

ALTERACIONES DE LA DIFERENCIACIÓN SEXUAL EN PACIENTES DE LAS REGIONES CAPITAL Y CENTRO OCCIDENTAL DE VENEZUELA.

DISORDERS OF SEXUAL DIFFERENTIATION IN PATIENS FROM THE CAPITAL AND WEST CENTER REGIONS OF VENEZUELA.

Narviz Pulido¹, Leidys Osorio², Manuel Rolo², Nancy Moreno¹, José A. Martínez¹, Mileidy Linares², Yasmint Díaz², Cecilia Villegas¹, Yaniret Bravo², Mirian Hernández²

ABSTRACT

Disorders of sexual differentiation (DSD) are pathologies characterized by an atypical development of chromosomal (XX, XY) gonadal (testis, ovary) or phenotypical sex. The objective of this work was to inform the presentation forms of SDS in patients from the Capital and West Center regions of Venezuela. Seventeen patients were included and the pedigrees, clinical evaluation, hormonal studies, cytogenetic, imaging and identification of SRY gene markers and Y chromosome microsatellites were made. Depending on the clinical evaluation and data from examinations carried out, the following diagnoses were made: a) Twelve patients correspond to DSD 46, XX, of which seven patients have DSD by androgen excess, a case with sex reversal a ovotesticular DSD, a case with malformation syndrome, one with gonadal dysgenesis and one hypogonadism; b) Four patients presented DSD 46, XY (a patient with Smith-Lemli-Opitz syndrome II, one malformation syndrome and two cases with hypogonadism) c) A case of ADSs by chromosomal abnormality 46,XXY (Klinefelter syndrome). In relation to age of first consultation, the majority (47.1%) was performed in children under 5 years, referred by sexual ambiguity with need to address sex identification. In puberty, the patients consult due to alterations in secondary sexual characteristics and amenorrhea in teenagers, in adulthood due to infertility. The results helped to make a better genetic counseling and to improve the quality of life of patients and their families.

KEY WORDS: Disorders of sexual differentiation, genetic counseling, Y chromosome markers.

RESUMEN

Las alteraciones de la diferenciación sexual (ADS) son patologías originadas por trastornos en una de las tres etapas sucesivas de dicha diferenciación: cromosómica (XX, XY), gonadal (testículo, ovario) o fenotípica. El objetivo del trabajo fue dar a conocer la forma de presentación de las ADS en pacientes provenientes de las regiones Capital y Centro Occidental de Venezuela. Se incluyeron diecisiete pacientes y se elaboraron los árboles genealógicos, se realizó evaluación clínica, estudios hormonales, citogenéticos, imagenología y determinación de marcadores del gen SRY y microsatélites del cromosoma Y. En función de la evaluación clínica y los datos obtenidos de los exámenes practicados, se efectuaron los diagnósticos siguientes: a) Doce corresponden a ADS 46,XX, de los cuales siete pacientes tienen ADS por exceso de andrógenos, un caso con reversión sexual, un ADS ovotesticular, un caso con síndrome malformativo, uno con disgenesia gonadal y uno con hipogonadismo, b) Cuatro presentan ADS 46,XY (un paciente con síndrome de Smith-Lemli-Opitz II, uno con síndrome malformativo y dos casos con hipogonadismo), c) Un caso de ADS por alteración cromosómica 46,XXY (síndrome de Klinefelter). En relación a la edad de la primera consulta, la mayor parte (47,1%) se realizó en menores de 5 años, referidos por ambigüedad sexual con necesidad de resolver la identificación del sexo; en la pubertad los pacientes consultan por alteraciones en los caracteres sexuales secundarios y amenorrea (adolescentes); en la adultez por infertilidad. Los resultados permitieron realizar un mejor asesoramiento genético y contribuir a mejorar la calidad de vida de los pacientes y sus grupos familiares.

PALABRAS CLAVE: Alteraciones de diferenciación sexual, asesoramiento genético, marcadores cromosoma Y.

INTRODUCCIÓN

La diferenciación sexual se realiza en tres etapas sucesivas: a) Genética o cromosómica, la cual se establece en la fecundación y depende que un espermatozoide con un cromosoma X o Y fecunde a un óvulo que siempre

aporta un cromosoma X, b) Gonadal, comienza entre la sexta a séptima semana de vida intrauterina cuando un primordio idéntico en embriones femeninos y masculinos, se transforma en testículos por acción de la región determinante del sexo del cromosoma Y (SRY del inglés: Sex determining Region on Y chromosome) y c) Fenotípica que depende de la secreción y acción de diversas hormonas entre las cuales se encuentran la hormona antimülleriana (AMH) y la testosterona.¹

Las alteraciones de la diferenciación sexual (ADS), se definen como un conjunto de trastornos congénitos o adquiridos que provocan una discordancia

Recibido: 06/04/2015 Aprobado: 15/07/2015

¹Sección de Polimorfismos Genómicos del Instituto de Investigaciones Biomédicas "Dr Francisco J. Triana-Alonso"

²Unidad Proyecto Aragúa, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo-Núcleo Aragúa, Venezuela.

Correspondencia: leidysorio@hotmail.com

en la diferenciación del sexo, antes denominadas estados intersexo o genitales ambiguos. En el año 2006 una comisión de expertos designada por la Sociedad de Endocrinología Pediátrica Europea (ESPE) y la Sociedad de Endocrinología Pediátrica Lawson Wilkins (LWPES), propusieron un nuevo sistema de clasificación de las ADS basado en el análisis de cariotipo que comprende tres grandes grupos: ADS 46XX, ADS 46XY y ADS por alteraciones cromosómicas. Asimismo indicaron un cambio en la terminología que hasta entonces se estaba utilizando, como hermafroditismo o pseudo hermafroditismo por considerarlos inadecuados y peyorativos para el paciente.^{2,3}

Existen diferentes causas que pueden alterar la diferenciación sexual, entre ellas se encuentran: a) las de origen genético, b) la acción de fármacos que bloquean la actividad enzimática necesaria para la síntesis de andrógenos y c) factores ambientales que actúan sobre el embrión y generan genitales externos ambiguos en el recién nacido, estado que implica la presencia de una conformación anormal de los genitales externos, no acorde claramente al sexo genético.⁴

Entre los genes y secuencias genéticas que participan activamente en el proceso de diferenciación sexual, destaca el gen SRY localizado en el brazo corto del cromosoma Y, próximo a la zona pseudoautosómica en la región Yp11.3 es pequeño y sin intrones, contenido en un segmento de 2,1 kilobases (Kb) y codifica una proteína de 204 aminoácidos llamada producto SRY1. Esta proteína, factor determinante testicular, activa otros genes que inducen la formación de los órganos sexuales rudimentarios y hace que se produzca el desarrollo en sentido masculino; mientras que, en su ausencia el desarrollo se da en sentido femenino.⁵

Una de las alteraciones genéticas más frecuentes es la translocación del gen SRY a un cromosoma X, estos individuos presentan un fenotipo masculino y cariotipo 46XX, quienes son positivos para el gen SRY. De forma similar, ocurre con la delección de SRY dando lugar a mujeres fenotípicamente femeninas con cariotipo 46XY, quienes a pesar de poseer el cromosoma Y, éste ha perdido la región determinante del sexo masculino.⁶ Igualmente se han descrito numerosas alteraciones estructurales de los cromosomas y mosaicismo, así como mutaciones en los genes responsables de la organogénesis testicular y ovárica que pueden originar anomalías del desarrollo gonadal y ser la causa de cuadros de disgenesia.⁷

Desde el punto de vista epidemiológico, se han reportado estas alteraciones de la diferenciación sexual, con una incidencia de 1/4500 nacidos vivos,

aproximadamente, siendo la hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) la causa más frecuente.³ Por otra parte, el Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas (ECLAMC) durante el periodo de 1967 a 1982 reportó que de 898.435 recién nacidos vivos, 1% tenían genitales ambiguos y de 4549 mortinatos 30% presentaban esta anomalía. En Buenos Aires, durante los años de 1988 a 1996 se atendieron en la Maternidad Sardá un total de 60.440 partos y se hallaron 14 recién nacidos que presentaban genitales ambiguos, de los cuales 10 nacieron vivos y 4 muertos.⁸

En Venezuela, la Unidad de Genética Médica de la Universidad del Zulia realizó un análisis de los aspectos epidemiológicos, clínicos, endocrinos y genéticos de cuatrocientos veintinueve (429) pacientes de 391 familias que consultaron a esta Unidad en el periodo 1971 - 1996, por presentar alguna anomalía de la diferenciación sexual. Se detectaron 214 (50%) pacientes con diagnóstico definitivo de ADS al cumplir los criterios de inclusión establecidos, distribuidos de la siguiente manera: 139 (65%) pacientes con anomalías de los cromosomas sexuales, 36 (16,8%) pacientes con hiperplasia adrenal congénita, 21 (9,8%) pacientes con síndrome de insensibilidad androgénica completa, 14 (6,6%) pacientes con disgenesia gonadal mixta y 4 (1,8%) pacientes con hermafroditismo verdadero.⁹

Sánchez y cols.¹⁰ evaluaron los casos de ADS atendidos en el Hospital de Niños "Dr. José Manuel de los Ríos" en Caracas, Venezuela en el periodo 2000-2004 y describieron una variedad de exámenes para el manejo y diagnóstico clínico, en el que incluyeron pruebas hormonales, ecografía, entre otros. Los resultados arrojaron que de 73 pacientes evaluados, 59 se corresponden a ADS 46,XX con hiperplasia suprarrenal congénita; 4 (5,47%) correspondían a ADS ovotesticular, 6 ambigüedad genital de causa no específica y 4 ADS 46,XY. De igual forma, Velázquez y cols.¹¹ hacen referencia al estudio de pacientes con alteración de la diferenciación sexual 45,X/46,XY que acudieron al hospital "Dr. J.M. de los Ríos" en el período 1983 a 2008. Se identificaron doce pacientes con mosaicismo 45,X/46,XY con una amplia expresividad clínica, de ellos 50% consultó por ambigüedad genital, 41,6% por talla baja y 8,4% por criptorquidia.

Por otra parte, Álvarez y cols.¹² describen el caso de un recién nacido que fue evaluado por un equipo multidisciplinario para la asignación del sexo más conveniente; luego de numerosos estudios plantean como diagnóstico disgenesia gonadal parcial vs síndrome ovotesticular, y manifiestan que las

alteraciones de diferenciación sexual requiere el diagnóstico temprano, que permite el tratamiento oportuno más adecuado de acuerdo a la situación biológica de cada paciente lo cual influye de manera decisiva sobre la psiquis del individuo, sus familiares y su entorno.

En la Unidad Proyecto Aragua de la Universidad de Carabobo-Núcleo Aragua, donde se atienden pacientes con enfermedades de origen genético referidos de centros de salud públicos y privados, ha evidenciado en varios de estos pacientes la presencia de ADS, lo cual requiere un diagnóstico y asesoramiento genético para determinar su sexo en algunos, corregir alteraciones del desarrollo y maduración sexual en otros y en todos los casos, mejorar la calidad de vida de los pacientes y sus familias.

El propósito de esta investigación es describir las diversas formas de presentación de los ADS en una muestra de pacientes de las regiones capital y centro occidental de Venezuela y el abordaje para efectuar su diagnóstico y asesoramiento integral.

SUJETOS Y MÉTODOS

La investigación se realizó con un grupo de diecisiete (17) pacientes con ADS, atendidos en la consulta de Asesoramiento Genético de la Unidad Proyecto Aragua (UPA) durante el período 2004 - 2010, referidos de centros de salud públicos y privados con impresión diagnóstica de genitales ambiguos y otras alteraciones de diferenciación sexual, a quienes se les solicitó consentimiento informado y firmado, para participar en la investigación previa explicación detallada de los objetivos, así como los beneficios y posibles riesgos a los cuales pudiera estar sometido, todo esto siguiendo las pautas bioéticas que rigen la investigación en humanos.

EVALUACIÓN CLÍNICA

En primer lugar se elaboró la historia clínica constituida por: a) Evolución de la gestación, tomando la información sobre amenaza de aborto, parto prematuro, enfermedades concomitantes y uso de hormonas b) Edad al momento de la consulta, tomando en cuenta, que la edad del paciente determina el tipo de tratamiento hormonal, quirúrgico o ambos, c) Antecedentes personales, comprende datos del paciente desde antes de su nacimiento, exposición a agentes físicos como rayos X; químicos por ingesta de fármaco de los padres y biológicos como toxoplasmosis o rubéola, además, se indaga si el paciente presenta alguna patología genética,

que conduzca a trastornos de la diferenciación sexual, d) Antecedentes familiares, como abuelos, padres, tíos, hermanos o primo hermanos con ADS o patologías relacionadas y e) Consanguinidad remota, entendida como el emparejamiento de individuos que muestran una relación genética conocida o inferida por la proximidad geográfica de los antepasados por ambas ramas parentales.⁶ Posteriormente, se realizó el examen físico con especial énfasis en la región genital y además, como estudios complementarios, se efectuaron en otras instituciones de salud, exámenes paraclínicos, como la imagenología y determinaciones hormonales, para precisar el diagnóstico.

ANÁLISIS DE LABORATORIO

Se tomó una muestra de 4 mL de sangre periférica (3 mL se colocaron en un tubo con anticoagulante heparina) para efectuar los análisis citogenéticos, y 1 mL con anticoagulante ácido etilidiaminotetraacético (EDTA) para la detección de secuencias del gen SRY y marcadores microsátélites del cromosoma Y.

Determinación de cariotipo y cromatina de Barr: Se tomaron 2,5 mL de medio de cultivo PBMAX Karyotyping (GIBCO) y se agregaron 10 gotas de sangre con heparina, luego se incubó durante 72 h a 37° C, posteriormente se adicionó Colcemid (GIBCO) 0,2 ug/mL, se resuspendió en KCl y se agregó metanol/ácido acético para fijar las células, se coloreó con la técnica de Giemsa en 5 min y finalmente se realizó la observación en el microscopio. La cromatina de Barr se determinó en células de la mucosa oral a partir de un raspado realizado del carrillo interno, la muestra se extendió en una lámina portaobjeto, se fijó con alcohol absoluto, luego se lavó con HCl y se coloreó con tionina, al observar al microscopio se tomaron como positivas las muestras que presentaron el corpúsculo de Barr coloreado en la periferia del núcleo.

Aislamiento de ADN: El ADN genómico se obtuvo a partir de glóbulos blancos aislados de una muestra de 300 L de sangre periférica, utilizando una modificación del método de Miller y cols.13 basado en una extracción salina, seguida de una precipitación con isopropanol, luego se determinó la pureza y concentración del ADN mediante la espectrofotometría y la calidad se verificó a través de electroforesis en gel de agarosa al 1% revelado con bromuro de etidio.

Detección del gen SRY: Para llevar a cabo la reacción de PCR e identificar la secuencia de 778 pb del gen SRY, se emplearon los oligonucleótidos cebadores 5'-GGTGTGAGGGCGAGAAATG-3' y 5'-

GAATTCGTAGCCAATGTTACCCGATTG-3'.¹⁴ El volumen total de reacción fue de 25 L y la mezcla estuvo integrada por: oligonucleótidos cebadores 0,35 M dNTPs 100 M tampón PCR 1X (pH 8,3), MgCl₂ 1mM Taq ADN polimerasa 0,75 U y ADN 15 ng. Los productos de la amplificación fueron separados mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 6%, revelados por tinción con sales de plata y se utilizó como referencia el marcador 100 pb (Promega).

Detección de secuencias de microsatélites (STRs) del cromosoma Y: Se seleccionaron cinco STRs que están ubicados en diferentes zonas a lo largo del cromosoma Y, dos en el brazo corto (DYS19 y *DYS393*) y tres en el brazo largo (*DYS390*, *DYS391* y *DYS392*). Los oligonucleótidos Cebadores^{15,16} utilizados se presentan en el Cuadro 1.

Anomalías del desarrollo gonadal y ovárico que se presentan bajo la forma de ADS ovotesticular, disgenesia gonadal 46, XX y ADS testicular (SRY, duplicación SOX9), b) Excesos de andrógenos donde la hiperplasia suprarrenal congénita es la más frecuente y c) Síndromes malformativos con anomalías en el desarrollo genital. 3) ADS con cariotipo 46, XY a) Anomalías del desarrollo gonadal (testicular): Disgenesia gonadal completa o parcial (se caracteriza por la falta del desarrollo testicular que conduce a la aparición de genitales externos e internos femeninos); Regresión testicular o síndrome de ausencia gonadal (pacientes con cariotipo 46, XY que crecen como niñas); b) Anomalías de la síntesis o acción de los andrógenos: Déficit en la síntesis de testosterona, Insensibilidad total o parcial a los andrógenos, c) Anomalías de la síntesis o acción de

Cuadro 1. Detección de secuencias de microsatélites del cromosoma Y

<i>DYS19:</i>	(5'-CTACTGAGTTTCTGTTATAGT-3'	y	5'-ATGGCATGTAGTGAGGACA-3')
<i>DYS393:</i>	(5'-GTGGTCTTCTACTTGTGTCAATAC-3'	y	5'-AACTCAAGTCCAAAAAATGAGG-3')
<i>DYS390:</i>	(5'-TATATTTTACACATTTTGGGCC-3'	y	5'-TGACAGTAAAATGAACACATTGC-3')
<i>DYS391:</i>	(5'-CTATTCATTCAATCATAACCCCA-3'	y	5'-GATTCTTTGTGGTGGGTCTG-3')
<i>DYS392:</i>	(5'-TCATTAATCTAGCTTTTAAAAACAA-3'	y	5'-AGACCCAGTTGATGCAATGT-3')

La amplificación se llevó a cabo de manera individual en un termociclador Perkin Elmer modelo 2400, el volumen final de reacción fue de 25 L con las condiciones siguientes: oligonucleótidos cebadores 0,2 - 0,3 M dNTPs 180 - 200 M MgCl₂ 1,5 - 3,0 mM Taq ADN polimerasa 1 U, tampón PCR 1X (pH 8,3) y ADN 20 - 50 ng. Para verificar la presencia de las secuencias de ADN amplificadas se realizó una electroforesis en gel de poliacrilamida al 8% y las bandas de ADN se detectaron mediante tinción con sales de plata.

DIAGNÓSTICO DE LOS PACIENTES

Los pacientes fueron diagnosticados según los criterios planteados por la ESPE y la LWPES en el consenso publicado en el año 2006,² cuya clasificación se basa en tres grandes grupos: 1) ADS con anomalías de los cromosomas sexuales 45, X y mosaicismos 45, XO/46, XX síndrome de Turner; 47,XXY síndrome de Klinefelter; 45,X/46, XY disgenesia gonadal mixta (desarrollo gonadal asimétrico); 46, XX/46, XY ADS ovotesticular (presencia de tejido ovárico y testicular en un mismo individuo), 2) ADS con cariotipo 46, XX a)

factor inhibitor de los conductos de Müller y d) otros síndromes polimalformativos.

RESULTADOS

En relación a la edad al momento del diagnóstico, se determinó que ésta estuvo comprendida en tres grupos, los cuales se presentan en la tabla 1, donde el mayor número de casos fue en las edades de 0-5 años cuyos motivos de consulta son ambigüedad genital; el intervalo de 12-17 años representado por individuos con alteración en la maduración y desarrollo de caracteres sexuales secundarios y el grupo de 18 años o más por trastornos de amenorrea primaria y de infertilidad. (Tabla 1).

La procedencia geográfica de los abuelos de los pacientes con anomalías de la diferenciación sexual se presenta en la tabla 2, aquí se refleja que en el 67% de los casos la consanguinidad remota es poco probable y solo en el 17,6% se puede inferir la probabilidad alta de consanguinidad. (Tabla 2).

Tabla 1. Pacientes con alteraciones de la diferenciación sexual distribuidos por edad al momento de la consulta.

Edad (en años)	N	%
0 - 5	8	47,1
6 -11	2	11,8
12 -17	3	17,6
18-23	3	17,6
24-29	1	5,9
Total	17	100

Para precisar el diagnóstico se requiere evidenciar las características clínicas de interés en cada uno de los pacientes, estudios hormonales, citogenética, cromatina de Barr, y Biología Molecular (marcadores del cromosoma Y y del gen SRY), en la Tabla 3 se presentan los resultados que soportan el diagnóstico.

En cuanto a los antecedentes familiares, se encontró que en dos pacientes (N° 4 y 5) hubo otro hermano (referido por los padres) que tenía alteraciones en sus genitales semejantes a los casos índices; sin embargo, no pudieron ser estudiados por negación de los afectados. En la figura 1 se muestra la genealogía de ambos pacientes.

DISCUSIÓN

Las alteraciones de los genitales externos, son condiciones que deben considerarse una emergencia médica y social por los serios problemas psicológicos que puede ocasionar al individuo y a su entorno familiar, dependiendo del sexo que se le asigne se condicionará si evoluciona adecuadamente desde el punto de vista sexual, psicológico y social.^{17,18}

Al analizar la variable edad al momento del diagnóstico se evidenció la presencia de tres grupos claramente definidos: el de mayor frecuencia corresponde a los pacientes atendidos desde los primeros meses de vida hasta los 5 años de edad (47,1%), en estos casos el motivo de consulta en recién nacidos y lactantes es la preocupación por ambigüedad sexual y la necesidad de establecer la identidad legal para la presentación en el registro civil; en este sentido, Youlton⁴ expresa que un neonato a quien no se le puede asignar el sexo es un drama para los padres y familiares. En preescolares y escolares el motivo de consulta fue la clarificación del sexo biológico y de crianza, ya que además de la

presencia de alteraciones anatómicas, presentan hábitos, gustos y juegos que no coinciden con lo establecido por la sociedad para cada género, por ejemplo: los niños muestran preferencia por juguetes como muñecas, que culturalmente son utilizadas por las niñas, mientras que éstas prefieren la vestimenta y los juegos de orientación masculina; tales situaciones son signos de alarma para los padres. Los dos grupos siguientes (comprendidos entre 12 a 23 años) acudieron a la consulta por trastornos en la aparición o desarrollo de los caracteres sexuales secundarios y el grupo restante es decir, 5,9% asistió por infertilidad, ya que al tener pareja quieren reproducirse y es cuando comienzan a preocuparse por la anormalidad genital que presentan.

En relación a la procedencia geográfica de los 4 abuelos de los casos índices, se obtuvo que los pacientes N° 7, 8, 12 y 17 presentan una alta probabilidad de consanguinidad remota, lo que indica que la anomalía de la diferenciación sexual que presentan estos pacientes puede deberse a un posible patrón genético de carácter autosómico recesivo, con la excepción del paciente N° 17 con diagnóstico de síndrome de Klinefelter, en el cual no se ha descrito un efecto de la consanguinidad entre los progenitores. Nussbaum,⁶ hace referencia a la necesidad de investigar cuidadosamente el antecedente de la consanguinidad remota, puesto que la probabilidad de presentar padecimientos autosómicos recesivos aumenta en relación con el grado de parentesco. En patologías génicas muy infrecuentes con patrón de herencia autosómico recesivo, como presentan algunos de los pacientes estudiados, debe indagarse al máximo para encontrar indicios de identidad alélica por ascendencia. Desafortunadamente, en Venezuela es frecuente encontrar pacientes que tienen muy poca información sobre sus antepasados próximos, lo cual dificulta el diagnóstico del patrón de herencia y la inferencia de la homocigosidad para genes infrecuentes.

Tabla 2. Procedencia geográfica de los abuelos de los pacientes con alteraciones de la diferenciación sexual

Paciente Nº	Lugar de Nacimiento de los Abuelos				Consanguinidad remota
	Maternos		Paternos		
	Abuela	Abuelo	Abuela	Abuelo	
1	Isla de Toas (Zulia)	Isla de Toas (Zulia)	Rubio (Táchira)	Maracaibo	Baja
2	Palo negro	Palo Negro	San Felipe	Píritu (Portuguesa)	Baja
3	Valencia	Valencia	Birongo (Miranda)	Caracas	Baja
4	El Amparo (Apure)	Guasualito (Apure)	Boquerón (Carabobo)	-----	Baja
5	Cerro azul (Yaracuy)	El Bigote (Yaracuy)	Caracas	Caracas	Baja
6	El Tigre (Anzoátegui)	Tucupido (Guárico)	Barinas	Mantecal (Apure)	Baja
7	Guasualito (Apure)	Guasualito (Apure)	Guasualito (Apure)	Guasualito (Apure)	Alta
8	Churuguara (Falcón)	Taica (Falcón)	Boca del Tocuyo (Falcón)	San José de la Costa (Falcón)	Alta
9	Guárico	Maracay	Caracas	Valle de la Pascua	Baja
10	La Asunción (Nva. Esparta)	Carache (Trujillo)	El Pilar (Sucre)	La Vecindad (Nva. Esparta)	Moderada
11	Manuare (Carabobo)	El Tigre	Guanare	Guanare	Baja
12	Estreito de Calleta Portugal	Punta Delgada Portugal	Estreito de Calleta Portugal	-----	Alta
13	Los Teques Miranda	Mérida	Villa de Cura	Argentina	Baja
14	Cagua	San Sebastián	Aragua	Santa Cruz (Aragua)	Baja
15	Tinaquillo (Cojedes)	Tinaquillo (Cojedes)	San Casimiro	Villa de cura	Baja
16	Güigüe Carabobo	Guiria Sucre	Valencia	Caracas	Baja
17	Quebraón Carabobo	Quebraón	Quebraoncito Guárico	Quebraoncito	Alta

Tabla 3. Características clínicas, citogenéticas y marcadores del cromosoma Y que soportan el diagnóstico de ADS en el grupo de pacientes analizados

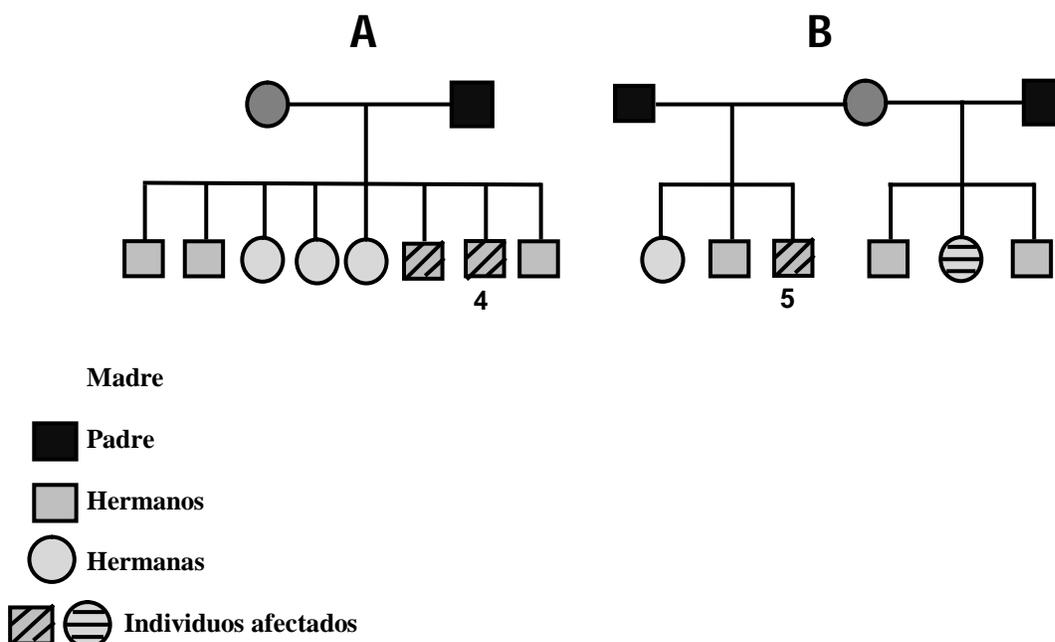
N°	Examen físico	Cariotipo	Cromatina de Barr	STRs cromosoma Y	Gen SRY	Diagnóstico
1	Testículos pequeños y ginecomastia bilateral.	46,XX	5,8%	*	+	ADS testicular
2	Pene y uretra bien ubicada, vulva con introito vaginal y testículos.	46,XX	4,6%	No	-	ADS ovotesticular
3	Labios mayores, micropene y ausencia de bolsas escrotales.	46,XX	4,2%	No	-	ADS por exceso de andrógenos
4	Amaneramiento, talla baja, y testículos pequeños	46,XX	6,5%	No	-	ADS 46,XX con Disgenesia gonadal
5	Labios mayores escrotalizados e hipertrofia del clítoris.	46,XX	4,7%	No	-	ADS por exceso de andrógenos
6	Clítoris hipertrofiado	46,XX	5,8%	No	-	ADS por exceso de andrógenos
7	Hipertrofia de labios menores y ausencia de canal vaginal.	46,XX	4,5%	No	-	ADS por exceso de andrógenos
8	Labios mayores hipertrofiados, y otras malformaciones extragenitales.	46,XX	-----	No	-	Síndrome malformativo con ADS 46, XX
9	Labios mayores y micropene, sin labios menores y canal vaginal.	46,XX	-----	No	-	ADS por exceso de andrógenos
10	Labios mayores escrotalizados, hipertrofia del clítoris y micropene.	46,XX	3,3%	No	-	ADS por exceso de andrógenos.
11	Labios mayores y labios menores fusionados, clítoris hipertrofiado.	46,XX	-----	No	-	ADS por exceso de andrógenos
12	Poco desarrollo sexual y ovarios pequeños.	46,XX	4,9%	No	-	ADS 46, XX con hipogonadismo
13	Genitales femeninos de configuración normal, microcefalia y labio leporino	46,XY	-----	Si	+	ADS 46, XY regresión testicular o Síndrome de Smith Lemli Optiz II
14	Pies en mecedora, labio, paladar hendido y genitales ambiguos.	46,XY	-----	Si	+	Síndrome malformativo con ADS 46, XY
15	Atresia del meato y criptorquidia derecha	46,XY	-----	Si	+	ADS con hipogonadismo
16	Testículos y pene pequeño	46, XY	0%	Si	+	ADS con hipogonadismo primario
17	Testículos y pene pequeño	47,XXY	1%	Si	+	ADS por alteraciones cromosómicas: Síndrome de Klinefelter

-----: No se realizó la prueba
*: Sólo se detectaron 3 STR

Si: Se detectaron todos los STRs

No: se detectaron

Figura 1. Representación genealógica de los pacientes con antecedentes familiares.



A: Paciente N° 4. Tiene un hermano con las mismas características fenotípicas

B. Paciente N° 5. Tiene una media hermana con ADS por exceso de andrógenos

El análisis de la evaluación clínica y los resultados de exámenes citogenéticos, hormonales, de imagenología y moleculares permitió agrupar los diagnósticos de la manera siguiente: a) Doce corresponden a ADS 46, XX (de los cuales siete pacientes tienen ADS por exceso de andrógenos, un caso con reversión sexual, un ADS ovotesticular, un caso con síndrome malformativo, uno con disgenesia gonadal y uno con hipogonadismo), b) Cuatro presentan ADS 46, XY (un paciente con síndrome de Smith-Lemli-Opitz II, uno con síndrome malformativo y dos casos con hipogonadismo) y c) Un caso de ADS por alteración cromosómica 46, XXY (síndrome de Klinefelter). A pesar de existir múltiples causas que generan estos trastornos,¹⁹ a gran parte de los pacientes analizados se les asignó el diagnóstico de ADS por exceso de andrógenos con cariotipo 46, XX, cromatina de Barr positiva y sin detección de la presencia del gen SRY y marcadores microsatélites del cromosoma Y. Estos resultados indican que estas personas son genéticamente del sexo femenino y concuerda con lo señalado por Öçal,⁷ siendo la causa más frecuente de esta anomalía la hiperplasia suprarrenal congénita (HSC), la cual es un trastorno mendeliano autosómico recesivo originado por defectos específicos de enzimas

de la corteza suprarrenal, que conduce a una producción excesiva de andrógenos causando masculinización de los genitales externos.²⁰ En este grupo la realización de los electrolitos es imperativo para identificar si se trata de la forma clásica virilizante o la perdedora de sal que pone en riesgo la vida del recién nacido de no tratarse como una emergencia médica.

En los casos identificados con los números 4 y 5, se encontró que tienen otro hermano con alteraciones en los genitales semejantes al caso índice, pero al no lograr obtener más información por negación de los afectados, futuro, para indagar más sobre estas familias, explicando con mayor énfasis la importancia de analizar estos trastornos en caso de descendencia y brindarles una mejor orientación.

El asesoramiento genético ocupa un lugar relevante en la atención de los ADS, ya que implica el manejo de información que la mayoría de las veces, resulta muy compleja, por lo tanto es necesario utilizar un lenguaje adaptado al paciente y al grupo familiar, es recomendable el uso de diagramas sencillos, dibujos y ayudas audiovisuales. Para todo recién nacido con ADS la evaluación comienza con un buen interrogatorio

desde la historia obstétrica, que debe recoger la presencia de cualquier evidencia de trastorno hormonal durante la gestación, el interrogatorio sobre la historia familiar de muertes fetales (hiperplasia suprarrenal congénita) y la historia de consanguinidad.¹⁹

En los niños, la inspección de genitales externos permite determinar el grado de ambigüedad sexual. Por otra parte, en todos los casos los estudios citogenéticos tienen un gran valor en la identificación sexual y permite reconocer o clasificar las ADS en pacientes con cariotipo 46,XY que requieren estudios bioquímicos, para definir si se trata de alteración en la síntesis o acción de los andrógenos por déficits enzimáticos en la biosíntesis de la testosterona, déficit de la 5-alfa reductasa, anomalías en la recepción de andrógenos, aplasia o hipoplasia de las células de Leydig o anomalías de la síntesis o acción del factor inhibidor de los conductos de Müller.³ En el caso del recién nacido masculino los hallazgos pueden ser: si tiene testículos no palpables bilateralmente, hipospadias asociadas con separación de bolsas escrotales y testículos no descendidos, mientras que en el femenino la presencia de clítoris hipertrofiado o hernia inguinal, se piensa en la hiperplasia suprarrenal congénita ya que es la causa más frecuente. La clasificación y manejo de pacientes con este tipo de patologías continúa siendo un reto para todo el equipo de salud implicado. Es necesario contar con registros que ayuden a proporcionar una mejor comprensión de la incidencia y la evolución clínica de estos trastornos.

Los estudios de Biología Molecular incluyendo la identificación del gen SRY, marcadores microsatélites del cromosoma Y y el análisis de otros genes como SOX9,^{21,22} son una valiosa herramienta para determinar el sexo en aquellos pacientes cuyos estudios clínicos y bioquímicos por sí solo no lo precisan y definen el diagnóstico orientando el asesoramiento. En todos los casos, se requiere del apoyo del equipo de salud multidisciplinario para la corrección hormonal, quirúrgica o ambas que necesite el paciente, así como la orientación sexual y el riesgo de recurrencia familiar entre otros.²³

El conocimiento obtenido de todas las evaluaciones realizadas a los pacientes con esta situación, permite el diagnóstico más certero, la orientación y el apoyo psicológico a sus familiares, para quienes esta situación es de alta complejidad y estrés, debido a los aspectos biopsicosociales que deberán resolver en cada etapa de la vida del paciente, tales como la incertidumbre del sexo del recién nacido, la identidad legal que debe darse del paciente ante el registro de nacimiento, el sexo de crianza, que debe imponerse de acuerdo a lo evidenciado en los diagnósticos obtenidos, la resolución quirúrgica o no, el control y seguimiento de otros especialistas que como equipo multidisciplinario de salud tendrán que atender situaciones de los aspectos biológicos psicológicos y sociales, según las restricciones que se impongan; el asesoramiento genético, es en este sentido la etapa que se cumple en los pacientes atendidos en la UPA, definiéndose finalmente el diagnóstico sindromático y etiológico, todo esto con el fin de mejorar la calidad de vida de los pacientes y sus familiares y dar un aporte en el diagnóstico de las ADS en Venezuela.

AGRADECIMIENTO

Gracias a los pacientes que participaron en este estudio. A la Prof. María Fátima Baeta por su colaboración en algunos de los ensayos para evidenciar marcadores microsatélites del cromosoma Y. A la Lcda. Luisa Ambrosio por su participación en el desarrollo de los exámenes de citogenética.

FINANCIAMIENTO

Esta investigación recibió financiamiento del Proyecto LOCTI a través de la empresa INELEC y algunos equipos por el proyecto Misión Ciencia N° 200800911-1.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Solari, A. *Genética Humana: Fundamento y aplicaciones en medicina*. 3a. Ed. Buenos Aires. Médica Panamericana. 2011, p. 201-228.
- 2) Hughes IA, Houk C, Ahmed SF, Lee PA, LWPE51/ESPE2 Consensus Group. Consensus statement on management of intersex disorders. *Arch Dis Child* 2006; 91:554-562.
- 3) Pelayo FJ, Carabaño I, Sanz FJ, La Orden E. Genitales ambiguos. *Rev Pediatr Aten Primaria*. 2011; 13(51):419-433.
- 4) Youlton R. El recién nacido con genitales externos ambiguos. *Rev Med Clin Condes*. 2007; 18(4): 357-362.
- 5) Larney C, Bailey TL, Koopman P. Switching on sex: transcriptional regulation of the testis-determining gene Sry. *Development*. 2014; 141(11):2195-205.
- 6) Nussbaum RL, McInnes RR, Williard HF. Thompson & Thompson. *Genética en Medicina*. 7a. Ed. Barcelona. Elsevier Masson. 2008, p. 169-184.
- 7) Öçal G. Current concepts in disorders of sexual development. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2011; 3(3):105-14.
- 8) Enríquez D, Rittler M, Pomata J, Brunetto O. Genitales ambiguos: incidencia, presentación de un caso clínico, orientación diagnóstica y recomendaciones. *Rev. Hosp. Mat. Inf. Ramón Sardá*. 1998, XVII, N°1.
- 9) Álvarez-Nava F, González-Ferrer S, Soto M. Diagnóstico y manejo de pacientes con anomalías de la diferenciación sexual: Experiencia de la Unidad de Genética Médica de La Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. *Invest Clín*. 1998; 39(4): 273-292.
- 10) Sánchez de La Cruz, Guzmán J, Carrero F, Nieto A, Pérez M, Caraballo A, et al. Hermafroditismo Verdadero. *Rev. Venez. Endocrinol Metab*. 2005; 3(2): 25-29.
- 11) Velásquez Ma. E, Durán I, Meléndez Y, Farías A, Maulino N, Blanco M, Pérez M. Características fenotípicas e histológicas de los pacientes con desorden de la diferenciación sexual 45X/46XY: Reporte de 12 casos. XI Congreso Venezolano de Endocrinología y Metabolismo. *Rev Venez Endocrinol Metab* 2009; 7(2):34.
- 12) Álvarez G, Parra M, Farías A, Velásquez Ma. E. Disgenesia gonadal parcial 46XY, a propósito de un caso. XIII Congreso Venezolano de Endocrinología y Metabolismo. *Rev Venez Endocrinol Metab*. 2011; 10(2):111.
- 13) Miller, SA, Dykes, DD, Polesky, HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 1988; 16(3):1215.
- 14) Parigi GB, Bardoni B, Avoltini V, Caputo MA, Bragheri R. Is bilateral congenital anorchia genetically determined? *Eur J Pediatr Surg*. 1999 Oct;9(5):312-5.
- 15) Kayser M, Caglia A, Corach D, Fretwell N, Gehrig C, Graziosi G, Heidorn F, Herrmann S. et al. Evaluation of Y-Chromosomal STRs: a multicenter study. *Inter J Legal Medic*. 1997; 110:125-133.
- 16) Rangel-Villalobos H, Jaloma A, Sandoval L, Velarde J, Gallegos M, Figueroa L. Y Chromosome Haplotypes for six Short Tandem Repeats (STRs) in a Mexican Population. *Arch Med Res*. 2001;32(3): 232-237.
- 17) Sandberg DE, Gardner M, Cohen-Kettenis PT. Psychological aspects of the treatment of patients with disorders of sex development. *Semin Reprod Med*. 2012; 30(5):443-52.
- 18) Paris F, Gaspari L, Philibert P, Maïmoun L, Kalfa N, Sultan C. Disorders of sex development: neonatal diagnosis and management. *Endocr Dev*. 2012;22:56-71. Epub 2012 Jul 25.
- 19) Erdo?an S1, Kara C, Uçaktürk A, Ayd?n M. Etiological classification and clinical assessment of children and adolescents with disorders of sex development. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2011;3(2):77-83.
- 20) Mejía Y, Meza M, Briceño Y, Guillen M, Paoli M. Manejo de la hiperplasia suprarrenal congénita. *Rev Venez Endocrinol Metab* 2014; 12(1): 41-51.
- 21) Laino L, Majore S, Preziosi N, Grammatico B, De Bernardo C, Scommegna S. et al. Disorders of sex development: a genetic study of patients in a multidisciplinary clinic. *Endocrine Connections* 2014; (3):180-192.
- 22) Lee GM, Ko J M, Shin Ch H, Yang SW. A Korean boy with 46,XX testicular disorder of sex development caused by SOX9 duplication. *Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism*. 2014; (19): 108-112.
- 23) Kim KS, Kim J. Disorders of Sex Development Korean J Urol 2012; (53):1-8