteron (<6 uur post partum) en set B (z.s.m. post partum), zie tabel 4, zijn al bepaald in stap 1.

1. *SRY* deletie uitsluiten (bij niet-syndromaal uiterlijk en laag testosteron)
2. Endocrinologisch onderzoek:
set A tabel 4 (niet eerder dan 48-72 uur post partum i.v.m. bijmenging placentaire steroïden [Garagorri 2008])
3. Als bijnier-probleem is uitgesloten:
Op tijdstip 6-8 weken post partum: LH, FSH en set C.
Op later tijdstip: pregnylstimulatie test (1500^E Pregnyl IM) met na 72 uur bepaling set C (zie tabel 4).

4. Op basis van steroidonderzoek e.a. symptomen:
- Geen andere symptomen en geen *SRY*-deletie: *SRY*-mutatie, *NROB1(DAX1)* duplicatie, *NR5A1*-mutatie of -deletie, *DHH* mutatie (\pm neuropathie), *WNT4* duplicatie. *CBX2*-mutatie
 - Bijnierinsufficiëntie: *WNT4* duplicatie (dup1p35, MR)
 - Skeletafwijkingen: *SOX9* mutatie (campomele dysplasie)
 - Nierziekten (proteïnurie): *WT1* mutatie
 - MR: *DMRT* (9p24.3 deletie)

Id Normale virilisatie met XY karyotype en aanwezige uterus/Müllerse structuren

Een normaal/hog testosteron met uitwendig mannelijk genitaal en aanwezige uterus presenteert zich **niet** bij geboorte als onduidelijk geslacht. De uterus wordt vaak bij toeval gevonden bij OK i.v.m. niet ingedaalde testikels of liesbreuk:

- AMH en inhibin bepalen \rightarrow DNA: *AMH* of *AMHR* mutatie

Ie Ondervirilisatie met XY karyotype en geen Müllerse structuren aantoonbaar

NB1. Dit betekent geen testosteronproductie of -effect, wel AMH, zie bijlage B1.

NB2. Testosteron (<6 uur post partum) en set B (z.s.m. post partum), zie tabel 4, zijn al bepaald in stap 1.

1. Endocrinologisch onderzoek:
 - set A tabel 4 (niet eerder dan 48-72 uur post partum i.v.m. bijmenging placentaire steroiden [Garagorri 2008])
2. Als bijnier-probleem is uitgesloten (zie paragraaf 3f):
 - Op tijdstip 6-8 weken post partum: LH, FSH en set C.
 - Op later tijdstip: pregnylstimulatie test (1500^E Pregnyl IM) met na 72 uur bepaling set C (zie tabel 4).
3. laag testosteron
 - normaal/hog ACTH: congenitale bijnierafwijking (*STAR*, *CYP11A1*, *HSD3B*, *CYP17A1*, *SRD5A2*, Leydig cel hypoplasie (*LHCGR*), steroid-biosynthese stoornis (bij dysmorfieën: denk aan SLO \rightarrow *DHCR7*)
 - Skeletafwijkingen: *SOX9*, *POR*
 - *NR5A1*-mutatie of -deletie
 - *HSD17B3* (verlaagde testosteron/androstenedion ratio)
 - *WT1* mutatie (nierfunctiestoornis, proteïnurie)
 - *ATRX* gen (α -thalassemie, MR (Xq13.3-deletie))
 - *ARX* gen (X-linked lissencephalie, epilepsie, temperatuur instabiliteit)
 - *DMRT1* (MR (9p24.3 deletie))
 - *H19* (groeiretardatie, Silver-Russell)
 - *TSPYL1*

4. normaal/hog testosteron:
- AIS (*AR* mutatie)
 - *NR5A1*-mutatie of -deletie
 - *SRD5A2* (5-alfa-reductase deficiëntie)
 - Hand/voetafwijkingen: *HOXA13*
 - Alleen hypospadie: *MALDI*

NB. Bij verdenking androgeenongevoeligheids syndroom (AIS) altijd inzetten (in deze volgorde): *AR* (inclusief MLPA), *NR5A1* (inclusief MLPA), *HSD17B3*, *SRD5A2*, alleen op geleide endocrinologie.

II Micropenis

Definitie: zie tabel 3, ondergrens 2,5 cm (<-2sd) [Tuladhar 1998]. Ook de diameter van de glans is verminderd.

STAP 1:

Direct doen:

1. anamnese met speciale aandacht voor familieanamnese (puberteitsstoornissen, infertiliteit, anosmie)
2. lichamelijk onderzoek
 - a. syndromaal → zie I
 - b. aanwijzingen voor incomplete sex-reversal → zie I
3. chromosomenonderzoek: chromosomale geslachtsbepaling ≤ 2 werkdagen
 - a. XX → zie III
4. steroïdonderzoek (testosteron direct post partum, overige na 4-6 weken), elektrolyten en panhypopituitarisme uitsluiten (dan ook failure-to-thrive, hypoglycemieën, icterus, leverfunctiestoornissen).

STAP 2: bij 46,XY en geen aanwijzingen voor syndroom of incomplete sex-reversal

1. endocrinologisch onderzoek naar hypogonadotroop hypogonadisme (4-6 weken pp, testosteron, LH/FSH, AMH, inhibin, HCG (Pregnyl-) test)
2. op indicatie DNA: (zie ook hoofdstuk 4 (uitblijven puberteit bij normaal karyotype, m.n. tabel 7, blz.32)
 - *AR* mutatie
 - *SRD5A2*
 - *CYP17A1* (CAH)
 - *LHCGR*
3. aanwijzingen voor hypogonadotroop hypogonadisme: overweeg later onderzoek naar Kallmann syndroom (reuktest, *KALI*, *FGFR1*, *PROK2*, *PROKR2*, etc), sluit Xp terminale deletie uit (met name als er tevens ichthyosis is).

III Discrepantie tussen uitwendig genitaal bij geboorte en bevinding bij prenatale karyotypering

NB. Dit is vrijwel altijd een toevalsbevinding, terugkoppeling met het laboratorium prenatale diagnostiek dient plaats te vinden.

STAP 1:

Direct doen:

1. anamnese met speciale aandacht voor:
 - a. familieanamnese → bij vermoeden familiale aandoening hier onderzoek op in zetten
 - b. ongewenst kinderloze vrouwen in vrouwelijke lijn → denk aan AIS
2. lichamelijk onderzoek
 - a. syndroomaal → zie I
 - b. aanwijzingen voor incomplete sex-reversal → zie I
3. chromosomenonderzoek herhalen
chromosomale geslachtsbepaling ≤ 2 werkdagen
4. beeldvorming (echo) gonaden, inwendig genitaal, (bij)nieren
zoals beschreven op blz.13
5. testosteron
6. psychosociale begeleiding regelen

STAP 2: op basis van karyotype en inwendig geslacht

Let op: syndroomaal zie I

IIIa XX-man

1. uitsluiten *SRY*-translocatie, daarna
2. uitsluiten *SOX9*-duplicatie, *WNT4* mutatie
3. indien bovenstaande normaal en aanwezige uterus, complete virilisatie door AGS²⁹ (en aanverwante stoornissen, zie I) uitsluiten

IIIb XY-vrouw, wel uterus

1. uitsluiten *SRY*-deletie, daarna
2. uitsluiten *SRY*-mutatie, *DAX1*-duplicatie, *NR5A1*-mutatie of -deletie, *DHH* mutatie (neuropathie), *WNT4*-duplicatie. *CBX2*-mutatie

²⁹ Complete virilisatie bij AGS is zeldzaam, maar met name indien er geen gonade palpabel is moet hier rekening mee gehouden worden.

IIIc XY-vrouw, geen uterus

NB. Complete sex reversal is zeldzaam, zie daarom ook de stappen bij I, blz.21

1. Mannelijk steroïdonderzoek (set B en C uit tabel 4, testosteron, LH en FSH 6-8 weken post partum)
Op later tijdstip pregnylstimulatie test met 72 uur later nogmaals set C (zie blz.14)
2. laag testosteron
 - a. normaal/hog ACTH: bijnierprobleem (*STAR*, *CYP11A1*, *HSD3B*, *CYP17A1*, *SRD5A2*) Leydig cel hypoplasie (*LHCGR*)
 - b. *HSD17B3* (verlaagde testosteron/androstenedion ratio)
 - c. *TSPYL1*
3. Normaal/hog testosteron, op basis van steroïdonderzoek:
 - a. AIS (*AR* mutatie)
 - b. *NR5A1*- mutatie of -deletie
 - c. *SRD5A2* (5-alfa-reductase deficiëntie)

4. GENETISCH ONDERZOEK BIJ VERDENKING OP GESLACHTS- CHROMOSOMALE AFWIJKING OP DE KINDERLEEFTIJD EN UITBLIJVENDE OF INCOMPLETE PUBERTEITSONTWIKKELING

Het uitblijven van de puberteitsontwikkeling kan vele oorzaken hebben. De eerste stap in het onderzoek naar de onderliggende oorzaak is echter vrijwel altijd chromosomenonderzoek. Daarom is dit hoofdstuk als volgt ingedeeld:

- a. Indicaties voor onderzoek naar Turner syndroom
- b. Indicaties voor onderzoek naar Klinefelter syndroom
- c. Criteria voor chromosomenonderzoek bij verdenking Klinefelter en Turner syndroom
- d. Diagnostiek bij onverwachte discrepantie tussen uitwendig geslacht en karyotype
- e. Diagnostiek bij uitblijvende puberteit met een normaal karyotype, gevolgd door stappenplan IV.

De syndromale puberteitsstoornissen blijven hier buiten beschouwing, tenzij uitblijvende puberteit een zeer milde uitingsvorm van het syndroom kan zijn.

a. Indicaties voor onderzoek naar (variant) Turner syndroom³⁰ [Donaldson 2006, Dosswell 2006]

1

- pasgeborene: meisje met brede nekplooi (webbing), lymfoedeem op hand- of voetruggetjes, dysmorphieën passend bij Turner syndroom (brede neusbrug, kleine onderkaak, iets afstaande oren, brede thorax met wijde tepelafstand, hypoplastische opgewipte nageltjes), kleine lengte voor zwangerschapsduur, coarctatio aortae of hoefijzernier.
- kinderleeftijd: meisje met onbegrepen kleine lengte (zie ook NVK richtlijn kleine lengte) vaak bij nader onderzoek kenmerken zoals ook bij pasgeborene en cubiti valgi.
- tieners: nog geen menarche op 16-jarige leeftijd, of uitblijven menarche >5 jaar na begin ontwikkeling secundaire geslachtskenmerken, of ondanks vorderende puberteit geen groeiversnelling

b. Indicaties voor onderzoek naar Klinefelter syndroom³¹ [Simpson 2003, Ross 2008, van Rijn 2008]

NB. De klinische kenmerken kunnen subtiel zijn en meestal zal of een combinatie van problemen op de kinderleeftijd of uitblijvende puberteit aanleiding zijn voor chromosomenonderzoek.

1

- pasgeborene: micropenis
- kinderleeftijd: mild vertraagde ontwikkeling (met name van de spraak), onhandig, grotere lichaamslengte dan verwacht o.b.v. familie, met name relatief lange benen

³⁰ Het gaat hier om indicaties voor chromosomenonderzoek. Dit betekent dat genoemde kenmerken niet altijd bij alle meisjes met Turner syndroom aanwezig hoeven te zijn.

³¹ Het gaat hier om indicaties voor chromosomenonderzoek. Dit betekent dat genoemde kenmerken niet altijd bij alle jongens met Klinefelter syndroom aanwezig hoeven te zijn, ze zijn slechts een indicatie dat er sprake zou kunnen zijn van Klinefelter syndroom.

- tieners: jongen met gynaecomastie, kleine testikels en achterblijvende puberteitsontwikkeling (secundaire geslachtenmerken), minder spierontwikkeling en vrouwelijke vetverdeling. Uitblijven puberteitsverschijnselen op 16-jarige leeftijd.
- gedragsproblemen, m.n ADD (attention deficit disorder), autistische kenmerken en initiatief-arm.

c. criteria chromosomenonderzoek bij verdenking Turner of Klinefelter syndroom

Verdenking Turner syndroom

25 cellen tellen en 5 cellen analyseren [Mellink 2003,2008, Wiktor 2009]

1

- 46,XX → klaar, echter bij blijvend sterke verdenking op Turner syndroom kan FISH in wangslimvlies overwogen worden
- 45,X/46,XX
(45,X in > 10% v.d. cellen)
of 45,X/46,XX/47,XXX
(>10% v.d. cellen afwijkend) } → evt. FISH in wangslimvlies (100 interfases) voor specifiekere bepaling graad mosaïcisme
- 46,X,der(X)
en mozaïeken daarvan → klaar (evt. array voor karakterisering³²)
- 45,X/46,XY → zie hfdst 5
- 45,X/46,X,der(Y) → PCR SRY / FISH³³
- 45,X* → FISH in wangslimvlies/
PCR SRY } motivatie zie hfdst 5 (kiemceltumoren)

*Voor argumentatie rond het advies om nader onderzoek te overwegen indien bij routine karyotypering een niet-mozaïek 45,X wordt vast gesteld zie hoofdstuk 5 (kiemceltumoren).

Nadere analyse mozaïeken

Voor nader onderzoek indien bij routine karyotypering een mozaïek XX/XY; X/XY; XX/X,der(Y) en X/X,der(Y) zie hoofdstuk 5 (kiemceltumoren).

Bij sterke verdenking op (mozaïek) Turner en routine 46,XX karyotype of ter nadere analyse van een mozaïek 45,X/46,XX/47,XXX of 45,X/46,XX adviseert de commissie FISH-onderzoek in wangslimvlies, indien dit voor de counseling van belang is. Bekend is dat mozaïeken in gekweekt bloed sterk kunnen afwijken van ongekweekt bloed en andere weefsels zoals fibroblasten en wangslimvlies. De laatste 2 lijken vooralsnog de beste afspiegeling te geven van de situatie in andere weefsels, waarbij wangslimvliesuitstrijk de minste belasting voor patiënt betekent.

2

³² Indien niet duidelijk een i(Xq) dan is nadere karakterisering middels array vereist

³³ Bij voorkeur wordt gekozen voor FISH onderzoek, omdat bij PCR alleen mozaïeken met Y-materiaal boven 10% betrouwbaar aangetoond kunnen worden. Zie verder hoofdstuk 5.

Verdenking Klinefelter syndroom

10 cellen tellen en 3 cellen analyseren

Bij verdenking Turner en Klinefelter syndroom dienen tenminste respectievelijk 30 en 13 metafasen geteld te worden. Indien geïndiceerd dient onderzoek naar of ter specificering van mozaïeken bij voorkeur middels FISH op wangslimvliescellen plaats te vinden.

Uitslagtermijnen

Voor de **uitslagtermijnen** van het chromosomen-, array- en FISH-onderzoek gelden landelijke richtlijnen [zie: <http://www.nvhg-nav.nl/page.aspx?page=vkglcommissies> en Mellink 2003,2008].

d. Aanvullend onderzoek indien onverwacht een discrepantie tussen uitwendig genitaal en karyotype wordt gevonden bij uitblijvende puberteit

Indien bij chromosomenonderzoek in verband met uitblijvende puberteit een discrepantie tussen karyotype en uitwendig geslacht wordt vastgesteld, dient als eerste verwisseling uitgesloten te worden. Zonodig het chromosomenonderzoek herhalen op een nieuw bloedmonster. Als daarbij wederom een discrepantie tussen uitwendig geslacht en karyotype wordt gezien:

Zie stappenplan III, hoofdstuk 3, blz.25, met de volgende kanttekeningen:

- 2 - SRY-deletie (XY-meisje) of SRY-translocatie (XX-jongen) is één van de meest voorkomende oorzaken van complete sex reversal. Eventueel kan FISH met een SRY-probe gedaan worden, voordat herhaling van het chromosomenonderzoek plaats vindt.
- 1 - Adrenogenitaal syndroom bij 46,XX met volledige virilisatie op de kinder-/puberteitsleeftijd is zeer uitzonderlijk en bovendien met de huidige hieprikscreening vrijwel uitgesloten.
- 3 - Sommige aandoeningen met complete XY sex-reversal, geven alsnog virilisatie in de puberteit. Dit geldt met name voor *HSD17B3* –mutaties (17β-HSD type III) en *SRDA5A2*-mutaties (5-alfa-reductase deficiëntie), en in mindere mate voor *NR5A1*-mutaties

e. Uitblijvende puberteit bij normaal karyotype

Met normaal karyotype wordt hier tevens bedoeld dat *het karyotype in overeenstemming is met het uitwendig geslacht*. Net als in het voorgaande hoofdstuk worden eerst weer de diverse onderzoeken besproken en wordt daarna een stappenplan gegeven. Dit stappenplan is een leidraad voor het uit te voeren onderzoek.

Definitie

Er is sprake van een vertraagde puberteit indien een meisje van 13 of een jongen van 14 jaar nog geen puberteitsverschijnselen vertoont [Gardner 2007]. Opgemerkt moet worden dat dit ook bij 0,6% van de gezonde populatie het geval is. Dit zijn met name patiënten met familiair late puberteit of met een kleine lengte met een consistent normale groeiselheid en vertraagde botrijping.

Anamnese

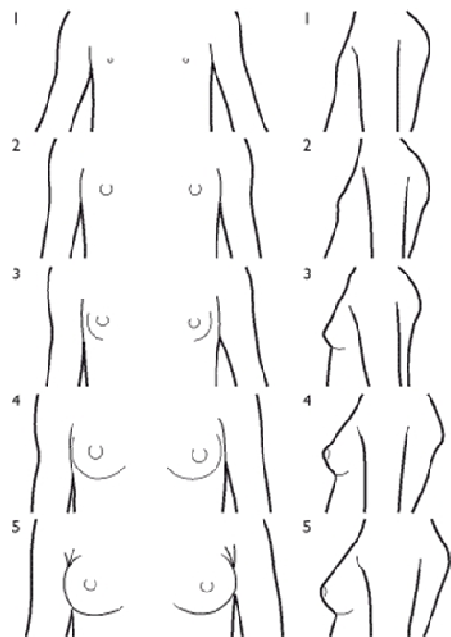
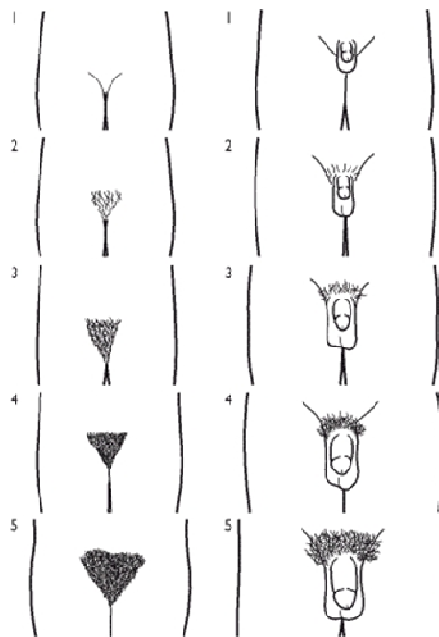
met speciale aandacht voor:

- Algemene tractusanamnese inclusief visus en gehoor
- Anosmie
- Aangeboren afwijkingen (hart, nieren, lip/gehemeltespleet, handafwijkingen, tandagenesie, etc.)
- Jongen: cryptorchisme/micropenis bij geboorte
- Ontwikkelings-/leerproblemen
- Excessieve fysieke (sport)inspanning
- Behandeling met chemotherapie of bestraling
- Ernstig schedeltrauma
- Familieanamnese: leeftijd puberteit ouders en broers/zussen, drie generaties stamboom met aandacht voor ambigu genitaal en ongewenst kinderloze paren, anosmie, doofheid, synkinesie, consanguiniteit

Lichamelijk onderzoek:

Er dient een volledig lichamelijk onderzoek plaats te vinden met speciale aandacht voor:

- Biometrie (gewicht, lengte en schedelomtrek) inclusief verhoudingen
Cave anorexie
- Dysmorphieën (fotografisch vastleggen)
- Bloeddruk
- Synkinesieën
- Puberteitsstadiëring (Tanner, zie figuur 2)
- Beschrijving en opmeten uitwendig genitaal (zie tabel 6)

Figuur 2. Tanner stadiëring**Borstontwikkeling****Haar en genitaal ontwikkeling**

Tabel 6. normaalwaarden

Normaalwaarden Man	Gestreekte penislengte cm (sd)	Testisvolume ml	Referentie
10-11 jaar	6,4 (1,1)	0,95-1,20	[Massa 1997, Schonfield 1942; Zachmann 1974]
Volwassen	13,3 (1,6)	16,5-18,2	[Massa 1997, Schonfield 1942; Zachmann 1974]
Normaalwaarden Vrouw	Clitorislengte mm (sd)	Clitorisbreedte mm (sd)	
Volwassen	19,1 (8,7)	5,5 (1,7)	[Lloyd 2005]

Endocrinologisch onderzoek

Om onderscheid te kunnen maken tussen hypo- en hypergonadotroop hypogonadisme:

- testosteron/oestradiol
- LH, FSH
- Ev. aan te vullen met LHRH test

Reuktest

Bij hypogonadotroop hypogonadisme of vermoeden op anosmie kan een reuktest verricht worden, bijvoorbeeld de UPSIT [www.sensonics.com, Doty 1984].

4

Het anamnestic beoordelen van al of niet aanwezig zijn van de reukzin is vaak onbetrouwbaar.

Beeldvormend onderzoek

Bij een meisje dient echoscopisch onderzoek plaats te vinden om de morfologie van de ovaria te bekijken en de aanwezigheid van een uterus vast te stellen. Een gevulde blaas is hierbij een voorwaarde. Zonodig na drinken de echo herhalen.

Skeletleeftijd bepalen.

Echo nieren.

Cerebrale MRI/CT ter uitsluiting van midline defecten, hypoplasie bulbus olfactorius.

DNA-onderzoek

Het uit te voeren DNA-onderzoek is afhankelijk van de bevindingen bij bovenstaande onderzoeken. Indien er aanwijzingen zijn voor een syndromale oorzaak: zie tabel 5 in Hfdst 3.

Bij niet-syndromale oorzaken voor uitblijven van de puberteitsontwikkeling bij een *normaal* karyotype is vooral het endocrinologisch onderzoek richtinggevend.

In tabel 7 (volgende blz.) staan de tot nu toe bekende genen genoemd die betrokken zijn bij een uitblijvende puberteit bij een normaal karyotype.

3

Voor de zeldzamere aandoeningen is de mate van bewijs beperkt i.v.m. de relatief kleine aantallen onderzochte patiënten (met name wat betreft prevalentie).

1

Dit geldt echter niet voor de meest voorkomende oorzaken van hypogonadotroop hypogonadisme (*KALI* en *FGFR1*), waarop wel grotere groepen patiënten zijn onderzocht (betrouwbare prevalentiegegevens en fenotype-informatie).

Voor een overzicht van de laboratoria waar het betreffende onderzoek plaats vindt en de meest recente stand van zaken zie: www.dnadiagnostiek.nl.

Tabel 7. Genen betrokken bij uitblijven van de puberteitsontwikkeling bij een normaal karyotype**A. Hypogonadotroop hypogonadisme**

[Overzichtartikelen: Hardelin 2008, Semple 2009]

Gen OMIM	Indicatie: bij verdenking op	Erfmodus ³⁴ en prevalentie (indien bekend)
<i>KALI</i> +308700	KS ³⁵ Synkinesie (70%), unilaterale nier agenesie (30%) [Tsai 2006]	XR 10-20% van de KS
<i>FGFR1</i> #147950	KS, nIHH ³⁶ 30% lip/gehemeltespleet syn/brachydactylie, tandagenesie, kraakbeen- afwijkigen oor en neus [Dode 2003, Tsai 2006]	AD, AR, oligogeen ³⁷ 10% van KS 3% van nIHH [Dode 2003]
<i>FGF8</i> #612702	KS, nIHH Lip/gehemeltespleet [Dode 2003]	AD, AR, oligogeen 1-2% van nIHH en KS [Falardeau 2008]
<i>PROK2, PROKR2</i> #610628, #244200	KS, nIHH Soms fibreuze dysplasie, slaapstoornis, obesitas, synkinesie, epilepsie [Cole 2008]	AD, AR, oligogeen PROK2 2,5% van KS, 1% nIHH PROKR2 5% van KS, 1% nIHH [Pitteloud 2007]
<i>NELF</i> *608137	KS	AD? Oligogeen ? [Miura 2004] 1% KS
<i>CHD7</i> *608892	KS, CHARGE syndroom Meestal wel kenmerken CHARGE aanwezig, m.n. doofheid, evenwichtsstoornis	AD Zelden zonder bijkomende CHARGE kenmerken, 5% bij KS + doofheid [Kim 2008, Jongmans 2009]
<i>GNRHR</i> *138850	nIHH	AR, oligogeen 40-50% van familiale en 17% van sporadische nIHH [de Roux 1997, Beranova 2001]
<i>GNRH1</i> *152760	nIHH	AR, AD? <1% nIHH [Bouligand 2009, Chan 2009]
<i>KISS1R</i> *604161	nIHH	AR <3% nIHH [de Roux 2003, Seminara 2003]
<i>TAC3</i> *162330	nIHH, milde MR [Topaloglu 2009]	AR zeldzaam (grotere kans indien familiaal)

³⁴ AD = autosomaal dominant, AR = autosomaal recessief, XR = X-gebonden recessief, oligogeen = mogelijk effect van enkele gemuteerde genen (zie ook ³⁷)

³⁵ KS = Kallmann syndroom = hypogonadotroop hypogonadisme + anosmie

³⁶ nIHH = normosmisch idiopatisch hypogonadotroop hypogonadisme

³⁷ Bekend is dat bij Kallmann syndroom en nIHH soms mutaties in twee van de bij KS/nIHH betrokken genen bij één persoon worden gevonden. Er zijn patiënten beschreven met mutaties in de volgende combinaties van genen: *PROK2+PROKR2*, *GNRHR+FGFR1*, *FGF8+FGFR1*, *KALI+PRKR2* [voor review zie Semple 2009]

<i>TACR3</i> *162332	nIHH	AR zeldzaam (grotere kans indien familiaal) [Topaloglu 2009]
<i>DAX1</i> *300473	nIHH, congenitale bijnierinsufficiëntie	XR
<i>LEP, LEPR</i> +164160, +601007	nIHH, obesitas	AR zeer zeldzaam [Clement 1998, Strobel 1998]

B. Hypergonadotroop hypogonadisme

Gen OMIM	Indicatie: bij verdenking op	Erfmodus en prevalentie (indien bekend)
<i>WT1</i> *607102	Bij meisje: nIHH, nierfunctiestoornis, proteïnurie (bij jongen: ambigu genitaal)	[Andrade 2008]
<i>LHCGR</i> +152790	Bij meisje: primaire amenorroe (bij jongen sex reversal)	AR [Bruysters 2008]
<i>CYP17A1</i> *609300	Bij meisje: amenorroe, POF, hypertensie, bijnierinsufficiëntie (bij jongen: ambigu - sex reversal)	AR

C. Afwezige uterus bij meisje

Gen OMIM	Indicatie: bij verdenking op	Erfmodus en prevalentie (indien bekend)
<i>WNT4</i> *603490	Vaak virilisatie	AD dn [Biaison Lauber 2004]

IV Stappenplan uitblijvende puberteit bij *normaal* karyotype

De allereerste stap bij uitblijvende puberteit (definitie zie blz.29):

- anamnese + familieanamnese (zie blz.30)
- lichamelijk onderzoek (zie blz.30)
- endocrinologisch onderzoek: (zie blz.31)
- chromosomenonderzoek (zie blz.12 en 28, bij aanwijzingen voor een syndroom altijd tevens array-onderzoek)
- skeletleeftijd

Bij *normaal* karyotype vervolgens:

STAP 1

1. Beeldvormend onderzoek (zie blz.31)
Bij meisje echoscopisch onderzoek van ovaria en uterus
(cave moeilijk aantoonbaar zijn van niet-gestimuleerde uterus).
2. Endocrinologisch onderzoek (zie blz.31)
3. Bij hypogonadotroop hypogonadisme kan een reuktest overwogen worden (zie blz.31)

STAP 2

De volgende stap, het DNA-onderzoek is sterk afhankelijk van de bevindingen bij endocrinologisch onderzoek en bij meisjes van het al dan niet aanwezig zijn van een uterus. Ook de reuktest kan hierbij richtinggevend zijn. Zie tabel 7 voor details, hier samengevat [Semple 2009]:

IVa Hypogonadotroop hypogonadisme met anosmie (bij patiënt of familielid)

- *KAL 1*
1^o keus bij: jongen met synkinesie, unilaterale nieragenesie, of X-linked familieanamnese
- *FGFR1* en *FGF8*
1^o keus bij: lip/gehemeltespleet, tandagenesie, handafwijkingen of autosomaal dominante familieanamnese
- *PROK2* en *PROKR2*
1^o keus bij: slaapstoornis, epilepsie of obesitas
- *CHD7*
1^o keus bij: slechthorendheid, evenwichtsstoornissen of andere kenmerken passend bij CHARGE syndroom
- *NELF*
Alleen wanneer andere genen zijn uitgesloten

IVb Hypogonadotroop hypogonadisme zonder anosmie

- *GNRHR*
1° keus bij: sporadisch of autosomaal recessieve familieanamnese
- *FGFR1* en *FGF8*
1° keus bij: lip-/gehemeltespleet, tandagenesie, handafwijkingen of autosomaal dominante familieanamnese
- *TAC3, TACR3*
Alleen bij autosomaal recessieve familieanamnese
- *KISS1R*
Alleen bij autosomaal recessieve familieanamnese
- *PROK2, PROKR2*
1° keus bij: slaapstoornis, epilepsie of obesitas
- *CHD7* en *NELF*
Alleen als andere genen zijn uitgesloten
- PM. *GNRH1, DAX 1* (congenitale bijnierinsufficiëntie), *LEP, LEPR* (ernstige obesitas)

IVc Hypergonadotroop hypogonadisme bij meisje met amenorroe en zonder puberteitsontwikkeling

- *WT1* (nierfunctiestoornis, proteïnurie)
- *LHCGR* (hoog LH)
- *CYP17A1* (bijnierinsufficiëntie)

IVd Afwezige uterus

Dit kan onderdeel zijn van het Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndroom, MURCS-associatie (combinatie van uterus-agenesie, nierafwijking en cervicale wervelafwijkingen) en oculo-auriculo-vertebraal spectrum. Dit zijn overwegend sporadisch voorkomende syndromen.

Het is daarom belangrijk bijkomende/geassocieerde afwijkingen uit te sluiten:

- goed lichamelijk onderzoek (let met name op oren, asymmetrisch gelaat, epibulbair dermoïd, etc)
- X-wervelkolom (in twee richtingen, inclusief cervicaal), X-bekken
- Echo nieren
- Echo hart

Een rol voor genen uit de WNT-familie wordt gesuggereerd bij MRKH syndroom, maar tot op heden zijn geen pathogene mutaties gevonden in o.a. *WNT4, WNT5A, WNT7A* en *WNT9B*. Bij enkele patienten met uterus-agenesie zijn mutatie in *WNT4* beschreven, echter vaak in combinatie met virilisatie.

In ieder geval wordt array-onderzoek ter uitsluiting van submicroscopische chromosomale afwijkingen geadviseerd.

De uterus kan ook afwezig zijn als onderdeel van meer complexe syndromen zoals Bardet-Biedl syndroom. Deze vallen echter buiten deze richtlijn.

5. BEPALEN RISICO OP GONADALE KIEMCELTUMOREN

a. Gonadale kiemceltumoren bij patiënten met een DSD

2

Patiënten met een DSD kunnen een verhoogd risico op gonadale kiemceltumoren hebben, afhankelijk van de oorzaak van hun DSD. Patiënten met hypervirilisatie syndromen (46,XX DSD) hebben *geen* verhoogd risico. De incidentie van kiemceltumoren in patiënten met ondervirilisatie is lager dan in patiënten met gonadale dysgenese. De tumoren in deze laatste groep worden frequent op jonge leeftijd gevonden en komen bij 12-50% voor [Cools, 2006]. Zie tabel 8.

Tabel 8. Incidentie kiemceltumoren en beleid bij DSD [Cools 2006, uit Cools 2008]

Diagnose	Risico	Voorgesteld beleid	Gebaseerd op Studies/patiënten
46, XY DSD			
Gonadale dysgenese, - gonade intra-abdominaal - gonade scrotaal	- Hoog, 15-35% - onbekend	- gonadectomie - biopsie, indien CIS: bestraling	12/>350 0/0
PAIS (AR, NR5A1), - gonade niet-scrotaal - gonade scrotaal	- Hoog, 15% - onbekend	- gonadectomie - biopsie, indien CIS: bestraling	3/80 0/0
Frasier/Denys-Drash syndroom (WT1), (gonade niet-scrotaal)	Hoog, 40-60%	gonadectomie	1/15 1/5
17beta-dehydrogenasedeficiëntie type 3 (HSD17B3)	Intermediair, 28%	vervolgen en evt. biopsie (zie c)	2/7
CAIS (AR)	Laag, 0,8%	biopsie, indien CIS: bestraling/gonadectomie	3/120
5alfa-reductase deficiëntie (SRD5A2)	Onbekend, 0%	Onbekend	1/3
Leydig cel hypoplasie	Onbekend, 0%	Onbekend	1/2
Ovotesticulair DSD	Laag, 3%	verwijderen testiculair weefsel indien mogelijk bij vrouwelijke gender-identiteit	3/426
45,X (zie b)			
Y-materiaal aantoonbaar	Intermediair, 12%	gonadectomie	11/43
Geen Y-materiaal aantoonbaar	Laag, 1%	geen actie	11/557
46,XX/46,XY			
Indien geen complete virilisatie, gonaden niet scrotaal	hoog	gonadectomie	

CIS= carcinoma-in-situ

2 Met name bij fenotypisch vrouwelijke patiënten bij wie Y-chromosomaal materiaal aantoonbaar is en bij sterk onder-geviriliseerde jongens komen kiemceltumoren voor [Manuel 1976, Scully 1970, Verp 1987, Mazzanti 2005]. Recente onderzoeken wijzen erop dat niet de aanwezigheid van het volledige Y-chromosoom, maar specifiek de aanwezigheid van het TSPY (testic specific protein Y, gelegen op Yp) de hoogte van het risico bepaalt [Lau 1999, Li 2007a, Li 2007b].

2 Bij patiënten met 45,X/46,XY of 46,XX/46,XY en een normale mannelijke testosteronspiegel en volledige virilisatie (inclusief ingedaalde testikels) lijkt het tumorrisico *niet* verhoogd [Cools 2006, Verp 1987]. Bij deze patiënten wordt in de regel het advies gegeven vanaf de puberteitsleeftijd geregeld zelf-onderzoek uit te voeren. Niet ingedaalde testikels dienen op kinderleeftijd in het scrotum gebracht te worden. Ook bij volledige androgeen-ongevoeligheid is er een nauwelijks verhoogd risico.

Er zijn nog geen gegevens bekend over de incidentie van kiemceltumoren in patiënten met mutaties in recent ontdekte genen (zoals *CBX2*, *DAX1/NROB1*). Hierdoor is het momenteel niet mogelijk een uitspraak te doen over het risico bij deze patiënten.

Aanbevolen wordt om zowel bij gonadectomie als bij biopsie het materiaal centraal histologisch te laten onderzoeken, gezien de zeldzaamheid van dit soort tumoren en de benodigde expertise met o.a. de verschillende aanvullende immunohistochemische kleuringen en de interpretatie daarvan. De commissie stelt voor dit te centraliseren in Rotterdam, omdat dit centrum hier al ruime expertise mee heeft (prof. Looijenga en prof. Oosterhuis)³⁸ [Cools 2006, Li 2007a].

Ter vergroting van de expertise stelt de commissie voor om zowel bij gonadectomie als bij biopsie het materiaal (ook) centraal histologisch te laten onderzoeken.

b. Onderzoek bij Turner syndroom ter uitsluiting risico op gonadale kiemceltumor [Gravholt 2000, Cools 2006]

2 Het risico op een gonadale kiemceltumor is bij patiënten met Turner syndroom afhankelijk van de aanwezigheid van Y-chromosomaal materiaal. In 2005 detecteerde Mazzanti in 14 van 171 patiënten (14%) met Turner syndroom Y-materiaal. Bij 12 volgde gonadectomie, vier (33%) bleken een gonadoblastoom te hebben. Bij twee van deze vier patiënten was het Y-materiaal alleen bij aanvullend moleculair onderzoek aangetoond [Mazzanti 2005]. Latere onderzoeken toonden vergelijkbare resultaten, waarbij bij meerdere vrouwen met Turner syndroom en cryptisch Y-materiaal een gonadoblastoom werd aangetoond [Bianco 2009, Sallai 2010]. Een meta-analyse van al deze studies toont dat mosaïcisme voor Y-materiaal voor komt bij 6-11% van de patiënten met Turner syndroom [Wolff 2010]. Bij 541 Turner patiënten met niet-mozaïek 45,X bij routine karyotypering, bleek 5% mosaïcisme voor een chromosoom Y materiaal bevattende cellijn met moleculair onderzoek te hebben [Wolff 2010]. Het in de literatuur genoemde risico op gonadoblastoom bij 45,X/46,X(der)Y varieert van 10-20%, maar ligt het dichtst bij 12% [Bondy 2007, Wolff 2010]. Ook indien er geen virilisatie is, is er een verhoogd risico op gonadoblastoom [Mazzanti 2005].

³⁸ Afd. Pathologie, Erasmus MC-UMC Rotterdam, Josephine Nefkens Instituut gebouw Be, kamer 430b, Dr. Molewaterplein 50, 3015 GE Rotterdam, Tel. 010-7044329.

2

Alhoewel wordt aangenomen dat bij zeer laag-gradig mozaïek het gonadoblastoomrisico lager is, is hier geen goede evidence voor. Bovendien zijn onderzoeksresultaten afhankelijk van in welk weefsel naar mosaïcisme is gekeken. Immers in geval van mosaïcisme kan een sterke discrepantie bestaan tussen gekweekt bloed en andere weefsels³⁹. Op dit moment lijkt het meest optimale weefsel ter uitsluiting danwel kwantificering van een mozaïek wangslimvlies (interfase-FISH)⁴⁰. Voor uitsluiten van laag-mozaïeken dient bij voorkeur een controle sample mee genomen te worden (tenzij uit eerder validatie-onderzoek bekend is wat de normale spreiding c.q. achtergrondruis is). Als alternatief kunnen ook de bevindingen bij array CGH gebruikt worden omdat het uitgangsmateriaal daarbij DNA uit ongekwekte bloedcellen is. De detectieondergrens daarbij is 10%.

3

Indien geïndiceerd, dient uitsluiten van een mozaïek Y-chromosomaal materiaal bevattende cellijn bij 45,X karyotype bij voorkeur middels FISH op wangslimvliescellen plaats te vinden met een TSPY-probe (alternatief SRY-probe).

Op grond van bovenstaande komt de commissie tot de volgende globale aanbevelingen.

- Bij patiënten met in alle geanalyseerde cellen met een 45,X karyotype dient ter uitsluiting van de aanwezigheid van Y-chromosomaal materiaal een Q-F PCR op TSPY of SRY in perifeer bloed óf bij voorkeur FISH⁴¹ op wangslimvlies in 100 interfasekernen overwogen te worden
- Bij patiënten met 45,X en een markerchromosoom (al dan niet in mozaïekvorm) dient de samenstelling van het chromosoom middels FISH of array bepaald te worden
- Bij patiënten met mozaïek 45,X/46,XX of 45,X/46,X,der(X)⁴² is geen verder onderzoek nodig, tenzij i.v.m. de counseling een nauwkeurigere duiding van het mosaïcisme gewenst is. In dat geval is FISH op wangslimvlies geïndiceerd.

Omdat ook in de literatuur de aanbevelingen niet eenduidig zijn stelt de commissie voor om bij de herziening van de richtlijn de adviezen ten aanzien van opsporing van een Y-chromosomaal materiaal bevattende cellijn bij Turner syndroom opnieuw kritisch te evalueren [Bondy 2007: *The Turner Syndrome Consensus Study Group* versus, Wolff 2010: *Working Group of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee*]. Ook de nieuw opgerichte Vlaams-Nederlandse Turner syndroom Werkgroep heeft op 8-10-2010 afgesproken dit punt op haar agenda te zetten.

Er zijn momenteel te weinig gegevens voorhanden om een advies te geven over de follow-up van meisjes met een prenataal vastgesteld 45,X karyotype. Het prenataal onderzoek vindt in een ander weefsel plaats (chorion villi, vruchtwatercellen) dan primair postnataal (perifere bloedcellen). Het aantal prenataal onderzochte metafasen is meestal beperkt en onduidelijk is of mozaïeken voldoende uitgesloten worden. Op dit moment vindt niet standaard postnataal

³⁹ Onder andere door de invoering van array CGH, waarbij het uitgangsmateriaal ongekwekt bloed is, is de discrepantie tussen gekweekt bloed en ongekwekt materiaal voor wat betreft mozaïeken bevestigd. Zelfd hoog-gradig mozaïeken kunnen in gekweekt bloed ongedetecteerd blijven.

⁴⁰ Ervaringen UMC Radboud: Bij 30% van de 45,X (bloed) wordt in wangslimvlies een mozaïeksituatie gevonden; 20% procent met 46,XX of 46,Xder(X) en 10% met XY. Soms zelfs in hoge percentages.

⁴¹ Bij voorkeur met FISH onderzoek op wangslimvlies, omdat er grote weefselspecifieke verschillen zijn en omdat FISH gevoeliger is dan de meeste Q-F PCR testen, die de aanwezigheid van Y-chromosoom detecteren indien in 5-10% van de cellen aanwezig. Bij voorkeur dient een TSPY-probe, anders een SRY-probe gebruikt te worden. Indien PCR gebruikt wordt dan moet in ieder geval TSPY (bij voorkeur) of SRY gevoelig gedetecteerd kunnen worden.

⁴² Indien niet duidelijk een i(Xq) dan is nadere karakterisering middels array vereist.

onderzoek plaats bij een prenataal vastgesteld 45,X patroon indien de zwangerschap wordt uitgedragen/resulteert in een levendgeboren kind. De commissie stelt een landelijke inventarisatie voor om hier duidelijkheid over te krijgen en om tot een aanbeveling te komen.

c. Gonadaal biopt

3 Uit onderzoek naar het ontstaan van kiemceltumoren bij patiënten met DSD en naar het onderscheid tussen een vertraagde rijping van kiemcellen enerzijds en de aanwezigheid van een kiemceltumor anderzijds, blijkt dat het mogelijk is om met behulp van een gonadaal biopt een inschatting te maken van het tumorrisico [Cools 2005, Cools 2006, Cools 2008, Hersmus 2008]. Dit betekent dat op basis van een gonadebiopsie soms terughoudendheid met een gonadectomie gerechtvaardigd is [Cools 2008]. Er bestaat echter de mogelijkheid dat het biopt bij een kind met DSD niet representatief is voor de volledige gonade. Vooral nog meent de commissie dat er alleen een plaats is voor biopsie bij functionele gonaden, waarbij het in-situ laten voordeel voor de patiënt heeft (bijv. bij volledige CAIS, testosteron wordt omgezet in oestrogeen -> borstontwikkeling en vrouwelijke habitus). Bij afwezigheid van kiemcellen of normale uitrijping van de kiemcellen kan de gonade in-situ blijven.⁴³

3 Ter vergroting van de expertise stelt de commissie voor om zowel bij gonadectomie als bij biopsie het materiaal (ook) centraal histologisch te laten onderzoeken.

⁴³ Afd. Pathologie, Erasmus MC-UMC Rotterdam, Josephine Nefkens Instituut gebouw Be, kamer 430b, Dr. Molewaterplein 50, 3015 GE Rotterdam, Tel. 010-7044329.

6. GENETISCH ONDERZOEK BIJ ONDUIDELIJK GESLACHT BIJ PRENATAAL ECHOSCOPISCH ONDERZOEK

Er is sprake van een afwijkend prenataal geslacht indien:

- een niet te duiden geslacht wordt gezien bij optimaal echoscopisch beeld bij een zwangerschapsduur vanaf 16 weken [Pajkrt 2008]⁴⁴
- het geslacht echoscopisch normaal lijkt, maar niet klopt met prenataal chromosomenonderzoek
- het geslacht niet te bepalen is (bijv. bij blaasextrofie)

Pas op met uitspraken over het geslacht van het kind op basis van het karyotype.

Na het prenataal vaststellen van een onduidelijk geslacht dient altijd eerst chromosomenonderzoek (vruchtwater) verricht te worden (30 metafases, waarvan bij voorkeur tenminste 12 uit verschillende kolonies [Wolff 2010]). Daarnaast dient geavanceerd echo-onderzoek (inclusief 3D) plaats te vinden gericht op bijkomende afwijkingen van de foetus.

Indien echoscopisch het geslacht normaal lijkt, maar niet klopt met het prenatale karyogram (ook niet na eventueel doortellen tot 30 cellen), kan in geval van chorion villi overwogen worden het chromosomenonderzoek te herhalen op vruchtwatercellen (minimaal 30 metafases, waarvan bij voorkeur tenminste 12 uit verschillende kolonies [Wolff 2010]). Alhoewel de kans op verwisseling onder de huidige strenge kwaliteitscriteria uitzonderlijk klein is, dient dit toch zo mogelijk uitgesloten te worden.

Als een discrepantie tussen het uitwendige geslacht en het karyotype wordt vastgesteld dan dient het volgende stappenplan gevolgd te worden in een centrum voor prenatale diagnostiek, bij voorkeur in samenspraak met het DSD-team: (zie volgende blz.)

⁴⁴ In principe is geslachtsbepaling middels echo-onderzoek vanaf een zwangerschapduur van 12 weken mogelijk [Pajkrt 2008], echter het in beeld brengen van de uterus kan zeer lastig zijn en is daardoor niet altijd betrouwbaar.

V Stappenplan prenataal onduidelijk geslacht of discrepantie met prenataal karyotype

NB. Hierbij wordt uitgegaan van een microscopisch normaal karyotype, dwz een karyotype dat niet het (afwijkende) geslacht verklaart.

Stap 1

Anamnese, met speciale aandacht voor:

1. medicatie/virilisatie in zwangerschap (androgenen)
[indien androgenen en XX → oorzaak; indien maternale virilisatie → zie tabel 5]
2. familieanamnese (AGS, AIS, consanguiniteit, etc)
[bij vermoeden familiale aandoening hiernaar onderzoek in zetten, zie tabel 5]

Echo-onderzoek

Met behulp van geavanceerd echo-onderzoek (inclusief 3D) wordt naar andere afwijkingen/dysmorphieën gekeken en kan de aanwezigheid van een uterus (na 19 weken) vastgesteld worden.

Indien syndroomaal (m.n. skelet- of nierafwijkingen), zie hoofdstuk 3 stappenplan I en tabel 5.

Zorg voor goede counseling en psychosociale begeleiding van de aanstaande ouders.

Stap 2

Verdere prenatale diagnostiek is afhankelijk van de zwangerschapduur en wens van de aanstaande ouders en concentreert zich op de meest voorkomende aandoeningen, omdat:

- Post partum veel gericht onderzoek mogelijk is
- DNA-onderzoek in de meeste situaties minimaal 6 weken duurt (behalve als een mutatie in de familie bekend is)

ArrayCGH kan overwogen worden (uitslagtermijn 2 weken). ArrayCGH wordt in ieder geval aanbevolen als er op basis van de echo aanwijzingen zijn voor een syndromale DSD⁴⁵.

Bij echoscopische afwijkingen die duiden op een specifiek syndroom (zie ook tabel 5) kan gerichte DNA-diagnostiek hiernaar overwogen worden. In de meeste gevallen zal de uitslag echter niet eerder dan na 6 weken bekend zijn. Uitzondering hierop is 46,XY met ondervirilisatie en skeletafwijkingen passend bij **campomele dysplasie**. Hierbij worden specifieke mutaties in *SOX9* gevonden en een uitslag is vrijwel altijd binnen 2 weken mogelijk.

Op de volgende bladzijde staan enkele suggesties voor aanvullend onderzoek. Desgewenst kan in overleg met DNA-laboratorium naar verdere mogelijkheden gekeken worden (op geleide van stappenplan I).

Zie ook [Pajkrt 2004, Pajkrt 2008].

⁴⁵ Indien prenataal arrayCGH-onderzoek, altijd eerst counseling door klinisch geneticus t.a.v. onverwachte en onduidelijke bevindingen en direct ook array onderzoek bij ouders inzetten voor de interpretatie van de foetale bevindingen.

Va XX met phallus-achtige structuur en geen Müllerse structuren

1. metafase-FISH met SRY-probe ter uitsluiting van *SRY*-translocatie
2. eventueel MLPA (of array⁴⁶) naar *SOX9*-duplicatie

Het in beeld brengen van de uterus kan zeer lastig zijn en is daardoor niet altijd betrouwbaar, zie daarom ook Vb.

Vb XX met phallus-achtige structuur en Müllerse structuren/uterus

1. DNA naar meest voorkomende mutaties adrenogenitaal syndroom (*CYP21A2*)
2. DNA naar *CYP19A1* alleen bij onverklaarde maternale virilisatie tijdens zwangerschap

Vc XY met ontbreken phallus/scrotum en aanwezige uterus

1. FISH, Q-F PCR of MLPA met SRY-probe ter uitsluiting *SRY*-deletie
2. ev. array⁴⁶ ter uitsluiting *DAX1*-duplicatie, *NR5A1*-deletie, 9p-deletie, *WNT4*-duplicatie
3. bij skeletafwijking passend bij campomele dysplasie: DNA naar *SOX9*-mutatie

Vd XY met ontbreken of afwijkende phallus/scrotum en geen Müllerse structuren

Meest waarschijnlijk testosteron-biosynthesestoornis of androgeen-ongevoeligheid. DD zonder endocrinologisch onderzoek of positieve familieanamnese lastig. Verder (DNA-) onderzoek bij voorkeur post partum.

Bij bijkomende echo-afwijkingen:

- denk aan SLO bij o.a. verdikte nekplooi, corpus callosum agenesie, micrognathie, polydactylie, hartafwijking
- denk aan epispadie, blaas/cloacale exstrofie bij ontbreken intra-abdominale blaas bij normale hoeveelheid vruchtwater.
- Overweeg arrayCGH-onderzoek⁴⁶ bij normaal karyotype

Het in beeld brengen van de uterus kan zeer lastig zijn en is daardoor niet altijd betrouwbaar, zie daarom ook Vc.

⁴⁶ Indien prenataal arrayCGH-onderzoek, altijd eerst counseling door klinisch geneticus t.a.v. onverwachte en onduidelijke bevindingen en direct ook array onderzoek bij ouders inzetten voor de interpretatie van de foetale bevindingen.

7. REFERENTIES

- Andrade JG, Guaragna MS, Soardi FC, Guerra-Junior G, Mello MP, Maciel-Guerra AT. Clinical and genetic findings of five patients with WT1-related disorders. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2008;52(8):1236-43.
- Beranova M, Oliveira LM, Bedecarrats GY, Schipani E, Vallejo M, Ammini AC, Quintos JB, Hall JE, Martin KA, Hayes FJ, Pitteloud N, Kaiser UB, Crowley WF, Jr., Seminara SB. Prevalence, phenotypic spectrum, and modes of inheritance of gonadotropin-releasing hormone receptor mutations in idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(4):1580-8.
- Bignon-Laubert A, Konrad D, Navratil F, Schoenle EJ. A WNT4 mutation associated with Mullerian-duct regression and virilization in a 46,XX woman. *N Engl J Med* 2004;351(8):792-8.
- Bignon-Laubert A, Konrad D, Meyer M, DeBeaufort C, Schoenle EJ. Ovaries and female phenotype in a girl with 46,XY karyotype and mutations in the CBX2 gene. *Am J Hum Genet* 2009;84(5):658-63.
- Bondy CA. Turner syndrome study group. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:10-25.
- Bouligand J, Ghervan C, Tello JA, Brailly-Tabard S, Salenave S, Chanson P, Lombes M, Millar RP, Guiochon-Mantel A, Young J. Isolated familial hypogonadotropic hypogonadism and a GNRH1 mutation. *N Engl J Med* 2009;360(26):2742-8.
- Bruce S, Hannula-Jouppi K, Peltonen J, Kere J, Lipsanen-Nyman M. Clinically distinct epigenetic subgroups in Silver-Russell syndrome: the degree of H19 hypomethylation associates with phenotype severity and genital and skeletal anomalies. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(2):579-87.
- Bruysters M, Christin-Maitre S, Verhoef-Post M, Sultan C, Auger J, Faugeron I, Larue L, Lumbroso S, Themmen AP, Bouchard P. A new LH receptor splice mutation responsible for male hypogonadism with subnormal sperm production in the propositus, and infertility with regular cycles in an affected sister. *Hum Reprod* 2008;23(8):1917-23.
- Canto P, Vilchis F, Söderlund D, Reyes E, Méndez JP. A heterozygous mutation in the desert hedgehog gene in patients with mixed gonadal dysgenesis. *Mol Hum Reprod* 2005;11(11):833-6
- Chan YM, de Guillebon A, Lang-Muritano M, Plummer L, Cerrato F, Tsiaras S, Gaspert A, Lavoie HB, Wu CH, Crowley WF, Jr., Amory JK, Pitteloud N, Seminara SB. GNRH1 mutations in patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106(28):11703-8.
- Claahsen-van der Grinten HL, Hoefsloot LH. Van gen naar ziekte; het adrenogonaal syndroom en het CYP21A2-gen. *Ned Tijdschr Geneesk* 2007;151(21):1174-7.
- Claahsen-van der Grinten HL, van Kuyk EM, Dessens AB, Drop SLS, Otten BJ. De pasgeborene met een gestoorde geslachtelijke ontwikkeling. *Tijdschrift voor Kindergeneeskunde* 2008;76(3):105-11.
- Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, Gourmelen M, Dina C, Chambaz J, Lacorte JM, Basdevant A, Bougneres P, Lebouc Y, Froguel P, Guy-Grand B. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998;392(6674):398-401.
- Cole LW, Sidis Y, Zhang C, Quinton R, Plummer L, Pignatelli D, Hughes VA, Dwyer AA, Raivio T, Hayes FJ, Seminara SB, Huot C, Alos N, Speiser P, Takeshita A, Van Vliet G, Pearce S, Crowley WF, Jr., Zhou QY, Pitteloud N. Mutations in prokineticin 2 and prokineticin receptor 2 genes in human gonadotrophin-releasing hormone deficiency: molecular genetics and clinical spectrum. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(9):3551-9.
- Cools M, van Aerde K, Kersemaekers AM, Boter M, Drop SL, Wolffenbuttel KP, Steyerberg EW, Oosterhuis JW, Looijenga LH. Morphological and immunohistochemical differences between gonadal maturation delay and early germ cell neoplasia in patients with undervirilization syndromes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(9):5295-303.
- Cools M, Drop SL, Wolffenbuttel KP, Oosterhuis JW, Looijenga LH. Germ cell tumors in the intersex gonad: old paths, new directions, moving frontiers. *Endocr Rev* 2006;27(5):468-84.

- Cools M, Looijenga LH, Otten B.J., Wolffenbuttel KP, Drop SL. Genetische basis, terminologie en het risico voor de ontwikkeling van kiemceltumoren bij stoornissen in de geslachtsontwikkeling. Tijdschr Kindergeneeskd 2008;76(3):92-104.
- Dode C, Levilliers J, Dupont JM, De Paepe A, Le Du N, Soussi-Yanicostas N, Coimbra RS, Delmaghani S, Compain-Nouaille S, Baverel F, Pecheux C, Le Tessier D, Cruaud C, Delpech M, Speleman F, Vermeulen S, Amalfitano A, Bachelot Y, Bouchard P, Cabrol S, Carel JC, Delemarre-van de Waal H, Goulet-Salmon B, Kottler ML, Richard O, Sanchez-Franco F, Saura R, Young J, Petit C, Hardelin JP. Loss-of-function mutations in FGFR1 cause autosomal dominant Kallmann syndrome. Nat Genet 2003;33(4):463-5.
- Donaldson MD, Gault EJ, Tan KW, Dunger DB. Optimising management in Turner syndrome: from infancy to adult transfer. Arch Dis Child 2006;91(6):513-20.
- Doswell BH, Visootsak J, Brady AN, Graham JM, Jr. Turner syndrome: an update and review for the primary pediatrician. Clin Pediatr (Phila) 2006;45(4):301-13.
- Doty RL, Shaman P, Kimmelman CP, Dann MS. University of Pennsylvania Smell Identification Test: a rapid quantitative olfactory function test for the clinic. Laryngoscope 1984;94(2pt1):176-8.
- Falardeau J, Chung WC, Beenken A, Raivio T, Plummer L, Sidis Y, Jacobson-Dickman EE, Eliseenkova AV, Ma J, Dwyer A, Quinton R, Na S, Hall JE, Huot C, Alois N, Pearce SH, Cole LW, Hughes V, Mohammadi M, Tsai P, Pitteloud N. Decreased FGF8 signaling causes deficiency of gonadotropin-releasing hormone in humans and mice. J Clin Invest 2008;118(8):2822-31.
- Feldman KW, Smith DW. Fetal phallic growth and penile standards for newborn male infants. J Pediatr 1975;86(3):395-8.
- Fischbach NV, Trout KL, Lewis J, Luis CA, Sika M. WAGR syndrome: a clinical review of 54 cases. Pediatrics 2005;116(4):984-8.
- Garagorri JM, Rodriguez G, Lario-Elboj AJ, Olivares JL, Lario-Munoz A, Orden I. Reference levels for 17-hydroxyprogesterone, 11-desoxycortisol, cortisol, testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate and androstenedione in infants from birth to six months of age. Eur J Pediatr 2008;167(6):647-53.
- Gardner DG, Shoback D. Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology, 8th ed. 2007. McGraw-Hill Companies, Inc.
- Gravholt CH, Fedder J, Naeraa RW, Muller J. Occurrence of gonadoblastoma in females with Turner syndrome and Y chromosome material: a population study. J Clin Endocrinol Metab 2000;85(9):3199-202.
- Hardelin JP, Dodé C. The complex genetics of Kallmann syndrome: KAL1, FGFR1, PROKR2, PROK2, et al. Sex Dev 2008;2(4-5):181-93.
- Hersmus R, de Leeuw BH, Wolffenbuttel KP, Drop SL, Oosterhuis JW, Cools M, Looijenga LH. New insights into type II germ cell tumor pathogenesis based on studies of patients with various forms of disorders of sex development (DSD). Mol Cell Endocrinol 2008;291(1-2):1-10.
- Hughes IA, Houk C, Ahmed SF, Lee PA. Consensus statement on management of intersex disorders. J Pediatr Urol 2006;2(3):148-62.
- Jira PE, Waterham HR, Wanders RJ, Smeitink JA, Sengers RC, Wevers RA. Smith-Lemli-Opitz syndrome and the DHCR7 gene. Ann Hum Genet 2003;(Pt3):269-80.
- Jongmans MCJ, van Ravenswaaij-Arts CMA, Pitteloud N, Ogata T, Sato N, Claahsen-van der Grinten H, van der Donk K, Seminara S, Bergman J, Brunner H, Crowley WF Jr, Hoefsloot LH. *CHD7* mutations in patients initially diagnosed with Kallmann Syndrome - the clinical overlap with CHARGE syndrome. Clin Genet 2009;75(1):65-71.
- Josso N, Belville C, di Clemente N, Picard JY. AMH and AMH receptor defects in persistent Mullerian duct syndrome. Hum Reprod Update 2005;11(4):351-6.
- Kim H, Kurth I, Lan F, Meliciani I, Wenzel W, Eom SH, Kang GB, Rosenberger G, Tekin M, Ozata M, Bick DP, Sherins RJ, Walker SL, Shi Y, Gusella JF, Layman LC. Mutations in *CHD7*, encoding a chromatin-remodeling protein, cause idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann syndrome. Am J Human Genet, 2008;83(4):511-9.
- Krone N, Arit W. Genetics of congenital adrenal hyperplasia. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2009;23(2):181-92.
- Lau YF. Gonadoblastoma, testicular and prostate cancers, and the TSPY gene. Am J Hum Genet 1999;64(4):921-7.

- Ledig S, Hiort O, Scherer G, Hoffmann M, Wolff G, Morlot S, Kuechler A, Wieacker P. Array-CGH analysis in patients with syndromic and non-syndromic XY gonadal dysgenesis: evaluation of array-CGH as diagnostic tool and search for new candidate loci. *Hum Reprod* 2010;25(10):2637-46.
- Lee PA, Houk CP, Ahmed SF, Hughes IA. Consensus statement on management of intersex disorders. International Consensus Conference on Intersex. *Pediatrics* 2006;118(2):e488-e500.
- Li Y, Tabatabai ZL, Lee TL, Hatakeyama S, Ohyama C, Chan WY, Looijenga LH, Lau YF. The Y-encoded TSPY protein: a significant marker potentially plays a role in the pathogenesis of testicular germ cell tumors. *Hum Pathol* 2007;38(10):1470-81.
- Li Y, Vilain E, Conte F, Rajpert-De Meyts E, Lau YF. Testis-specific protein Y-encoded gene is expressed in early and late stages of gonadoblastoma and testicular carcinoma in situ. *Urol Oncol* 2007;25(2):141-6.
- Lloyd J, Crouch NS, Minto CL, Liao LM, Creighton SM. Female genital appearance: "normality" unfolds. *BJOG* 2005;112(5):643-6.
- Low Y, Hutson JM. Rules for clinical diagnosis in babies with ambiguous genitalia. *J Paediatr Child Health* 2003;39(6):406-13.
- Manuel M, Katayama PK, Jones HW, Jr. The age of occurrence of gonadal tumors in intersex patients with a Y chromosome. *Am J Obstet Gynecol* 1976;124(3):293-300.
- Massa GG, Langenhorst V, Oostdijk W, Wit JM. [Micropenis in children: etiology, diagnosis and therapy]. *Ned Tijdschr Geneesk* 1997;141(11):511-5.
- Mazzanti L, Cicognani A, Baldazzi L, Bergamachi R, Scarano E, Strocchi S, Nicoletti A, Mencarelli F, Pittalis M, Forabosco A, Cacciari E. Gonadoblastoma in Turner syndrome and Y-chromosome-derived material. *Am J Med Genet* 2005;135A:150-4.
- Mellink CH, de Pater JM, Poddighe PJ, Smeets DFCM. Kwaliteit cytogenetisch onderzoek: voorwaarden, normen, toetsen, 2003. ISBN 90-807863-1-4, revisie 2008
- Miura K, Acierno JS, Jr., Seminara SB. Characterization of the human nasal embryonic LHRH factor gene, NELF, and a mutation screening among 65 patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism (IHH). *J Hum Genet* 2004;49(5):265-8.
- Moisan AM, Ricketts ML, Tardy V, Desrochers M, Mebarki F, Chaussain JL, Cabrol S, Raux-Demay MC, Forest MG, Sippell WG, Peter M, Morel Y, Simard J. New insight into the molecular basis of 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency: identification of eight mutations in the HSD3B2 gene eleven patients from seven new families and comparison of the functional properties of twenty-five mutant enzymes. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(12):4410-25.
- Nicolino M, Bendelac N, Jay N, Forest MG, David M. Clinical and biological assessments of the undervirilized male. *BJU Int* 2004;93(Suppl 3):20-5.
- Oberfield SE, Mondok A, Shahrivar F, Klein JF, Levine LS. Clitoral size in full-term infants. *Am J Perinatol* 1989;6(4):453-4.
- Ogilvy-Stuart AL, Brain CE. Early assessment of ambiguous genitalia. *Arch Dis Child* 2004;89(5):401-7.
- Pitteloud N, Zhang C, Pignatelli D, Li JD, Raivio T, Cole LW, Plummer L, Jacobson-Dickman EE, Mellon PL, Zhou QY, Cowlwy WF. Loss-of-function mutation in the prokineticin 2 gene causes Kallmann syndrome and normosmic idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(44):17447-52.
- Pajkrt E, Chitty LS. Prenatal gender determination and the diagnosis of genital anomalies. *BJU Int* 2004;93(suppl.3):12-9.
- Pajkrt E, Petersen OB, Chitty LS. Fetal genital anomalies: an aid to diagnosis, *Prenat Diagn* 2008;28(5):389-98.
- Prader A. 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* 1954;9(3):231-48.
- van Rijn S, Swaab H, Aleman A, Kahn RS. Social behavior and autism traits in a sex chromosomal disorder: Klinefelter (47XXY) syndrome. *J Autism Dev Disord* 2008;38(9):1634-41.

- Ross JL, Roeltgen DP, Stefanatos G, Benecke R, Zeger MP, Kushner H, Ramos P, Elder FF, Zinn AR. Cognitive and motor development during childhood in boys with Klinefelter syndrome. *Am J Med Genet A* 2008;146A(6):708-19.
- de Roux N, Young J, Misrahi M, Genet R, Chanson P, Schaison G, Milgrom E. A family with hypogonadotropic hypogonadism and mutations in the gonadotropin-releasing hormone receptor. *N Engl J Med* 1997;337(22):1597-602.
- de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(19):10972-6.
- Sallai A, Sólyom J, Dobos M, Szabó J, Halász Z, Ságodi L, Niederland T, Kozári A, Bertalan R, Ugocsai P, Fekete G. Y-chromosome makers in Turner syndrome: screening of 130 patients. *J Endocrinol Invest* 2010;33(4):222-7.
- Schonfield WA, Beebe GW. Normal growth and variation in the male genitalia from birth to maturity. *J Urol* 1942;(48):759-77.
- Scully RE. Gonadoblastoma. A review of 74 cases. *Cancer* 1970;25(6):1340-56.
- Seminara SB, Messager S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno JS, Jr., Shagoury JK, Bo-Abbas Y, Kuohung W, Schwinof KM, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Kaiser UB, Slaugenhaupt SA, Gusella JF, O'Rahilly S, Carlton MB, Crowley WF, Jr., Aparicio SA, Colledge WH. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med* 2003;349(17):1614-27.
- Semple RK, Topaloglu AK. The recent genetics of hypogonadotropic hypogonadism; novel insights and new questions. *Clin Endocrinol* 2009, Aug 29. [Epub ahead of print]
- van Silfhout A, Boot AM, Dijkhuizen T, Hoek A, Nijman R, Sikkema-Raddatz B, Ravenswaaij-Arts CM. A unique 970 kb microdeletion in 9q33.3, including the NR5A1 gene in a 46,XY female. *Eur J Med Genet* 2009;52(2-3):157-60.
- Simpson JL, de la Cruz F, Swerdloff RS, Samango-Sprouse C, Skakkebaek NE, Graham JM, Jr., Hassold T, Aylstock M, Meyer-Bahlburg HF, Willard HF, Hall JG, Salameh W, Boone K, Staessen C, Geschwind D, Giedd J, Dobs AS, Rogol A, Brinton B, Paulsen CA. Klinefelter syndrome: expanding the phenotype and identifying new research directions. *Genet Med* 2003;5(6):460-8.
- Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet* 1998;18(3):213-5.
- Topaloglu AK, Reimann F, Guclu M, Yalin AS, Kotan LD, Porter KM, Serin A, Mungan NO, Cook JR, Ozbek MN, Imamoglu S, Akalin NS, Yuksel B, O'Rahilly S, Semple RK. TAC3 and TACR3 mutations in familial hypogonadotropic hypogonadism reveal a key role for Neurokinin B in the central control of reproduction. *Nat Genet* 2009;41(3):354-8.
- Tsai PS, Gill JC. Mechanisms of disease: Insights into X-linked and autosomal-dominant Kallmann syndrome. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2006;2(3):160-71.
- Verp MS, Simpson JL. Abnormal sexual differentiation and neoplasia. *Cancer Genet Cytogenet* 1987;25(2):191-218.
- Vinci G, Brauner R, Tar A, Rouba H, Sheth J, Sheth F, Ravel C, McElreavey K, Bashamboo A. Mutations in the TSPYL1 gene associated with 46,XY DSD and male infertility. *Fertil Steril* 2009;92(4):1347-50.
- Wheeler PG, Weaver DD. Partial urorectal septum malformation sequence: a report of 25 cases. *Am J Med Genet* 2001;103(2):99-105.
- Wiktor AE, Bender G, Van Dyke DL. Identification of sex chromosome mosaicism: is analysis of 20 metaphase cells sufficient? *Am J Med Genet A* 2009;149A(2):257-9.
- Wolff DJ, Van Dyke DL, Powell CM. Laboratory guidelines for Turner syndrome. *Genet Med* 2010;12(1):52-5.
- Zachmann M, Prader A, Kind HP, Hafliger H, Budliger H. Testicular volume during adolescence. Cross-sectional and longitudinal studies. *Helv Paediatr Acta* 1974;29(1):61-72.

OVERIGE LITERATUUR

- Albers N, Ulrichs C, Gluer S, Hiort O, Sinnecker GH, Mildenerger H, Brodehl J. Etiologic classification of severe hypospadias: implications for prognosis and management. *J Pediatr* 1997;131(3):386-92.
- Andersson S, Berman DM, Jenkins EP, Russell DW. Deletion of steroid 5 alpha-reductase 2 gene in male pseudohermaphroditism. *Nature* 1991;354(6349):159-61.
- Bianco B, Lipay M, Guedes A, Oliveira K, Verreschi IT. SRY gene increases the risk of developing gonadoblastoma and/or nontumoral gonadal lesions in Turner syndrome. *Int J Gynecol Pathol* 2009;28(2):197-202.
- Boehmer AL, Brinkmann AO, Sandkuijl LA, Halley DJ, Niermeijer MF, Andersson S, de Jong FH, Kayserili H, de Vroede MA, Otten BJ, Rouwe CW, Mendonca BB, Rodrigues C, Bode HH, de Ruiten PE, Delemarre-van de Waal HA, Drop SL. 17Beta-hydroxysteroid dehydrogenase-3 deficiency: diagnosis, phenotypic variability, population genetics, and worldwide distribution of ancient and de novo mutations. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(12):4713-21.
- Boehmer AL, Nijman RJ, Lammers BA, de Coninck SJ, Van Hemel JO, Themmen AP, Mureau MA, de Jong FH, Brinkmann AO, Niermeijer MF, Drop SL. Etiological studies of severe or familial hypospadias. *J Urol* 2001;165(4):1246-54.
- Bonneau D, Toutain A, Laquerriere A, Marret S, Saugier-veber P, Barthez MA, Radi S, Biran-Mucignat V, Rodriguez D, Gelot A. X-linked lissencephaly with absent corpus callosum and ambiguous genitalia (XLAG): clinical, magnetic resonance imaging, and neuropathological findings. *Ann Neurol* 2002;51(3):340-9.
- Borgione E, Sturnio M, Spalletta A, Angela Lo Giudice M, Castiglia L, Galesi O, Ragusa A, Fichera M. Mutational analysis of the ATRX gene by DGGE: a powerful diagnostic approach for the ATRX syndrome. *Hum Mutat* 2003;21(5):529-34.
- Bose HS, Sato S, Aisenberg J, Shalev SA, Matsuo N, Miller WL. Mutations in the steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in six patients with congenital lipid adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(10):3636-9.
- Boucekckine C, Toublanc JE, Abbas N, Chaabouni S, Ouahid S, Semrouni M, Jaubert F, Toublanc M, McElreavey K, Vilain E, . Clinical and anatomical spectrum in XX sex reversed patients. Relationship to the presence of Y specific *dnA*-sequences. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994;40(6):733-42.
- Callegari C, Everett S, Ross M, Brasel JA. Anogenital ratio: measure of fetal virilization in premature and full-term newborn infants. *J Pediatr* 1987;111(2):240-3.
- Canto P, Soderlund D, Reyes E, Mendez JP. Mutations in the desert hedgehog (DHH) gene in patients with 46,XY complete pure gonadal dysgenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(9):4480-3.
- Cox MJ, Coplen DE, Austin PF. The incidence of disorders of sexual differentiation and chromosomal abnormalities of cryptorchidism and hypospadias stratified by meatal location. *J Urol* 2008;180(6):2649-52.
- Dobyns WB, Berry-Kravis E, Havernick NJ, Holden KR, Viskochil D. X-linked lissencephaly with absent corpus callosum and ambiguous genitalia. *Am J Med Genet* 1999;86(4):331-7.
- Domenice S, Correa RV, Costa EM, Nishi MY, Vilain E, Arnhold IJ, Mendonca BB. Mutations in the SRY, DAX1, SF1 and WNT4 genes in Brazilian sex-reversed patients. *Braz J Med Biol Res* 2004;37(1):145-50.
- Fluck CE, Maret A, Mallet D, Portrat-Doyen S, Achermann JC, Leheup B, Theintz GE, Mullis PE, Morel Y. A novel mutation L260P of the steroidogenic acute regulatory protein gene in three unrelated patients of Swiss ancestry with congenital lipid adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(9):5304-8.
- Fluck CE, Pandey AV, Huang N, Agrawal V, Miller WL. P450 oxidoreductase deficiency - a new form of congenital adrenal hyperplasia. *Endocr Dev* 2008;13:67-81.
- Fukami M, Nishimura G, Homma K, Nagai T, Hanaki K, Uematsu A, Ishii T, Numakura C, Sawada H, Nakacho M, Kowase T, Motomura K, Haruna H, Nakamura M, Ohishi A, Adachi M, Tajima T, Hasegawa Y, Hasegawa T, Horikawa R, Fujieda K, Ogata T. Cytochrome P450 oxidoreductase deficiency: identification and characterization of biallelic mutations and genotype-phenotype correlations in 35 Japanese patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(5):1723-31.
- Fukami M, Wada Y, Miyabayashi K, Nishino I, Hasegawa T, Nordenskjold A, Camerino G, Kretz C, Buj-Bello A, Laporte J, Yamada G, Morohashi K, Ogata T. *CXorf6* is a causative gene for hypospadias. *Nat Genet* 2006;38(12):1369-71.
- Geissler WM, Davis DL, Wu L, Bradshaw KD, Patel S, Mendonca BB, Elliston KO, Wilson JD, Russell DW, Andersson S. Male pseudohermaphroditism caused by mutations of testicular 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 3. *Nat Genet* 1994;7(1):34-9.
- Goodman FR, Bacchelli C, Brady AF, Brueton LA, Fryns JP, Mortlock DP, Innis JW, Holmes LB, Donnemfeld AE, Feingold M, Beemer FA, Hennekam RC, Scambler PJ. Novel *HOXA13* mutations and the phenotypic spectrum of hand-foot-genital syndrome. *Am J Hum Genet* 2000;67(1):197-202.

- Grigorescu-Sido A, Heinrich U, Grigorescu-Sido P, Jauch A, Hager HD, Vogt PH, Duncea I, Bettendorf M. Three new 46,XX male patients: a clinical, cytogenetic and molecular analysis. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005;18(2):197-203
- Hiort O, Klauber G, Cendron M, Sinnecker GH, Keim L, Schwinger E, Wolfe HJ, Yandell DW. Molecular characterization of the androgen receptor gene in boys with hypospadias. *Eur J Pediatr* 1994;153(5):317-21.
- Hochberg Z, Chayen R, Reiss N, Falik Z, Makler A, Munichor M, Farkas A, Goldfarb H, Ohana N, Hiort O. Clinical, biochemical, and genetic findings in a large pedigree of male and female patients with 5 alpha-reductase 2 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81(8):2821-7.
- Huang B, Wang S, Ning Y, Lamb AN, Bartley J. Autosomal XX sex reversal caused by duplication of SOX9. *Am J Med Genet* 1999;87(4):349-53.
- Jeanpierre C, Denamur E, Henry I, Cabanis MO, Luce S, Cecille A, Elion J, Peuchmaur M, Loirat C, Niaudet P, Gubler MC, Junien C. Identification of constitutional WT1 mutations, in patients with isolated diffuse mesangial sclerosis, and analysis of genotype/phenotype correlations by use of a computerized mutation database. *Am J Hum Genet* 1998;62(4):824-33.
- Jezela-Stanek A, Fisher C, Szarras-Czapnik M, Olczak-Kowalczyk D, Gibbons RJ, Slowikowska-Hilczer J, Krajewska-Walasek M. X-linked alpha thalassaemia/mental retardation syndrome: a case with gonadal dysgenesis, caused by a novel mutation in ATRX gene. *Clin Dysmorphol* 2009;18(3):168-71.
- Kater CE, Biglieri EG. Disorders of steroid 17 alpha-hydroxylase deficiency. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994;23(2):341-57.
- Kitamura K, Yanazawa M, Sugiyama N, Miura H, Iizuka-Kogo A, Kusaka M, Omichi K, Suzuki R, Kato-Fukui Y, Kamiirisa K, Matsuo M, Kamijo S, Kasahara M, Yoshioka H, Ogata T, Fukuda T, Kondo I, Kato M, Dobyns WB, Yokoyama M, Morohashi K. Mutation of ARX causes abnormal development of forebrain and testes in mice and X-linked lissencephaly with abnormal genitalia in humans. *Nat Genet* 2002;32(3):359-69.
- Kremer H, Martens JW, van Reen M, Verhoef-Post M, Wit JM, Otten BJ, Drop SL, Delemarre-van de Waal HA, Pombo-Arias M, De Luca F, Potau N, Buckler JM, Jansen M, Parks JS, Latif HA, Moll GW, Epping W, Saggese G, Mariman EC, Themmen AP, Brunner HG. A limited repertoire of mutations of the luteinizing hormone (LH) receptor gene in familial and sporadic patients with male LH-independent precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(3):1136-40.
- Kwok C, Weller PA, Guioli S, Foster JW, Mansour S, Zuffardi O, Punnett HH, Dominguez-Steglich MA, Brook JD, Young ID. Mutations in SOX9, the gene responsible for Campomelic dysplasia and autosomal sex reversal. *Am J Hum Genet* 1995;57(5):1028-36.
- Lin L, Achermann JC. Steroidogenic factor-1 (SF-1, Ad4BP, NR5A1) and disorders of testis development. *Sex Dev* 2008;2(4-5):200-9.
- Lourenco D, Brauner R, Lin L, De Perdigo A, Weryha G, Muresan M, Boudjenah R, Guerra-Junior G, Maciel-Guerra AT, Achermann JC, McElreavey K, Bashamboo A. Mutations in NR5A1 associated with ovarian insufficiency. *N Engl J Med* 2009;360(12):1200-10.
- Mallin SR. Congenital adrenal hyperplasia secondary to 17-hydroxylase deficiency. Two sisters with amenorrhea, hypokalemia, hypertension, and cystic ovaries. *Ann Intern Med* 1969;70(1):69-75.
- Parma P, Radi O, Vidal V, Chaboissier MC, Dellambra E, Valentini S, Guerra L, Schedl A, Camerino G. R-spondin1 is essential in sex determination, skin differentiation and malignancy. *Nat Genet* 2006;38(11):1304-9.
- Pinhas-Hamiel O, Zalel Y, Smith E, Mazkereth R, Aviram A, Lipitz S, Achiron R. Prenatal diagnosis of sex differentiation disorders: the role of fetal ultrasound. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(10):4547-53.
- Quigley CA, De Bellis A, Marschke KB, el Awady MK, Wilson EM, French FS. Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives. *Endocr Rev* 1995;16(3):271-321.
- Rubtsov P, Karmanov M, Sverdlova P, Spirin P, Tiulpakov A. A novel homozygous mutation in CYP11A1 gene is associated with late-onset adrenal insufficiency and hypospadias in a 46,XY patient. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(3):936-9.
- Stavrou SS, Zhu YS, Cai LQ, Katz MD, Herrera C, Defillo-Ricart M, Imperato-McGinley J. A novel mutation of the human luteinizing hormone receptor in 46XY and 46XX sisters. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(6):2091-8.
- Tomaselli S, Megiorni F, De Bernardo C, Felici A, Marrocco G, Maggiulli G, Grammatico B, Remotti D, Saccucci P, Valentini F, Mazzilli MC, Majore S, Grammatico P. Syndromic true hermaphroditism due to an R-spondin1 (RSPO1) homozygous mutation. *Hum Mutat* 2008;29(2):220-6.
- Trujillo-Tiebas MJ, Gonzalez-Gonzalez C, Lorda-Sanchez I, Querejeta ME, Ayuso C, Ramos C. Prenatal diagnosis of 46, XX male fetus. *J Assist Reprod Genet* 2006;23(5):253-4.
- Veitia R, Ion A, Barbaux S, Jobling MA, Souleyreau N, Ennis K, Ostrer H, Tosi M, Meo T, Chibani J, Fellous M, McElreavey K. Mutations and sequence variants in the testis-determining region of the Y chromosome in individuals with a 46,XY female phenotype. *Hum Genet* 1997;99(5):648-52.

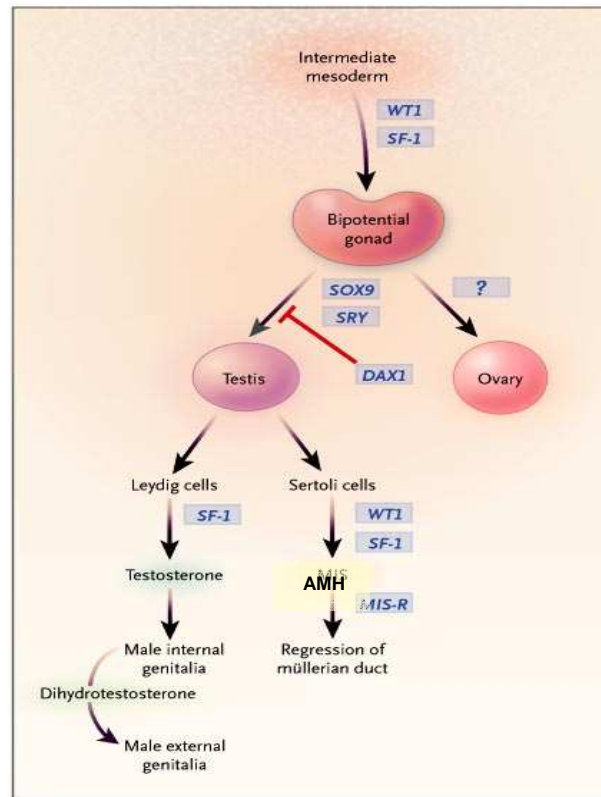
- Vialard F, Ottolenghi C, Gonzales M, Choiset A, Girard S, Siffroi JP, McElreavey K, Vibert-Guigue C, Sebaoun M, Joye N, Portnoi MF, Jaubert F, Fellous M. Deletion of 9p associated with gonadal dysfunction in 46,XY but not in 46,XX human fetuses. *J Med Genet* 2002;39(7):514-8.
- Wagner T, Wirth J, Meyer J, Zabel B, Held M, Zimmer J, Pasantes J, Bricarelli FD, Keutel J, Hustert E, . Autosomal sex reversal and campomelic dysplasia are caused by mutations in and around the SRY-related gene SOX9. *Cell* 1994 Dec 16;79(6):1111-20.
- White PC. Steroid 11 beta-hydroxylase deficiency and related disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001;30(1):61-79, vi.

BIJLAGE B1

BEKNOPTE SAMENVATTING NORMALE EMBRYOLOGIE EN GENETICA

Deze samenvatting is bedoeld als achtergrond kennis, uitgangspunt is hier de embryologie, en *niet* de klinische presentatie. Deze achtergrondgegevens zijn louter bedoeld om de in hoofdstuk 3 en verder genoemde aanbevolen onderzoeken te kunnen plaatsen binnen de etiologie van de klinische afwijkingen.

In de figuur staan de belangrijkste genen en processen samengevat



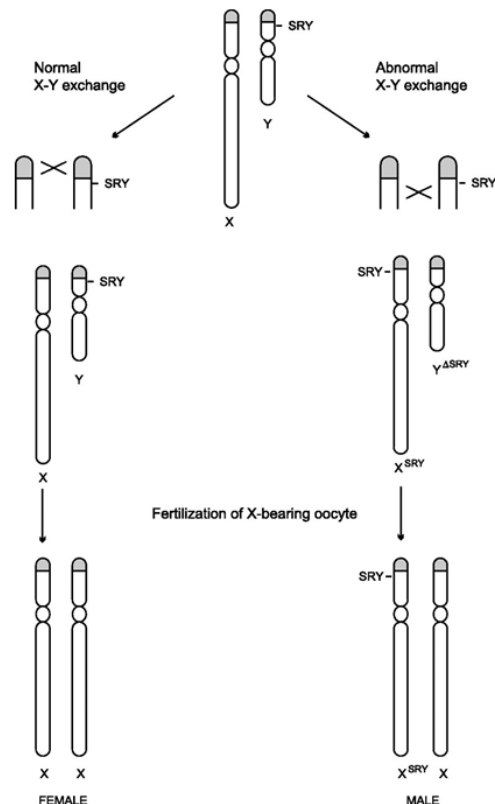
a. Vorming indifferente gonade

De indifferente gonade ontstaat uit de mesonephros (oer nier). Verschillende genen zijn bekend die hierbij een rol spelen: *WT1*, *DAX1*, *SF1*

b. SRY-gen

Het *SRY*-gen bevindt zich net onder het pseudo-autosomale gebied op het Y-chromosoom en speelt een sleutelrol bij de differentiatie van de indifferente gonade richting testis, en dus bij de vorming van testosteron (Leydig) en Anti-Müllerian Hormone of Müllerian Inhibiting Substance (Sertoli) producerende cellen.

Door unequal cross-over tussen het X- en Y-chromosoom kan het *SRY*-gen op het X-chromosoom terecht komen. Dit is de meest voorkomende oorzaak van XX-mannen.



c. Invloed AMH en testosteron op genitalia interna

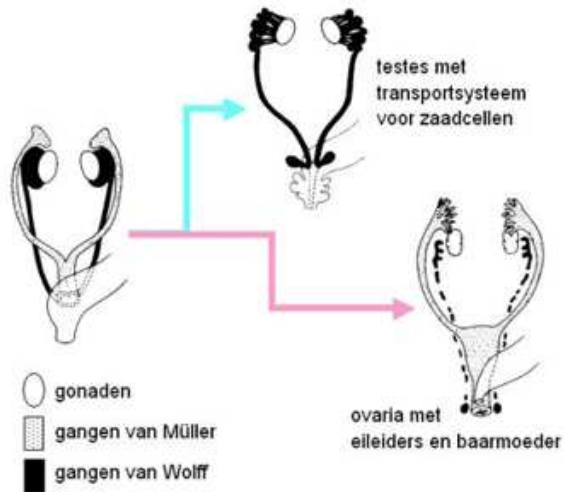
In week 7 zijn onder invloed van o.a. *PAX2*, *WNT4* en *LIM1*, buizen van Wolff en Müller gevormd in de mesonephros.

Onder invloed van *SRY* (via *SOX9*) vormen zich:

- Sertolicellen: AMH
 - > regressie buizen van Müller
- Leydigcellen: testosteron (lokaal)
 - > uitgroei buizen van Wolff

Als er geen *SRY* is:

- Geen AMH
 - > uitgroei buizen van Müller
- Geen testosteron
 - > regressie buizen van Wolff



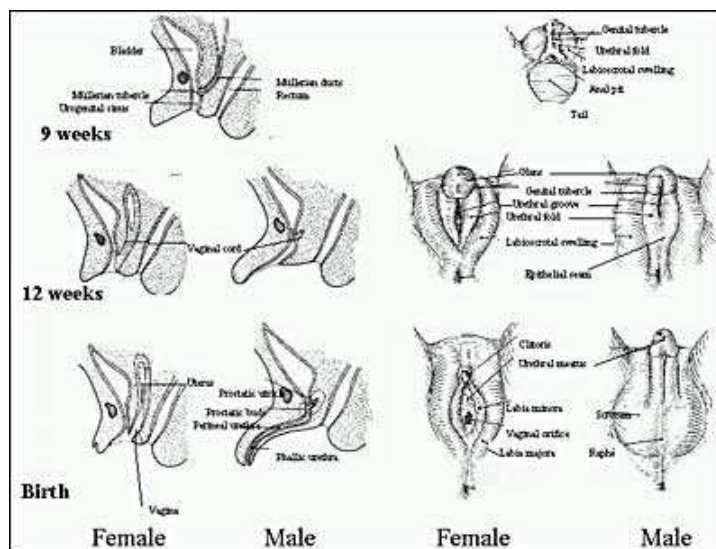
AMH-defect -> persisterend Müllerian duct syndrome

Testosteron biosynthese/receptor defect -> XY vrouw ~ ondergeviriliseerde jongen

d. Differentiatie uitwendig genitaal

In de mannelijke foetus vindt lokale omzetting plaats van testosteron naar dihydrotestosteron (DHT) onder invloed van 5α -reductase. Dihydrotestosteron bindt aan de androgeenreceptor met als gevolg activatie van genen (groeifactoren) verantwoordelijk voor de uitgroei van de genitale tuberkel en vorming van penis en scrotum.

De maximale phallus-groei vindt plaats in het 3e trimester.



e. Rol testosteron

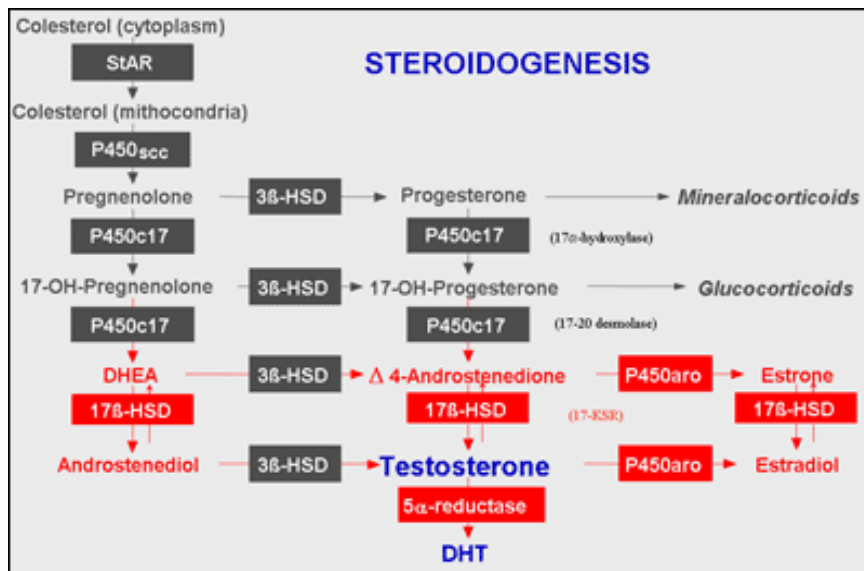
Voor de start van de testosteronproductie en de ontwikkeling van de Leydigcellen is *SFI* belangrijk. Mutaties in dit gen geven het vanishing testis syndroom.

Testosteron productie door Leydig cellen:

- buizen van Wolff (lokaal testosteron nodig, voor productie DHT op gang komt)
- prostaat
- virilisatie genitalia externa (DHT)

Controle van testosteron productie

- *SFI* initiatie van steroid synthese
- gonadotropine: hCG tot 3e trimester
- hypothalame-hypofyse as (LH) vanaf 3e trimester (hypofyse gonadotropine deficiëntie -> micropenis
LH-receptor-deficiëntie -> Leydig cel hypoplasie)



f. Genen betrokken bij vorming uitwendig genitaal

Virilisatie

- LH-receptor (AR -> Leydig cel hypoplasie)
- testosteron-biosynthese (AR)
 - syndroomaal (SLO)
 - niet-syndroomaal: testosteron ↓
testosteron ↑
- 5α-reductase (AR)
- androgeen-receptor (XR)

Groefactoren urogenitale ontwikkeling (o.a.)

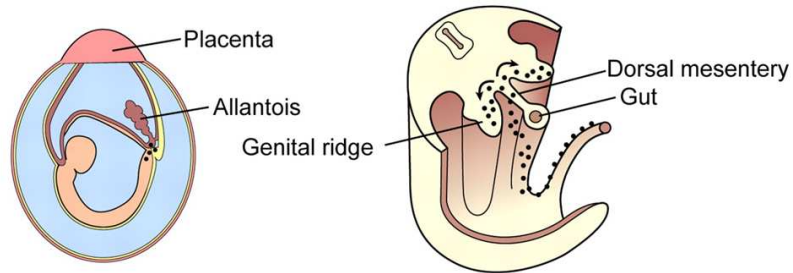
- HOXA13 (Hand-Foot-Genital syndroom)
- FGF8 en 10
- SHH
- WNT4 en 7a (buizen van Müller, uterus ↔DES)

Testis-indaling

- Insulin-like growth factor3
- AMH?

g. Geslachtscellen

De geslachtscellen migreren van de dooierzak naar de genitaalplooi. Ze zijn in de genitaalplooi niet meer mobiel, maar nog wel bipotent. In de gonade vindt de switch naar ♂ of ♀ geslachtscellen plaats o.i.v de somatische cellen in de gonade.



De Sertoli-cellen zorgen voor de ontwikkeling van spermatozoa uit de kiemcellen. Na de puberteit: LH -> testosteron ↑ -> spermatogenese

BIJLAGE B2 Overzicht DSD Teams Nederland

Contactpersonen

Academisch Medisch Centrum Amsterdam

Dhr. Dr. P. van Trotsenburg, kinderendocrinoloog
Emma Kinderziekenhuis AMC H7-238, Postbus 22660, 1100 DE Amsterdam
Tel .020-5662727
Fax 020-5669683
E-mail: A.S.vanTrotsenburg@amc.uva.nl

Academisch Ziekenhuis Vrije Universiteit Amsterdam

Mevr. Dr. Y.M.C. Hendriks, klinisch geneticus
Afdeling klinische genetica, Postbus 7057, 1007 MB Amsterdam
Tel. 020-4440150
E-mail: YMC.Hendriks@VUmc.nl

Leids Universitair Medisch Centrum

In oprichting

Maastricht Universitair Medisch Centrum

Mevr. Dr. D.A. Schott, kinderendocrinologe
Afdeling Kindergeneeskunde, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht
Tel. 043-3875239
Fax 043-3875246
E-mail: da.schott@mumc.nl

Erasmus Universitair Medisch Centrum Rotterdam

Team Genitale Ontwikkelingsstoornissen
A. van Zundert, secr. kinderendocrinologie Sp 3435, Postbus 2060, 3000 CB Rotterdam
Tel. 010-7036643
Fax. 010-7036811
E-mail: kinderendocrinologie@erasmusmc.nl

Radboud Universiteit Nijmegen Medisch Centrum

Mevr. Dr. H.L. Claahsen-van der Grinten, kinderendocrinologe
Afdeling Metabole aandoeningen en Endocrinologie (833), Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen
Tel. 024-3619118
Fax. 024-3668532
E-mail: H.Claahsen@cukz.umcn.nl

Universitair Medisch Centrum Groningen

Gianni Bocca, kinderendocrinoloog,
Beatrix Kinderkliniek, Postbus 30.001, 9700 RB Groningen
Tel. 050-3614149
E-mail: G.Bocca@bkk.umcg.nl

Universitair Medisch Centrum Utrecht

Mevr. Dr. M.A.M. de Vroede, kinderendocrinologe
WKZ. Huispost KC.03.063.0
Lundlaan 6, 3584 CX Utrecht
E-mail: M.deVroede@umcutrecht.nl

BIJLAGE B3

Leesgroep

De volgende collegae hebben commentaar gegeven op een eerste versie van deze richtlijn:

Dhr. Drs. G. Bocca, kinderendocrinoloog UMC Groningen
Mw. Dr. C.M. Bilardo, gynaecoloog, AMC Amsterdam (thans UMC Groningen)
Mw. Dr. H. Claahsen-van der Grinten, kinderendocrinoloog, UMC St Radboud Nijmegen
Mw. Dr. C. de Die-Smulders, klinisch geneticus Maastricht UMC
Dhr. Dr. J. Giltay, klinisch geneticus, UMC Utrecht
Mw. Dr. K.B-M. Hansson, klinisch cytogeneticus, Leids UMC
Mw. Dr. L. Hoefsloot, moleculair geneticus, UMC St Radboud Nijmegen
Mw. Dr. A. Hoek, gynaecoloog, UMC Groningen
Mw. Dr. A.C. Knegt, klinisch cytogeneticus, AMC Amsterdam

De commissie is de leesgroepleden erkentelijk voor hun bijdrage.

De richtlijn is tevens besproken binnen de Vereniging Klinische Genetica Nederland, het Landelijk Overleg Cytogenetica, het Landelijk Overleg DNA-diagnostiek en de het landelijk overleg van de sectie kinderendocrinologie (SEK) van de Nederlandse Vereniging voor Kindergeneeskunde.

De richtlijn zal een vervolg krijgen binnen de Vlaams-Nederlandse werkgroep Turner syndroom en o.a. in de richtlijn primaire amenorroe van de Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie i.s.m. andere wetenschappelijke verenigingen.