

Disgenesias gonadales y pseudohermafroditismo masculino

L. Audí^a, M. Fernández-Cancio^a, G. Pérez de Nanclares^b y L. Castaño^b

^aUnidad Investigación Endocrinología Pediátrica. Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron. Barcelona. ^bGrupo de Investigación en Endocrinología. Unidad de Investigación. Departamento de Pediatría. Hospital de Cruces. Universidad del País Vasco Barakaldo. Vizcaya.

INTRODUCCIÓN

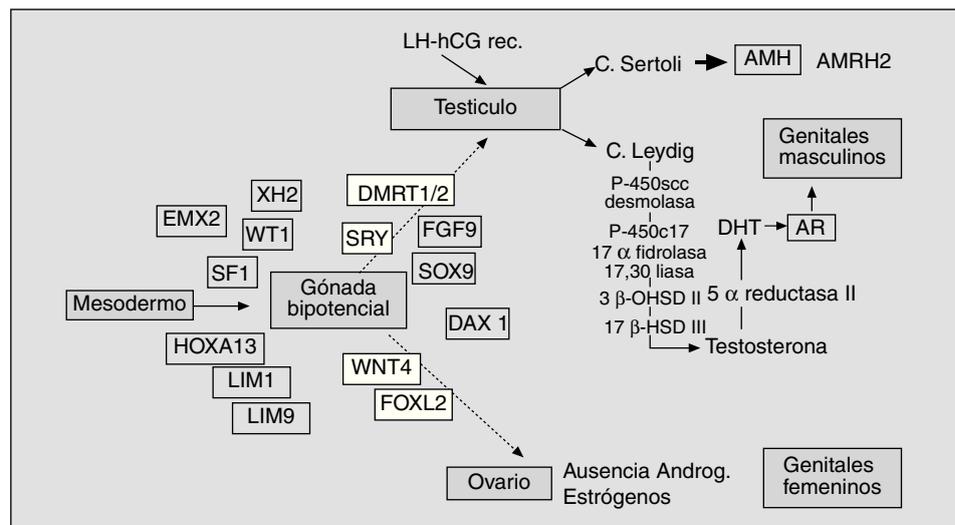
La determinación del sexo genético tiene lugar en el momento de la fecundación, mientras que la diferenciación de los sexos gonadal y genital ocurre durante períodos críticos de la vida fetal. Las diferentes etapas de esta diferenciación, su regulación génica y las proteínas y esteroides implicados en ella implican la actuación de una cascada de genes: 1) Los que condicionan la diferenciación de la gónada; 2) los que regulan la inhibición del desarrollo de los conductos de Müller, y 3) los que provocan el desarrollo de los derivados de los conductos de Wolff y la diferenciación de los genitales externos masculinos¹ (fig. 1).

Cada etapa presenta posibles anomalías que pueden alterar todos o alguno de los 3 niveles de diferenciación

sexual: el cromosómico, el gonadal y/o el genital dando lugar a las llamadas “anomalías de la diferenciación sexual”. Cuando estas anomalías comportan una diferenciación genital externa ambigua o discordante con el sexo genético y/o gonadal pueden ser denominadas “estados intersexuales” (tabla 1).

La primera etapa con posibles anomalías es la del sexo genético o cromosómico. Su consecuencia serán anomalías en la segunda etapa de la diferenciación sexual, la gonadal, acompañadas o no de anomalías en la tercera etapa de la diferenciación sexual, la genital interna y/o externa. Dentro de este capítulo figuran las disgenesias gonadales, bien sean 46,XX (por ejemplo la tipo Turner con cariotipo 45,XO u otras) o 46,XY (por ejemplo la disgenesia gonadal pura 46,XY por altera-

Figura 1. Bases moleculares de la diferenciación gonadal y genital. Genes y factores de transcripción implicados en el desarrollo de las gónadas, en la esteroidogénesis gonadal y en la acción de la testosterona. AR: receptor de los andrógenos. AMH: hormona anti-mülleriana. DHT: Dihidrotestosterona. Para otras siglas ver texto.



Correspondencia: Dra. Laura Audí
 Unidad Investigación Endocrinología Pediátrica. Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron
 P.º Vall d'Hebron, 119-129
 08035 Barcelona.

TABLA 1. Clasificación de las anomalías de la diferenciación sexual

Anomalías de la diferenciación gonadal
Anomalías de la diferenciación ovárica
Síndrome de Turner 45,XO y variantes
Disgenesias gonadales 46,XX
Masculinización de las gonadas con cariotipo 46,XX
Anomalías de la diferenciación testicular
Disgenesias gonadales 46,XY y pseudohermafroditismo masculino disgenético
Genes DMRT1 y DMRT2
Gen WNT4
Gen DAX-1
Gen SRY
Gen WT-1
Gen SOX-9
Gen SF-1
Otros genes candidatos y síndromes malformativos asociados a pseudohermafroditismo masculino disgenético
Disgenesias gonadales mixtas
Hermafroditismo verdadero
Disgenesias del túbulo seminífero
Síndrome de Klinefelter 47,XXY y variantes
Varones 46,XX
Síndromes de regresión testicular
Anomalías de la diferenciación genital
Anomalías de la diferenciación genital interna en el sexo femenino
Pseudohermafroditismos femeninos excluyendo la hiperplasia suprarrenal congénita
- Déficit de aromataasa
- Tumor fetal virilizante
- Tumor materno virilizante
- Virilización yatrogénica
- Malformativo e idiopático
Pseudohermafroditismos masculinos
Pseudohermafroditismo masculino interno
Déficit de secreción de testosterona
LH fetal anómala
Aplasia/hipoplasia de células de Leydig
Defecto de la biosíntesis del colesterol (déficit de 7-dehidro-colesterol reductasa)
Déficits enzimáticos biosíntesis de la testosterona
Proteína StAR y enzima colesterol desmolasa, 20-22-desmolasa (P-450-scc)
3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa
17 α -hidroxilasa y 17,20 desmolasa
17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa
Anomalías en el mecanismo de acción de los andrógenos
Déficit de 5 α -reductasa
Resistencia a los andrógenos
Pseudohermafroditismo masculino yatrogénico
Pseudohermafroditismo masculino idiopático

ción en el gen *SRY*), las disgenesias gonadales mixtas, el hermafroditismo verdadero y los varones 46,XX.

Cuando la diferenciación gonadal es correcta pero la genital es ambigua o discordante con el sexo genético y gonadal, se trata de un pseudohermafroditismo, que se denominará femenino si los sexos genético y gonadal son femeninos y masculino cuando ambos son masculinos.

ANOMALÍAS DE LA DIFERENCIACIÓN GONADAL QUE PROVOCAN UN ESTADO INTERSEXUAL

Anomalías de la diferenciación ovárica

Para la diferenciación de la gónada indiferenciada a ovario funcionante normal es necesaria, en primer lu-

gar, la integridad de ambos cromosomas X. Si bien en individuos 45XO *in utero* comienza el desarrollo ovárico, existe una foliculogénesis defectuosa con degeneración de los oocitos y secundariamente una disgenesia gonadal (cintillas gonadales). En segundo lugar, la aparición de disgenesia gonadal en individuos 46,XX familiar (con cromosomas X íntegros), que se transmite con carácter autosómico recesivo, sugiere la implicación de genes autosómicos en la organogénesis ovárica. No obstante, a diferencia del testículo se conocen pocos genes implicados en la determinación ovárica. Así, una mutación homocigota inactivante en el gen que codifica para el receptor de la FSH conduce a disgenesia gonadal e hipogonadismo hipergonadotropo. Otro gen candidato para la determinación y la función del ovario es

el *FOXL2*, localizado en el cromosoma 3q23. Pacientes con síndrome *BPES* tipo 1 (blefarofimosis, ptosis y epicantero inverso se asocian con insuficiencia ovárica) presentan mutaciones en este gen.

La mayor parte de las anomalías de la diferenciación ovárica (en mujeres 46,XX sin presencia del gen *SRY*) no modifican la diferenciación genital femenina; su diagnóstico se basa en el hallazgo de un cariotipo normal en una mujer fenotípica sexualmente infantil con hipogonadismo hipergonadotropo. Al contrario que las disgenesias gonadales 46,XY, las neoplasias son infrecuentes en la disgenesia gonadal 46,XX.

Por el contrario, existen varones (o individuos con genitales ambiguos) con cariotipo 46,XX (masculinización de las gónadas con 46,XX) que pueden presentar una virilización normal de los genitales, aunque en algunos casos hay ambigüedad de la diferenciación genital; en estos casos, a pesar de no existir cromosoma Y, la gónada pluripotencial se ha diferenciado en testículo de manera completa o parcial, siendo entonces disgenética. El estudio de estos pacientes ha permitido, en algunos casos, demostrar la presencia de un fragmento del cromosoma Y translocado sobre un X o sobre un autosoma y en todo caso la presencia del gen *SRY*, uno de los genes necesarios para la diferenciación del testículo (véase más adelante en gen *SRY*). En algunos casos no se consigue demostrar la presencia de *SRY*. Recientemente se ha comenzado a describir un efecto de dosis génica para algunos de los otros genes que intervienen en la cascada génica reguladora de la diferenciación de la gónada primitiva (por ejemplo el *WNT4*, *SOX-9*).

Anomalías de la diferenciación testicular

Disgenesias gonadales 46,XY y pseudohermafroditismo masculino disgenético

Dentro de las anomalías de la diferenciación gonadal con cariotipo 46,XY, la falta completa de diferenciación testicular constituye la disgenesia gonadal pura completa, llamada también síndrome de Swyer, mientras que las formas parciales o incompletas reciben también el nombre de pseudohermafroditismo masculino (*PSHM*) disgenético. El término *PSHM* implica que el sexo genético y el gonadal son masculinos, por lo tanto excluye situaciones en las que puedan existir gónadas parcialmente diferenciadas como gónada femenina aunque sea disgenética, y éste es el caso de la disgenesia gonadal mixta. Se han descrito anomalías en distintos genes como causas de estos síndromes, pero existen casos familiares que presentan ambos tipos de formas de presentación, el completo y el parcial, por lo que, de momento, ambas formas no pueden separarse como síndromes distintos.

La forma completa de disgenesia gonadal pura 46,XY o síndrome de Swyer tiene un fenotipo genital femeni-

no normal. Su diagnóstico no se realiza frecuentemente hasta la edad puberal por una falta de desarrollo puberal y amenorrea primaria, aunque puede haber algún desarrollo mamario. Se trata de un hipogonadismo primario, hipergonadotrópico, con nula respuesta a la estimulación con hCG. Los genitales externos son femeninos normales, de aspecto prepuberal y puede existir una discreta hipertrofia del clítoris, en cuyo caso habrá que pensar en el posible desarrollo de un tumor en la gónada disgenética.

La forma incompleta o pseudohermafroditismo masculino disgenético presenta grados variables de disgenesia intersticial y tubular. Presentan genitales ambiguos, criptorquidia uni o bilateral, un seno urogenital, vagina y útero. Las gónadas presentan un elevado riesgo de malignización por lo que es recomendable su extirpación y la asignación de sexo femenino cuando el diagnóstico es lo suficientemente precoz.

La fisiopatología del pseudohermafroditismo interno y externo del síndrome de Swyer depende del déficit total o parcial de síntesis y acción de las hormonas necesarias para la diferenciación genital masculina: el factor inhibidor de los conductos de Müller (*MIF* o *AMH*) sintetizado por las células de Sertoli, la testosterona (T) sintetizada por las células de Leydig y la dihidrotestosterona (DHT) sintetizada en los tejidos diana con enzima 5 α -reductasa. En la disgenesia testicular ambos compartimentos testiculares, el tubular y el intersticial, son anormales por lo que falla la diferenciación de todas las estructuras: así no desaparecen los conductos de Müller o en todo caso quedan restos, los conductos de Wolff no se mantienen o su diferenciación es parcial y los genitales externos no se virilizan o lo hacen parcialmente.

La etiología del *PSHM* por disgenesia testicular pura va siendo descrita a lo largo de los últimos años gracias a los avances en el conocimiento de los mecanismos moleculares que regulan de diferenciación de la gónada primitiva en testículo. Estos avances derivan del estudio de casos aislados o familiares de *PSHM* disgenético, de la caracterización de la cascada de genes que intervienen en la diferenciación testicular y del estudio de modelos animales. Además de mutaciones en el gen *SRY* (15% de los pacientes con disgenesia gonadal pura), la disgenesia gonadal en individuos 46,XY se asocia a mutaciones en una variedad de genes determinantes del sexo (véase a continuación) o de duplicaciones del gen *DAX1* en el cromosoma X.

Genes implicados en la diferenciación gonadal

Gen *SRY*

El gen *SRY* (*Sex-determining Region Y*) es el factor determinante del testículo (*TDF*). Está situado en el brazo corto del cromosoma Y y su delección o mutaciones

puntuales son responsables de algunos casos de disgenesia gonadal pura XY (en el caso de las deleciones tendremos mujeres 46,XY con *SRY* negativo). Asimismo, el 80% de varones 46,XX tienen translocado en el cromosoma X material del cromosoma Y que incluye el *SRY* (46,XX con *SRY* positivo)¹⁹⁻²³.

Si bien se ha demostrado que mutaciones *de novo* del gen *SRY* se asocian a disgenesia gonadal pura 46,XY, sin embargo la mayoría de pacientes con disgenesia gonadal pura 46,XY presentan una secuencia normal en el gen *SRY* (la frecuencia de mutaciones en el gen *SRY* es baja en el *PSHM* disgenético, hallándose sólo en un 15% de pacientes aproximadamente, y siendo más frecuentes en las formas completas)²⁴⁻²⁶. En este sentido, existen casos familiares en los que la herencia se produce por vía materna y parece entonces autosómica o ligada al cromosoma X. El fallo en la diferenciación testicular en las pacientes con gen *SRY* normal puede ser debido a mutaciones en genes que intervienen en la diferenciación testicular más allá del gen *SRY*²⁷ (fig. 1).

Genes *DMRT1* y *DMRT2*

Estos genes podrían intervenir precozmente en la formación de la gónada primitiva. Los pacientes 46,XY con monosomía del cromosoma 9 a nivel 9p, en la región crítica 9p24.3 que contiene los genes *DMRT1* y *DMRT2* presentan falta de desarrollo testicular, a menudo asociado a dismorfia cráneo-facial y retardo mental^{2,3}, en un síndrome por deleción de genes contiguos. Existe por lo tanto la hipótesis según la cual estos genes tendrían un efecto de dosis sobre la diferenciación testicular, aunque no se ha demostrado formalmente la relación entre mutaciones en *DMRT1* o *DMRT2* y falta de desarrollo testicular. También en el sexo genético femenino 46,XX la haploinsuficiencia a nivel de 9p da lugar a disgenesia gonadal⁴.

Gen *WT-1*

El gen supresor del tumor de Wilms (*WT1*) fue aislado en el cromosoma 11p13 debido a su asociación con el síndrome de *WAGR* (*Wilms tumor, Aniridia, Genitourinary malformations and mental Retardation*). El gen *WT-1* consiste en 10 exones que codifican una proteína con cuatro motivos en dedos de zinc que tiene actividad reguladora de la transcripción y supresora de la proliferación tumoral e interviene precozmente en la diferenciación del riñón y del testículo²⁸. Mutaciones en este gen se asocian con cuadros de nefropatía con daño renal grave (esclerosis mesangial o glomerular), junto con gónadas disgenéticas (que en el varón XY dará genitales ambiguos o inversión de sexo) y riesgo a gonadoblastoma (síndrome de Frasier). En ocasiones, a este cuadro clínico se asocia también un tumor de Wilms (síndrome de Denys-Drash). La diferencia de uno u otro síndrome se basa en el tipo de mutación en el gen

WT1^{29,30}. Mueller³¹ revisó las mutaciones en *WT-1* descritas en un total de 150 pacientes refiriendo un total de 25 mutaciones distintas. Las mutaciones en este gen tienen un efecto autosómico dominante. En algunos casos de síndrome de Frasier que asocia nefropatía congénita, sin tumor de Wilms, y disgenesia testicular 46,XY no se describieron mutaciones en el gen *WT-1*³², por lo que alteraciones en algún otro gen pueden ser responsables de la asociación entre malformación renal y gonadal. Sin embargo más recientemente se ha demostrado que los pacientes con síndrome de Frasier presentan mutaciones a nivel del sitio de corte y empalme del intrón 9 del gen *WT-1* por lo que se produciría una isoforma más larga de la proteína y existirían dos isoformas, una de ellas anómala³³⁻³⁵.

El estudio sistemático del gen *WT-1*, mediante *PCR-SSCP* y secuenciación, en 15 niños con hipospadias pero con función endocrina testicular normal y sin nefropatía ni tumor de Wilms ha permitido demostrar la existencia de 3 mutaciones distintas en 3 de estos niños³⁶. Este estudio parece demostrar el interés del estudio del gen *WT-1* en el llamado hipospadias "idiopático".

Gen *SOX-9*

Se había descrito un *locus SRA-1* (*Sex Reversal Autosomal locus*) a nivel 17q24.3-25.1 (entre los *locus* para los genes de GH y tirosin-quinasa) en los pacientes 46,XY con displasia campomélica y *PSHM* completo o incompleto, habiéndose demostrado que el gen mutado era *SOX-9* (responsable de la displasia ósea campomélica y de la falta de diferenciación testicular)³⁷. El gen *SOX-9* se expresa en riñón, sistema nervioso central, páncreas, células precursoras condrogénicas y células de Sertoli testiculares. No se expresa en el ovario. Se ha demostrado que *SOX-9* es necesario para la expresión del gen de la cadena $\beta 1$ del colágeno de tipo II y que en el testículo, junto con *el SF1*, *WT1* y *GATA4*, regula la expresión del gen *MIF* (o *AMH*)^{38,39}. Las mutaciones de *SOX-9* en individuos 46,XY asocia los trastornos en la diferenciación gonadal y genital siempre con displasia ósea, por lo tanto no debe ser considerado como gen candidato si ésta no existe⁴⁰ y no existen correlaciones entre el genotipo y los fenotipos⁴¹. Existen mutaciones en heterocigosis que pueden dar una displasia campomélica en individuos 46,XY sin inversión de sexo; en este sentido la condrogénesis parece ser más sensible a la dosis que la determinación del sexo. Las niñas 46,XX con mutación en *SOX-9* tienen un ovario normal.

Recientemente el estudio, aunque incompleto, de un paciente con cariotipo 46,XX pero virilización⁴² sugiere que ésta era debida a una duplicación de un fragmento de uno de los cromosomas 17 que contiene *SOX-9*. Por lo tanto existiría un efecto de dosis de *SOX-9* sobre la

determinación del sexo gonadal (dos alelos son necesarios para el normal desarrollo del testículo y del hueso, pero la presencia de 3 alelos podría provocar una virilización de la gónada en un individuo 46,XX a pesar de la ausencia de *SRY*).

Gen *SF-1*

El factor de transcripción *SF-1* (*Steroidogenic Factor 1*) tiene un papel fundamental en la ontogenia de las suprarrenales, las gónadas y las células gonadotropas. Los ratones carentes de *SF-1* presentan, además de una insuficiencia suprarrenal, un *PSHM* por falta de desarrollo testicular y un déficit de gonadotropinas. Los pacientes con cariotipo 46,XY, gónadas disgenéticas y pseudohermafroditismo masculino, con presencia de derivados de los conductos de Müller e insuficiencia suprarrenal de presentación neonatal pueden presentar mutaciones en el gen *SF-1*⁴³; en el caso de niñas con alteración en *SF-1* puede verse insuficiencia suprarrenal, con diferenciación ovárica inicialmente normal.

Gen *DAX-1*

Si bien la identidad de *SRY* como la primera proteína inductora de la diferenciación testicular parece haber sido confirmada por varias vías, una de las cuales ha sido la descripción de mutaciones en pacientes con disgenesia gonadal 46XY, otros genes intervienen en la regulación de la diferenciación testicular, habiéndose primero localizado en la región entre Xp21.2 y Xp22.1⁹ un locus denominado *DSS* (*Dosage Sensitive Sex reversal*) que contiene el gen *DAX-1*. Este gen se expresa en hipotálamo, hipófisis, suprarrenales y gónadas en desarrollo. Se propuso inicialmente que este locus regularía la diferenciación ovárica, pero, en todo caso, lo primero que se demostró fue que su duplicación, en individuos 46,XY, impedía la normal diferenciación testicular (y consecuentemente una inversión masculino-femenino) a pesar de tener el gen *SRY* normal¹⁰. Después se describió que las mutaciones inactivadoras de *DAX-1* provocaban en ambos sexos una hipoplasia suprarrenal congénita ligada al X y un hipogonadismo hipogonadotropo¹¹⁻¹³, sin afectación primaria de la gónada. Se propone actualmente que *DAX-1* tendría un papel represor de la expresión de la cadena de genes masculinizantes de la gónada, que *SRY* suprimiría el efecto represor de *DAX-1* y que su hiperexpresión, a pesar de la presencia de *SRY*, impediría el efecto de *SRY*¹⁴⁻¹⁷, asociándose a una disgenesia testicular e inversión de sexo.

Gen *WNT4*

El gen *WNT4* se localiza en humanos en el cromosoma 1p35 y se expresa precozmente en la gónada indiferenciada, manteniéndose en ovario y desapareciendo en el testículo (quizás por efecto del *SRY*). Parece ser

que en ambos sexos es necesario para el desarrollo inicial del conducto de Müller y en la mujer para anular la diferenciación de las células de Leydig en el ovario. Se ha descrito un efecto de dosis para el gen *WNT4*. Así, en el ratón XX con los 2 alelos de *WNT4* anulados (*WNT4* -/-) en la gónada primitiva se diferenciaban células de Leydig, aunque la gónada adulta era disgenética⁵ (en este sentido se mantenían los conductos de Wolf por el efecto Leydig). Por otra parte, la duplicación de 1p31-35 provocaba un pseudohermafroditismo masculino disgenético en pacientes 46,XY⁶⁻⁸. La hipótesis actual sería de que en el sexo femenino 46,XX, *WNT4* regularía la expresión de *DAX-1* el cual suprimiría la expresión de *SOX-9* y/o de otros genes masculinizantes de la gónada indiferenciada (siendo fundamental en el desarrollo del ovario), mientras que en el sexo masculino 46,XY, *SRY* suprimiría la expresión de *WNT4* y por lo tanto la de *DAX-1*, pudiendo entonces actuar el/los genes determinantes de la diferenciación testicular.

Otros genes de la familia *WNT* (*WNT7a*, *WNT5a*, ...) son necesarios para el correcto desarrollo de los conductos de Müller y mutaciones en ratones 46,XX desarrollan ovarios funcionantes pero con desarrollo anormal de las estructuras Müllerianas, mientras que ratones 46,XY tienen conductos de Müller persistentes.

Otros genes candidatos y síndromes malformativos asociados a pseudohermafroditismo masculino disgenético

Recientemente se ha descrito el primer paciente 46,XY con una mutación en homocigosis del gen *DHH* (*desert hedgehog*) que presenta una disgenesia gonadal (un teste disgenético en un lado y una gónada fibrosa en el otro, genitales internos y externos femeninos) asociado a una polineuropatía⁴⁴. Se especula que este gen intervendría en la diferenciación testicular. Asimismo, mutaciones en homólogos de los genes humanos en el ratón (*LHS* o *LIM1*, *LIM9*, *EMX2*, y *FGF9*) causan trastornos en el desarrollo gonadal.

También, existen diversos síndromes genéticos que pueden asociar, a otras anomalías, la presencia de hipospadias con o sin criptorquidia^{45, 46}. Así la presencia de retraso mental, α -Talasemia junto con alteraciones genitales (desde criptorquidia, hipospadias, micropene o grados variables de inversión del sexo XY) se asocia con mutaciones en el gen *ATRX* o *XH2* en Xp13.3. En estos casos los individuos 46,XY con inversión de sexo tienen gónada disgenética y ausencia de conductos de Müller, lo que sugiere que el desarrollo de los testículos se interrumpe después de la expresión del *SRY* y de la diferenciación de las células de Sertoli (con expresión de AMH suficiente para inhibir los conductos de Müller).

Otros síndromes también asocian trastornos en el desarrollo genital/gonadal, como el síndrome de Opitz

(hipospadias e hipertelorismo), síndrome de Smith-Lemli-Opitz (hipospadias, dismorfia facial y talla baja) (ver el apartado sobre el *déficit de 7-dehidro-colesterol desmolasa*), de Opitz-Frías (hipospadias, hipertelorismo, anomalía esofágica), de Fraser (criptoftalmos, sindactilia y otras anomalías), de Dubowitz (retraso intrauterino de crecimiento, hipospadias y otras anomalías), de Rapp-Hodgkin (displasia ectodérmica hipohidrótica), de McKusik-Kaufman, asociación *CHARGE (Coloboma of iris and/or retina, Heart defect, Atrisia choanae, Retarded growth, Genital hypoplasia and Ear anomalies)*, de Pallister-Hall, de Marden-Walker, síndrome del leopardo (lentiginosis y cardiomiopatía), síndrome de Silver-Russel, triploidías, aneuploidías de los cromosomas sexuales (XXY, XXXY y síndrome de Fraccaro, XYY). En la mayoría de estos casos la causa de la virilización incompleta es una disgenesia testicular, demostrable mediante exploración hormonal y biopsia testicular.

Se han descrito casos familiares de malformaciones congénitas múltiples que afectan la diferenciación testicular, por lo que los sujetos 46,XY presentan una falta de diferenciación testicular y por lo tanto un *PSHM*^{47,48}. Se desconocen el/los gen/es implicado/s en estas patologías de la embriogénesis. En el caso del síndrome Pie-Mano-Genital por delección o mutaciones en el gen *HOXA-13* ambos sexos presentan anomalías en el desarrollo de los conductos genitales⁴⁹⁻⁵¹. Las delecciones a nivel 6q21-q27 provocan en los 46,XY malformaciones múltiples entre las que se encuentran una disgenesia testicular y pseudohermafroditismo masculino⁵². También las delecciones y duplicaciones a nivel 6p pueden provocar pseudohermafroditismo masculino en los 46,XY⁵³.

Disgenesias gonadales mixtas

El diagnóstico de disgenesia gonadal mixta (*DGM*) o disgenesia gonadal asimétrica se aplica a un grupo heterogéneo de pacientes que presentan ambigüedad de los genitales externos y cuyas gónadas, asimétricas, consisten en un teste con grados variables de disgenesia en un lado y una gónada fibrosa, indiferenciada, en el otro. La gónada diferenciada en testículo, aunque sea disgenética, ha producido testosterona durante la vida fetal y ha virilizado parcialmente los genitales. La función anti-Mülleriana del *MIF* ha sido incompleta y unilateral por lo que quedan restos Müllerianos uni o bilaterales, consistentes en una trompa en el lado de la gónada fibrosa y a veces también en el lado del teste disgenético y criptorquídic y un útero normal o rudimentario. El grado de ambigüedad de los genitales externos, la presencia o no de estructuras Wolffianas (epidídimo y deferente) y/o Müllerianas en uno o ambos lados dependen del grado de secreción de las células de Leydig y de Sertoli presentes en estas gónadas durante la vida fetal. Muchos presentan anomalías gono-

sómicas, predominando el cariotipo 45,XO/46,XY, pero el cariotipo puede ser 45,XO ó 46,XY. El estudio del cariotipo en sangre periférica y en tejido gonadal puede revelar idénticas o distintas proporciones de líneas celulares. Algunos pacientes, y más los mosaicos 45,XO/46,XY, presentan características fenotípicas del síndrome de Turner, incluidos la talla baja y con mucha menor frecuencia malformaciones renales y cardíacas. La incidencia de desarrollo de gonadoblastomas, y menos de disgerminomas, en estas gónadas disgenéticas es elevada por lo que es obligatoria su extirpación precoz.

El diagnóstico diferencial con la disgenesia gonadal pura 46,XY se realiza porque ésta no presenta, en sus restos gonadales, ningún tipo de diferenciación testicular ni ningún grado de virilización de los genitales externos; con el pseudohermafroditismo masculino disgenético 46,XY porque en éste ambas gónadas presentan diferenciación de tipo testicular, aunque sea disgenética; y con el hermafroditismo verdadero (HV), de forma más dificultosa, porque en éste deben existir estructuras gonadales de ambos tipos y con un grado de diferenciación casi normal, por lo que la gónada ovárica debe presentar folículos primordiales.

El diagnóstico prenatal por amniocentesis ha revelado que existe una proporción de pacientes con cariotipo 45,XO/46,XY que presentan virilización normal de los genitales externos⁵⁴, desconociéndose la capacidad funcional de las gónadas de estos pacientes, así como su riesgo de malignización.

Hermafroditismo verdadero

El hermafroditismo verdadero consiste teóricamente en la presencia, en un mismo individuo, de los dos tipos de gónada, teste y ovario, cuyas estructuras deben estar bien diferenciadas y cuyo funcionalismo debiera poder ser normal. En la práctica el diagnóstico es anatómo-patológico y el fenotipo y genotipo son variables.

En la mayoría de los casos existe una ambigüedad de los genitales externos consistente en fusión parcial del rafe medio, hipertrofia de clitoris o hipospadias perineoscrotal, bolsa pseudoescrotal unilateral con una gónada palpable en bolsa o en conducto inguinal. Suele existir una hernia inguinal que puede contener una gónada con trompa y a veces útero. Pero se han descrito casos con escasa o no apreciada virilización al nacer y otros con virilización normal de los genitales externos.

El genotipo más frecuente es el 46,XX pero también puede contener cromosoma Y, pudiendo entonces ser 46,XY o el mosaico 46,XX/46,XY. Los mecanismos a través de los cuales es posible la doble diferenciación gonadal han sido explicados primero a nivel cromosómico por la presencia de por lo menos dos líneas celulares en las gónadas que permite la asimetría o la doble dife-

renciación en función de su predominio respectivo. Estos mosaicos se producirían por errores mitóticos o meióticos o por quimerismo por doble fertilización o por fusión de dos huevos. En los pacientes con cariotipo 46,XX se está describiendo la detección de material del brazo corto del cromosoma Y que incluye el gen *SRY* sobre el cromosoma X. En algunos pacientes con cariotipo 46,XY o 46,XX/46,XY se describen deleciones de porciones del brazo corto del cromosoma Y, así como mutaciones en el gen *SRY*. En todo caso el hermafroditismo verdadero es probablemente genéticamente heterogéneo.

Pseudohermafroditismos masculinos

El término pseudohermafroditismo masculino se aplica cuando, a pesar de un sexo genético y gonadal masculinos, la diferenciación masculina del sexo genital interno y/o externo no se ha producido o es incompleta. El fenotipo varía según la edad del paciente y el grado de afectación del mecanismo implicado, pudiendo ir desde el fenotipo femenino hasta el masculino externo, pasando por todos los estadios intermedios.

Pseudohermafroditismo masculino interno

Dentro de la clasificación de los diferentes tipos de pseudohermafroditismo masculino (*PSHM*), el llamado *PSHM* interno, “varones con hernia uterina inguinal” u “hombre con útero” ocupa un lugar especial por su rareza. La etiopatogenia del síndrome es una falta o disminución de secreción o de acción del *MIF* durante el período crítico de regresión de los conductos de Müller o una falta de respuesta de los conductos de Müller al *MIF*. La clonación y secuenciación del gen que codifica el *MIF*, localizado en el cromosoma 19-p13.3-13.2⁵⁵, han permitido el estudio de posibles mutaciones responsables del síndrome⁵⁶.

Los pacientes que presentan unos niveles séricos normales de *MIF* y que no presentan anomalías moleculares en el gen de *MIF* pueden tener un *MIF* inmunoreactivo pero biológicamente inactivo o tener una mutación en el gen del receptor del *MIF*. El receptor del *MIF* (*AMHR2*) pertenece a la familia de receptores de tipo 2 de las proteínas relacionadas con el TGF-β y precisa para la transducción de señal la presencia del receptor de tipo 1. El gen de *AMHR2* se localiza en el cromosoma 12q13⁵⁷. En aproximadamente los dos tercios de los pacientes con mutaciones en el gen *AMHR2* existe una deleción de 27 pares de bases.

Déficit de secreción de testosterona

Pseudohermafroditismo masculino (*PSHM*) por defecto de síntesis de testosterona implica que la diferenciación sexual masculina ha sido normal en cuanto a cariotipo (sexo genético) 46XY, en cuanto a diferenciación de la gónada primitiva en testículo (sexo

gonadal) y en cuanto a supresión de los conductos de Müller (función de las células de Sertoli a través del factor inhibidor de los conductos de Müller o *MIF*). Sin embargo ha fallado la función del intersticio, o sea de las células de Leydig, en cuanto a secreción de testosterona (T). El fallo puede ser total o parcial y dependiendo de esta intensidad fallará en consecuencia la virilización de los genitales internos y externos. En el testículo fetal la función de las células de Leydig puede ser anómala, aisladamente, por varias causas, la mayoría de las cuales han sido bien caracterizadas hasta su nivel molecular. Las varias causas conocidas son: la secreción de LH fetal anómala, la aplasia o hipoplasia de las células de Leydig, el defecto de la biosíntesis del colesterol y los déficits enzimáticos de la esteroidogénesis testicular (tabla 1).

LH fetal anómala

Existe una sola publicación en la literatura que refiere un caso de *PSHM* caracterizado por: disminución de la secreción endógena de T, LH elevada y respuesta testicular normal a la estimulación con hCG⁵⁸. Una anomalía similar fue descrita en un paciente con hipogonadismo y aplasia de células de Leydig que respondían a la estimulación con hCG⁵⁹, habiéndose demostrado la existencia de una mutación puntual en la subunidad β de la LH⁶⁰. También se ha descrito la posibilidad de que

TABLA 2. Mutaciones monogénicas descritas causantes de anomalías de la diferenciación sexual

DMRT1 / DMRT2	Disgenesia gonadal en ambos sexos
WNT4	PSHM por duplicación
DAX-1	PSHM por duplicación
WT-1	PSHM
SF-1	PSHM
SOX-9	PSHM por mutación y PSHF por duplicación
SRY	Disgenesia gonadal pura 46,XY PSHM disgenético (DGM/HV)
DHCR7	PSHM en síndrome de Smith-Lemli-Opitz
CYP21B	PSHF por déficit de 21-hidroxilasa
CYP11B1	PSHF por déficit de 11b-hidroxilasa
CYP19	PSHF por déficit de aromatasa
MIF	PSHM interno por déficit de MIF
Rc MIF	PSHM interno por resistencia al MIF
Rc LH	PSHM por aplasia/hipoplasia células Leydig
Star	PSHM con HSC lipoidea
3β-HSD II	PSHM y PSHF con HSC por déficit de 3β-HSD
CYP17	PSHM con HSC por déficit de 17α-hidroxilasa/17,20-liasa
17β-HSD III	PSHM por déficit de 17β-HSD
SRD5A2	PSHM por déficit de 5α-reductasa
AR	PSHM por resistencia a los andrógenos

PSHM: pseudohermafroditismo masculino; DGM: disgenesia gonadal mixta; HV: hermafroditismo verdadero; PSHF: pseudohermafroditismo femenino; HSC: hiperplasia suprarrenal congénita; Rc: receptor; AR: receptor de andrógenos.

un retraso en la cronología de la función de las células de Leydig fetales pudiera ser la causa de algunos *PSHM* que presentan una función testicular completamente normal en la etapa postnatal⁶¹.

Aplasia o hipoplasia de las células de Leydig

El síndrome completo consiste en un *PSHM* con falta completa de virilización de los genitales externos, en el que el cariotipo 46XY se acompaña de la presencia de testes criptorquídeos, pequeños, con células intersticiales indiferenciadas que no secretan T y no responden a la estimulación con hCG. No existen derivados de los conductos de Müller, demostrando que la secreción de *MIF* por las células de Sertoli fetales ha sido normal. La secreción de LH es elevada mientras que la de FSH es normal. Se han descrito casos "parciales" en los que la denominación correcta sería de "hipoplasia" de células de Leydig o de resistencia parcial de las células de Leydig a la LH.

El gen del receptor de la LH fue clonado y localizado en el cromosoma 2 a nivel del *locus* 2p16-21⁶². En él se han descrito, tanto en casos esporádicos como familiares, la existencia de mutaciones con efecto recesivo^{63,64}.

Defecto en la biosíntesis del colesterol (déficit de 7-dehidro-colesterol reductasa, *DHCR7*)

El síndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLO) estaba catalogado hasta recientemente como síndrome polimalformativo que, con una frecuencia de 1/20.000-1/40.000, presentaba múltiples malformaciones entre las cuales se hallaban malformaciones genitales variables en los 46,XY (asocia malformaciones craneofaciales, retraso mental profundo, retraso de crecimiento, sindactilia, posiblemente también insuficiencia suprarrenal e insuficiencia gonadal). El síndrome está provocado por un déficit en el enzima 7-dehidro-colesterol reductasa que cataliza la última etapa en la biosíntesis del colesterol. El gen está localizado en el cromosoma 11q13. Se han descrito hasta 66 alelos mutantes de *DHCR7* entre 342 alelos estudiados en pacientes con el síndrome de SLO^{65,67}.

Déficits enzimáticos de la esteroidogénesis testicular

La biosíntesis de T a partir del colesterol en las células de Leydig requiere 5 transformaciones reguladas por 4 actividades enzimáticas. Cada uno de estos enzimas puede ser deficitario y cada uno de los déficits enzimáticos ha sido descrito como responsable de casos de pseudohermafroditismo masculino (*PSHM*).

Los genes codificadores de cada uno de estos enzimas han sido clonados y su localización autosómica determinada, de modo que se estudian las mutaciones en estos genes, responsables de la falta o déficit de síntesis del enzima correspondiente o de la síntesis de una

proteína anómala e inactiva. La herencia de estas enfermedades es autosómica recesiva y por la baja frecuencia de estas mutaciones (comparadas con la de 21-hidroxilasa suprarrenal) predominan los pacientes homocigotos para la misma mutación por consanguinidad de los padres.

*a) Proteína *StAR* y enzima colesterol desmolasa, 20-22-desmolasa (*P-450-scc*)*. La primera enzima de la cadena de esteroidogénesis es la *colesterol desmolasa* ó *20,22-desmolasa*. Es una proteína citocrómica *P-450-scc* (*side-chain-cleavage*) localizada a nivel mitocondrial. Su "déficit" da lugar a un déficit de biosíntesis de todos los esteroides suprarrenales y gonadales. Conocido clásicamente como hiperplasia suprarrenal lipoidea, el feto de sexo genético masculino presenta un *PSHM* con ambigüedad importante de los genitales externos. Todos los esteroides suprarrenales y testiculares están disminuidos y no responden a la estimulación con ACTH ni con hCG. El ACTH, la LH y la actividad renina plasmática están aumentados.

El estudio molecular de casos diagnosticados por la clínica y la exploración hormonal no permitió demostrar la existencia de ninguna mutación en el gen que codifica *P-450-scc* (*CYP11A1*) en el cromosoma 15. Se eliminaron otros genes candidatos como los de otras proteínas mitocondriales de la cadena de transporte de electrones (adrenodoxina y adrenodoxina reductasa), así como los de proteínas que intervienen en el transporte del colesterol citosólico a la mitocondria hasta que se demostró en dos casos con este diagnóstico dos mutaciones en el gen que codifica una proteína mitocondrial denominada *StAR* (*Steroidogenic Acute Regulatory protein*) regulada por la LH a nivel testicular y por el ACTH a nivel suprarrenal. Se han descrito hasta 15 diferentes mutaciones en el gen *StAR* hallándose la mutación Gln258Stop en el 80% de los alelos afectados en las poblaciones japonesa y coreana mientras que la mutación Arg182Leu es hallada en el 78% de los alelos afectados en pacientes palestinos^{68,69}. Más recientemente se ha descrito un paciente sin anomalías en el gen *StAR* que presenta un mutación en heterocigosis en el gen de la *colesterol desmolasa* (*CYP11A1*)⁷⁰.

b) 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-HSD2). La segunda actividad enzimática en la esteroidogénesis suprarrenal y gonadal es realizada por un enzima ligado a la membrana externa del retículo endoplásmico que no forma parte de las proteínas citocrómicas *P-450*. Existen 2 genes (*3β-HSD tipo I* y *3β-HSD tipo II*) que codifican dos isoenzimas situados ambos en la región p11-13 del cromosoma 1, existiendo probablemente otros pseudogenes en la misma región⁷¹. Los dos genes contienen 4 exones y 3 intrones y ocupan un fragmento de aproximadamente 7,8 kb en el DNA, presen-

tando un 93,5% de homología en la secuencia de nucleótidos. Los dos isoenzimas difieren sólo por 23 aminoácidos. El isoenzima de tipo II se expresa preferentemente en suprarrenales y gónadas mientras que el tipo I se expresa en placenta y tejidos periféricos.

El déficit enzimático grave provoca una hiperplasia suprarrenal congénita y en el sexo masculino una *PSHM*. El grado de ambigüedad de los genitales externos depende de la gravedad del déficit. Están elevados todos los esteroides Δ_5 (pregnenolona, 17-OH-pregnenolona, DHEA y DHEA-S) y proporcionalmente disminuídos los Δ_4 (progesterona, 17-OH-progesterona, androstendiona y testosterona); los esteroides Δ_4 pueden tener valores absolutos aumentados debido a que la actividad enzimática es normal en hígado y otros tejidos periféricos (isoenzima tipo I) por lo que la valoración de los cocientes entre los esteroides Δ_5 y los Δ_4 en condiciones basales o bajo estimulación con ACTH y con hCG son útiles al aumentar las diferencias con respecto a la normalidad.

Se han descrito hasta la actualidad 34 mutaciones distintas en un total de 56 pacientes pertenecientes a 44 familias⁷². Se trata en todos los casos de formas clásicas y graves que pueden cursar con o sin pérdida de sal. Las mutaciones que introducen un codón prematuro de parada de la traducción provocan déficits graves con pérdida de sal, mientras que las mutaciones sin sentido pueden provocar un déficit enzimático menos grave que no provoca pérdida de sal. La posible existencia de formas menos graves, no clásicas, de inicio más tardío y que pudieran tener una virilización normal o sólo grados menores de hipogonadismo en el sexo masculino y presentación como pubarquía prematura e hiperandrogenismo en el sexo femenino han sido descritos pero la única mutación descrita hasta la fecha ha sido la de un heterocigoto compuesto para dos mutaciones en un niño que presentó pubarquía prematura⁷².

c) 17 α -hidroxilasa y 17,20-desmolasa (P-450-C17). Las dos actividades enzimáticas (*17 α -hidroxilación y 17,20-desmolasa*) son realizadas por una sola proteína citocrómica del retículo endoplasmático (P-450c17) codificada por un gen (CYP-17) en el cromosoma 10q24-25 que contiene 8 exones y ocupa 6,6kb^{73,74}. Cuando esta actividad está ausente, como en la zona glomerular de la suprarrenal, la esteroidogénesis se orienta a partir de la pregnenolona hacia la vía de los mineralocorticoides, en cambio cuando predomina la actividad *17 α -hidroxilasa* se orienta hacia los glucocorticoides y cuando ambas *17 α -hidroxilasa y 17,20 desmolasa* están presentes se sintetizan andrógenos; en el testículo, y por ausencia de actividad 21-hidroxilasa, la esteroidogénesis se orienta hacia los andrógenos.

El déficit puede manifestarse de forma heterogénea, de modo que puede predominar el déficit de la activi-

dad *17 α -hidroxilasa* sobre el de *la 17,20-desmolasa* o viceversa. El estudio molecular de casos diagnosticados de ambos tipos de déficit ha revelado que en ambos casos existen mutaciones en el gen CYP-17^{75,76}.

d) 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, 17-ceto-reductasa (17 β -HSD). Es el único déficit enzimático testicular que no afecta la esteroidogénesis suprarrenal. Se han descrito por ahora hasta 5 genes que codifican actividades enzimáticas *17 β -HSD*: *HSD17B1* (gen duplicado en el brazo largo del cromosoma 17) expresado en placenta y tejidos periféricos que metaboliza preferentemente la vía de los estrógenos; *HSD17B2* (en el cromosoma 16q24) expresado principalmente en placenta que metaboliza ambas vías de estrógenos y andrógenos pero preferentemente hacia la oxidación; *HSD17B3* (en el cromosoma 9q22) expresado en testículo y no en ovario y que metaboliza preferentemente androstendiona a T, aunque también transforma DHEA en androstendiol y estrona en estradiol; *HSD17B4* que se expresa principalmente en hígado, corazón, próstata y testículo y *HSD17B5*^{77,78}.

La mayoría de pacientes diagnosticados de *PSHM* por déficit de *17-ceto-reductasa* presentan una ambigüedad importante de los genitales externos (discreta hipertrofia de clítoris y fusión parcial del rafe medio) por lo que a muchos de ellos se les asigna el sexo femenino al no ser diagnosticados, aunque los testes suelen ser palpables a nivel labioescrotal o inguinal. Algunos de ellos, sin exploraciones complementarias, son diagnosticados de feminización testicular. Al llegar a la pubertad la evolución espontánea es hacia una virilización importante porque, a pesar del déficit enzimático, la producción de T aumenta a costa de un gran aumento de la androstendiona y de la secreción de LH que se traduce por una hiperplasia de las células de Leydig. Además la existencia de varios isoenzimas explica que a partir de la pubertad la conversión periférica de los substratos aumentados pueda conseguir niveles normales o casi de T y una importante virilización.

El estudio molecular de este déficit enzimático permite la descripción de mutaciones en el gen *HSD17B3*⁷⁹⁻⁸³.

Anomalías en el mecanismo de acción de los andrógenos

La acción androgénica ocupa la última etapa en la cadena de pasos necesarios para la diferenciación genital masculina. Su fallo provoca un pseudohermafroditismo masculino (*PSHM*) que puede tener dos etiologías distintas y puede presentar todos los grados posibles de intensidad. La acción androgénica requiere en muchos tejidos dos pasos sucesivos que tienen lugar en las mismas células: primero la transformación de la testosterona (T) en dihidrotestosterona (DHT) a través del enzima *5 α -reductasa* y después la

unión de la T o de la DHT con su receptor específico y su interacción con los genes por ella regulados. Existen dos patologías del mecanismo de acción de los andrógenos que provocan la virilización nula o insuficiente del feto con sexos genético y gonadal masculinos: el déficit de *5 α -reductasa* y la insensibilidad o resistencia a la acción de los andrógenos cuyas bases moleculares han sido caracterizadas, procediéndose actualmente a la descripción de las mutaciones génicas responsables de las dos patologías. Sin embargo, sobre todo en el recién nacido y durante la prepubertad, el diagnóstico diferencial clínico y bioquímico entre los dos síndromes es difícil y éste debe ser confirmado por el estudio molecular.

Déficit de *5 α -reductasa*

El fenotipo de los pacientes con déficit de *5 α -reductasa* depende de la edad a la que se les estudia. El recién nacido presenta una ambigüedad importante de los genitales externos: clítoris hipertrófico o pene hipoplásico con hipospadias perineo-escrotal, fusión parcial del rafe medio, vagina hipoplásica que aboca en periné, testes en bolsas pseudolabiales o criptorquídicos y palpables en conducto inguinal. Este fenotipo es similar al que pueden presentar las resistencias parciales a los andrógenos, las disgenesias testiculares, gonadales mixtas y los hermafroditismos verdaderos. El desarrollo espontáneo de la pubertad permite una virilización importante de los genitales externos (parece que la síntesis local de DHT es más crucial durante la vida fetal para la diferenciación de los genitales externos), y un desarrollo muscular de tipo masculino; sin embargo otras acciones androgénicas más dependientes de la DHT son deficitarias, como la cantidad y distribución del vello pubiano y facial y el acné; el cambio de voz es variable según los casos. Estos pacientes no desarrollan ginecomastia, a diferencia de los pacientes con resistencia a los andrógenos. Los genitales internos carecen de estructuras Mülllerianas, los derivados de los conductos de Wolff son normales (epídidimo, conductos deferentes, aunque las vesículas seminales son pequeñas) pero el desarrollo de la próstata es escaso.

La exploración hormonal de estos pacientes en edades prepuberales debe realizarse bajo estimulación con hCG: la respuesta de la T y de sus precursores es normal o en todo caso en el límite bajo de la normalidad; el diagnóstico bioquímico debería poder demostrar una disminución de los metabolitos *5 α -reducidos* de la T (en suero la DHT y el *5 α -androstendiol* y en orina los metabolitos *5 α reducidos* de andrógenos y glucocorticoides). En la práctica las determinaciones de DHT en suero de estos pacientes, tanto prepuberales bajo hCG como adultos, no ha sido, en muchos casos, definitiva

para el diagnóstico porque las concentraciones no están siempre claramente disminuídas (probablemente por el metabolismo hepático importante realizado por la *5 α -reductasa* codificada por el gen de tipo D).

Existen tres hechos que dificultan enormemente el diagnóstico diferencial bioquímico entre el déficit de *5 α -reductasa* primario y la resistencia a los andrógenos: normalidad aparente en las determinaciones bioquímicas de los receptores androgénicos (que puede ocurrir en la resistencia a los andrógenos), déficit de *5 α -reductasa* (que puede ocurrir de forma secundaria en la resistencia androgénica) y concentraciones séricas de DHT que pueden ser normales en el déficit de *5 α -reductasa* y bajas en la resistencia a los andrógenos. Es por ello actualmente necesario establecer el diagnóstico diferencial entre el déficit de *5 α -reductasa* y la resistencia parcial a los andrógenos mediante el estudio molecular.

En el caso del déficit de *5 α -reductasa* primario se han descrito hasta la actualidad hasta 29 mutaciones en 11 homocigotos y una elevada proporción de heterocigotos compuestos en el gen para el isoenzima de tipo II (SRD5A2) (expresado en próstata y genitales externos), localizado en el brazo corto del cromosoma 2 (2p23)⁸⁴⁻⁸⁸. Las mutaciones menos frecuentes son las deleciones (delección total del gen en los pacientes de Nueva Guinea, de 2 ó 3 nucleótidos en pacientes de Malta y Turquía) y predominan las mutaciones puntuales con el cambio de un aminoácido. Estas mutaciones se reparten por los 5 exones del gen, no habiendo zonas preferentes. Se ha descrito un primer paciente homocigoto para la mutación E197D procedente de un alelo mutado paterno, mientras que la madre no era portadora de otra mutación: este paciente parece demostrar que el déficit de *5 α -reductasa* puede ser transmitido mediante disomía uniparental, como ocurre en otras enfermedades como los síndromes de Prader-Willi y de Angelman entre otros⁸⁹. El estudio sistemático de pacientes con hipospadias simple, denominado idiopático, ha permitido describir en 7 de 81 (8,6%) la presencia de por lo menos una mutación puntual en uno de los dos alelos del gen *SRD5A2* y en 2 casos en ambos alelos⁹⁰: las mutaciones detectadas han sido A49T, L113V y H231R, siendo la A49T la más frecuente. Estas mutaciones puntuales no han sido descritas en los casos con el síndrome completo de déficit de *5 α -reductasa* primario lo cual sugiere que una deficiencia parcial de *5 α -reductasa* podría provocar algunos casos de hipospadias llamados idiopáticos y que no presentan toda la constelación fenotípica y hormonal del síndrome de déficit de *5 α -reductasa*.

Resistencia a los andrógenos

La resistencia a los andrógenos es, probablemente, la causa más frecuente de pseudohermafroditismo mas-

culino (*PSHM*), aunque su diagnóstico etiológico a menudo no llegue a realizarse o se realice de forma incompleta.

La acción de los andrógenos ocupa la última etapa que puede ser patológica entre todas aquellas necesarias para llegar a la diferenciación genital y sexual masculinas normales. La falta de respuesta a los andrógenos (tanto T como DHT) por alguna anomalía en el gen que codifica el receptor para los andrógenos impide la activación de la transcripción de los distintos genes que intervienen en la respuesta a los andrógenos. De la acción de los andrógenos durante la fase crítica fetal de diferenciación de genitales internos y externos, dependen la diferenciación de los conductos de Wolff en epidídimo, deferente y vesículas seminales por acción directa de la T, mientras que la diferenciación de la próstata y de los genitales externos depende de la DHT.

La anomalía génica o mutación del receptor de andrógenos puede provocar una falta total o parcial de respuesta a los andrógenos. Podemos hallar todo el abanico de la patología, desde la resistencia total, con un fenotipo genital externo totalmente femenino, hasta la resistencia más leve, catalogada según algunos autores como una simple ginecomastia y/o infertilidad en un hombre aparentemente normal. El gen del receptor de los andrógenos está localizado en Xq11-q12⁹¹, fue clonado en 1988^{92,93}, comenzándose seguidamente el análisis de las mutaciones responsables de esta patología.

La falta total de respuesta a los andrógenos conduce a un fenotipo con genitales externos completamente femeninos, genitales internos con vagina normal o hipoplásica, ausencia, en la mayoría de los casos, de derivados de los conductos de Müller y de los de Wolff, aunque pueden existir restos hipoplásicos. Los testes pueden ser intraabdominales o estar en conducto inguinal, existiendo una hernia inguinal que permite, en muchos casos, reconocer la enfermedad al hallar una gónada testicular en el curso de una intervención quirúrgica por hernia inguinal en un lactante. La evolución espontánea del síndrome conduce, durante la pubertad, al desarrollo de glándula mamaria normal, desarrollo escaso o ausente de vello pubiano y axilar, y genitales externos con morfología femenina prepuberal. La falta de respuesta androgénica no permite la regulación normal a nivel hipotálamo-hipofisario de la secreción de LH lo cual conduce a una hipersecreción de LH y secundariamente a una hiperplasia de las células de Leydig y niveles, en general, elevados de T a partir de la pubertad. La hiperestimulación testicular, con niveles aumentados de T y de E₂, y la falta de respuesta a los andrógenos conducen durante la pubertad al desarrollo de glándula mamaria que puede alcanzar un desarrollo femenino

normal. Existe una falta total de maduración de la línea germinal.

Los casos parciales pueden presentar todos los grados posibles, siendo los fenotipos en el recién nacido y durante la prepubertad indiferenciables con respecto al de los demás tipos de *PSHM* o incluso de la disgenesia gonadal mixta. Al llegar a la pubertad, y dejados a su evolución espontánea, el grado de virilización y feminización son variables y dependientes del grado de resistencia androgénica. En todo caso es característico el desarrollo de ginecomastia, pero ésta también se desarrolla en otras causas de *PSHM*, en la disgenesia gonadal mixta y en el hermafroditismo verdadero.

Es interesante señalar que, si bien la mayoría de pacientes no presentan restos de los conductos de Müller (prueba de una función normal de las células de Sertoli y del *MIF* durante la vida fetal), algunos (la tercera parte según algunos autores), tanto en el síndrome total como en el parcial, presentan restos Müllermanos consistentes en útero hipoplásico y trompas, en cuyo caso los testes suelen tener una localización intraabdominal alta.

El diagnóstico bioquímico *in vitro* se realiza mediante el estudio de las características de los receptores para la DHT en fibroblastos obtenidos a partir de piel genital (prepucio o capuchón del clítoris y labios)⁹⁴. Las anomalías detectables son: ausencia de unión específica de la DHT o de un andrógeno sintético (metiltrienolona o mibolerona), disminución en el número de receptores, anomalías cualitativas del receptor (disminución de la afinidad de la hormona para el receptor, termolabilidad, disociación acelerada, disminución de la autorregulación positiva del receptor, disminución o ausencia de unión al DNA, etc) y aumento en el número de receptores. Además, en un cierto número de casos, no llega a detectarse ninguna anomalía bioquímica.

El estudio de las anomalías moleculares del gen del receptor de los andrógenos ha aportado numerosos datos sobre el diagnóstico y la regulación del mecanismo de acción de los andrógenos⁹⁵⁻⁹⁸. El gen forma parte de la superfamilia de los genes de receptores a esteroides y proteínas nucleares reguladoras de la transcripción. Consta de 90 kilobases de las cuales sólo 3118 aproximadamente constituyen los 8 exones que codifican una proteína de aproximadamente 919 aminoácidos. El exón 1 en la región 5' codifica la parte N-terminal de la proteína que tiene una función reguladora de la transcripción con un número variable de glutaminas (de 9 a 36) y de glicinas (de 10 a 31), los exones 2 y 3 codifican la porción central, región de unión del receptor a los elementos de respuesta de los genes regulados por andrógenos (región de unión al DNA), conlleva dos dedos de zinc y los exones 4 a 8 que codifican la porción C-terminal de la proteína que reconoce y se une al andrógeno (región de unión al esteroide). Aunque la pri-

mera mutación se describió en una familia con la forma completa del síndrome y consistió en la delección de los exones 4 a 8 correspondientes a la zona de unión al esteroide, las mutaciones menos frecuentes han resultado ser las delecciones y las más frecuentes las puntuales con cambio de una base que puede provocar un codon de paro, un corte y empalme anómalo o la sustitución de un aminoácido por otro. La delección completa del gen ha sido descrita en tres pacientes con la forma completa del síndrome. Las mutaciones puntuales se localizan, por orden de frecuencia, primero en los exones del dominio de unión al esteroide (exones 4-8), después en los exones del dominio de unión al DNA (exones 2 y 3) y finalmente las menos frecuentes están en el exón 1. Las mutaciones en los dominios de unión al esteroide y al DNA pueden dar lugar tanto a formas completas como incompletas, mientras que las mutaciones en el exón 1 dan lugar a formas completas en la mayor parte de los casos referenciados. Actualmente se han detectado más de 600 mutaciones distintas. El número de mutaciones es tan elevado que se estableció una base de datos de las mutaciones en el gen del receptor de andrógenos que es puesta al día regularmente y es objeto de una publicación anual⁹⁸ y dirección en Internet: <http://www.mcgill.ca/androgendb/>⁹⁹.

Existen casos en los que no se detecta ninguna anomalía molecular en el gen del receptor de andrógenos, a pesar de haber secuenciado todo el gen, incluso en resistencias totales a los andrógenos, aunque esto ocurre más en los casos parciales, probablemente porque se trata de otra etiología no sospechada. Es posible que existan mutaciones intrónicas no detectadas mediante la secuenciación de exones que puedan afectar la transcripción. Pero también pueden existir anomalías en algún gen de un coactivador que intervenga en la activación de la transcripción génica en coordinación con el receptor (se han descrito mutaciones de este tipo en cáncer de próstata) y se puede hipotetizar que puedan existir mutaciones germinales que están por describir. Esto ha sido propuesto en un caso familiar de resistencia a glucocorticoides, mineralocorticoides y andrógenos y en un caso aislado de resistencia total a los andrógenos¹⁰⁰.

Actualmente es recomendable el diagnóstico molecular de los casos de resistencia total o parcial a los andrógenos. Ello es importante, además, para poder establecer un estudio familiar que permita la detección de mujeres portadoras del X anómalo y en caso necesario es posible el diagnóstico prenatal. El estudio del origen del X portador de la anomalía ha permitido establecer que el número de mutaciones *de novo* es elevado en los casos aislados, pareciendo ser más frecuentes las mutaciones durante la meiosis masculina, siendo la mutación transmitida a la hija que se hace portadora. Se ha demostrado la existencia de mutaciones post-cigóticas

ocurridas *de novo*, de manera que se produce un mosaicismo somático; es importante reconocer esta situación de cara al consejo genético y a explicar la variabilidad de expresión fenotípica de la misma mutación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Audí L, Vicens-Calvet E. Desarrollo y diferenciación sexual normal. En: Argente Oliver J, Carrascosa Lezcano A, Gracia Bouthelier R, Rodríguez Hierro F (Eds). Tratado de Endocrinología Pediátrica (Segunda Edición). Doyma, Barcelona, 2000. pp. 775-96.
2. Raymond CS, Parker ED, Kettlewell JR, Brown LG, Page DC, Kusz K, Jaruzelska J, Reinberg Y, Flejter WL, Bardwell VJ, Hirsch B, Zarkower D. A region of human chromosome 9p required for testis development contains two genes related to known sexual regulators. *Hum Mol Genet.* 1999;8:989-96.
3. Shan Z, Zabel B, Trautmann U, Hillig U, Ottolenghi C, Wang Y, Haaf T. FISH mapping of the sex-reversal region on human chromosome 9p in two XY females and in primates. *Europ J Hum Genet.* 2000;8:167-73.
4. Matsuo N, Muroya K, Sato S, Ishii T, Sasaki G, Ogata T: Sex determining gene(s) on distal 9p: clinical and molecular studies in six cases. *Horm Res.*2000;53(S2): 87.
5. Vanio S, Heikkila M, Kispert A, Chin N, McMahon A. Female development in mammals is regulated by WNT4 signaling. *Nature.* 1999;397:405-9 .
6. Elejalde BR, Opitz JM, de Elejalde MM, Gilbert EF, Abellera M, Meisner L, Lebel RR, Hartigan JM. Tandem dupl(1p) within the short arm of chromosome 1 in a child with ambiguous genitalia and multiple congenital anomalies. *Am J Med Genet.* 1984;17:723-30.
7. Wieacker P, Missbach D, Jakubiczka S, Borgmann S, Albrs N: Sex reversal in a child with the karyotype 46,XY,dup(1)(p22.3p32.3). *Clin Gene.* 1996;49:271-3.
8. Jordan BK, Mohammed M, Ching ST, Delot E, Chen XN, Dewing P, Swain A, Rao PN, Elejalde BR, Vilain E. Up-regulation of WNT-4 signaling and dosage-sensitive sex reversal in humans. *Am J Hum Genet.* 2001;68:1102-9.
9. Tar A, Solyom J, Barbaux S, Vilain E, Fellous M, McElreavey K. Evidence for a gene located on the X chromosome governing both testis and ovary determination. *Horm Res.*1994;41:115.
10. Bardoni B, Zanaria E, Guioli S, Floridia G, Worley KC, Tonini G, Ferrante E, Chiumello G, McCabe ERB, Fraccaro M, Zufardi O, Camerino G. A dosage sensitive locus at chromosome Xp21 is involved in male to female sex reversal. *Nat Genet.* 1994;7:497-501.
11. Muscatelli F, Storm TM, Walker AP, Zanaria E, Recan D, Meindl A, Bardoni B, Guioli S, Zehetner G, Rabl W, Schwarz HP, Kaplan JC, Camerino G, Meitinger T, Monaco AP. Mutations in the DAX-1 gene give rise to both X-linked hypoplasia congenita and hypogonadotropic hypogonadism. *Nature.* 1994;372:672-6.
12. Habiby RL, Boepple P, Nachtigall L, Sluss PM, Crowley WF, Jameson JL. Adrenal hypoplasia congenita with hypogonadotropic hypogonadism: evidence that DAX-1 mutations lead to combined hypothalamic pituitary defects in gonadotropin production. *J Clin Invest.* 1996;98:1055-62.
13. Peter M, Viemann M, Partisch CJ, Sippell WG. Congenital adrenal hypoplasia: clinical spectrum, experience with hormonal diagnosis, and report on new point mutations of the DAX-1 gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:2666-74.

14. Migeon CJ, Wisniewski AB. Human sex differentiation: from transcription factors to gender. *Horm Res.* 2000;53:111-9.
15. Hiort O, Holterhus PM. The molecular basis of male sexual differentiation. *Eur J Endocrinol.* 2000;142:101-10.
16. Vaiman D, Pailhoux E. Mammalian sex reversal and intersexuality: deciphering the sex-determination cascade. *TIG (Trends Genet).* 2000;16:488-94.
17. Mackay S. Gonadal development in mammals at the cellular and molecular levels. *Int Rev Cytol.* 2000;200:47-99.
18. Berta P, Hawkins JR, Sinclair AH, Taylor A, Griffiths BL, Goodfellow PN, Fellous M. Genetic evidence equating SRY and the testis determining factor. *Nature.* 1990;348:448-50.
19. Jäger RJ, Anvret M, Hall K, Sherer G. A human XY female with a frameshift mutation in the candidate testis-determining gene SRY. *Nature.* 1990;348:452-454.
20. McElreavy KD, Vialin D, Boucekkine C, Vidaud M, Jaubert F, Richaud F, Fellous M. XY sex reversal associated with a non-sense mutation in SRY. *Genomics.* 1992;13:838-40.
21. Hawkins JR, Taylor A, Berta P, Levilliers J, Van der Auwera B, Goodfellow PN: Mutational analysis of SRY. nonsense and missense mutations in XY sex reversal. *Hum Genet.* 1992;88:471-4.
22. Jäger RJ, Harley VR, Pfeiffer RA, Goodfellow PN, Scherer G. A familial mutation in the testis-determining gene SRY shared by both sexes. *Hum Genet.* 1992;90:350-5.
23. Lorian L, Bilbao JR, Calvo B, Rica I, Urrutia I, Castaño L. Familial XY complete gonadal dysgenesis: nonsense mutation in the SRY open reading frame. *Horm Res.* 1995;44 (Suppl1): 9.
24. Pivnick EK, Watchel S, Woods D, Simpson JL, Bishop CE: Mutations in the conserved domain of SRY are uncommon in XY gonadal dysgenesis. *Hum Genet.* 1992;90:308-10.
25. Saifi GM, Tilak P, Veitia R, Thomas IM, Tharapel A, McElreavy K, Fellous M, Chandra HS. A novel mutation 5' to the HMG box of the SRY gene in a case of Swyer syndrome. *J Genet.* 1999;78:157-61.
26. Hawkins JR, Taylor A, Goodfellow PN, Migeon CJ, Smith KD, Berkovitz GD. Evidence for increased prevalence of SRY mutations in XY females with complete rather than partial gonadal dysgenesis. *Am J Hum Genet.* 1992;51:979-84.
27. Vilain E, Jaubert F, Fellous M, McElreavey: Pathology of 46, XY pure gonadal dysgenesis. absence of testis differentiation associated with mutations in the testis-determining factor. *Differentiation.* 1993;52:151-9.
28. Coppes MJ, Huff V, Pelletier J. Denys-Drash syndrome: relating a clinical disorder to genetic alterations in the tumor suppressor gene WT1. *J Pediatr.* 1993;123:673-8.
29. Martínez-Mora J, Audí L, Torán N, Isnard R, Castellví A, Pérez-Iribarne M, Egozcue J. Ambiguous genitalia, gonadoblastoma, aniridia and mental retardation with deletion of chromosome 11. *J Urol.* 1989;142:1298-1300.
30. Schmitt K, Zabel B, Tulzer G, Eitelberger F, Pelletier J. Nephropathy with Wilms tumour or gonadal dysgenesis: incomplete Denys-Drash syndrome or separate diseases? *Eur J Pediatr.* 1995;154:577-81.
31. Mueller RF. The Denys-Drash syndrome. *J Med Genet.* 1994;31:471-7.
32. Poulat F, Morin D, König A, Brun P, Giltay J, Sultan C, Dumas R, Gessler M, Berta P. Distinct molecular origins for Denys-Drash and Frasier syndromes. *Hum Genet.* 1993;91:285-6.
33. Barbaux S, Niaudet P, Gubler MC, Grunfeld JP, Jaubert F, Kuttann F, Fekete CN, Souleyreau-Therville N, Thibault E, Fellous M, McElreavy K. Donor splice-site mutations in WT1 are responsible for Frasier syndrome. *Nat Genet.* 1997;17: 467-70.
34. Klamt B, Koziell A, Poulat F, Wieacker P, Scambler P, Berta P, Gessler M. Frasier syndrome is caused by defective alternative splicing of WT1 leading to an altered ratio of WT1 +/- KTS splice isoforms. *Hum Mol Genet.* 1998;7:709-14.
35. Barbosa AS, Hadjiathanasiou CG, Theodoridis C, Papathanasiou A, Tar A, Merksz M, Gyorvari B, Sultan C, Dumas R, Jaubert F, Niaudet P, Moreira-Filho CA, Cotinot C, Fellous M. The same mutation affecting the slicing of WT1 gene is present on Frasier syndrome patients with or without Wilms' tumor. *Hum Mut.* 1999;13:146-53.
36. Köhler A, Schumacher V, Royer-Pokora B, Grüters A. Mutational screening of the WT1 gene in boys with severe hypospadias. *Horm Res.* 1999;51 (suppl 2):77.
37. Wagner T, Wirth J, Meyer J, Zabel B, Held M, Zimmer J, Pasantes J, Bricarelli FD, Keutel J, Hustert E, Wolf U, Toomey N, Schempp W, Scherer G. Autosomal sex reversal and campomelic dysplasia are caused by mutations in and around the SRY-related gene SOX9. *Cell.* 1994;79:1111-20.
38. Kamachi Y, Uchikawa M, Kondoh H: Pairing SOX off with partners in the regulation of embryonic development. *Trends Genet (TIG).* 2000;16:182-7.
39. Marshall OJ, Harley VR. Molecular mechanisms of SOX9 action. *Mol Genet Metab.* 2000;71:455-62.
40. Kwok C, Goodfellow PN, Hawkins JR. Evidence to exclude SOX9 as a candidate gene for XY sex reversal without skeletal malformation. *J Med Genet.* 1996;33:800-1.
41. Meyer J, Sudbeck P, Held M, Wagner T, Schmitz ML, Bricarelli FD, Eggermont E, Friedrich U, Haas OA, Kobelt A, Leroy JG, Van Maldergem L, Michel E, Mitulla B, Pfeiffer RA, Schindel A, Schmidt H, Scherer G. Mutational analysis of the SOX9 gene in campomelic dysplasia and autosomal sex reversal: lack of genotype/phenotype correlations. *Hum Mol Genet.* 1997;6:91-8.
42. Huang B, Wang S, Ning Y, Lamb AN, Bartley J. Autosomal XX sex reversal caused by duplication of SOX9. *Am J Med Genet.* 1999;87:349-53.
43. Achermann JC, Ito M, Ito M, Hindmarsh PC, Jameson JL. A mutation in the gene encoding steroidogenic factor-1 causes XY sex reversal and adrenal failure in humans. *Nat Genet.* 1999;22:125-6.
44. Umehara F, Tate G, Itoh K, Yamaguchi N, Douchi T, Mitsuya T, Osame M. A novel mutation of desert hedgehog in a patient with 46,XY partial gonadal dysgenesis accompanied by minifascicular neuropathy. *Am J Hum Genet.* 2000;67:1302-5.
45. Kallen B, Castilla EE, Robert E, Lancaster PA, Kringelbach M, Mutchinick O, Martínez-Frías ML, Mastroiacovo P. An international case-control study on hypospadias. The problem with variability and the beauty of diversity. *Eur J Epidemiol.* 1992;8:256-63.
46. Harris EL, Beaty TH. Segregation analysis of hypospadias: a reanalysis of published pedigree data. *Am J Med Genet.* 1993;45:420-5.
47. Kennerknecht I, Sorgo W, Oberhoffer R, Teller WM, Mattfeldt T, Negri G, Vogel W. Familial occurrence of agonadism and multiple internal malformations in phenotypically normal girls with 46,XY and 46,XX karyotypes. *Am J Med Genet.* 1993;47: 1166-70.
48. Pauli RM. Lower Mesodermal Defects: a common cause of fetal and early neonatal death. *Am J Med Genet.* 1994;50:154-72.
49. Simpson JL. Genetics of the female reproductive ducts. *Am J Med Genet (Semin Med Genet).* 1999;89:224-39.
50. Devrient K, Jaeken J, Matthijs G, Van Esch HV, Debeer P, Gewillig M, Fryns JP. Haploinsufficiency of the HOXA gene

- cluster in a patient with Hand-Foot-Genital syndrome, velopharyngeal insufficiency and persistent ductus Botalli. *Am J Hum Genet.* 1999;65:249-51.
51. Goodman FR, Scambler PJ. Human HOX gene mutations. *Clin Genet.* 2001;59:1-11.
 52. Ion A, Copin H, Barnoux M, Aizenberg C, Lesourd A, Couesnot O, Lubetzki J, Telvi L. Abnormal sex differentiation and multiple congenital abnormalities in a subject harbouring an apparently balanced (6;8) translocation. *J Brit Med Genet.* 2000;37:972-4.
 53. Batanian JR, Grange DK, Fleming R, Gadre B, Wetzel J. Two unbalanced translocations involving a common 6p25 region in two XY female patients. *Clin Genet.* 2001;59:52-7.
 54. Chang HJ, Clark RD, Bachman H. The phenotype of 45,X/46,XY mosaicism: an analysis of 92 prenatally diagnosed cases. *Am J Genet.* 1990;46:156-67.
 55. Cohen-Haguenaer O, Picard JY, Mattei MG, Serero S, Nguyen VC, de Tand MF, Guerrier D, Hors-Cayla MC, Josso N, Frézal J. Mapping of the gene for anti-Müllerian hormone to the short arm of human chromosome 19. *Cytogenet Cell Genet.* 1987;44:2-6.
 56. Guerrier D, Tran D, VanderWinden JM, Hiduex S, Van Outryve L, Legeai L, Bouchard M, VanVliet G, DeLaet MH, Picard JY, Kahn A, Josso N. The persistent Müllerian duct syndrome: a molecular approach. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;68:46-52.
 57. Di Clemente N, Wilson C, Faure E, Boussin L, Carmillo P, Tizard R, Picard JY, Vigier B, Josso N, Cate R. Cloning, expression and alternative splicing of the receptor for anti-Müllerian hormone. *Molec Endocrinol.* 1994;8:1006-20.
 58. Park IJ, Burnett LS, Jones HW, Migeon CJ, Blizzard RM. A case of male pseudo-hermaphroditism associated with elevated LH normal FSH and low testosterone possibly due to the secretion of an abnormal LH molecule. *Acta Endocr.* 1976;83:173-81.
 59. Axelrod L, Neer R, Kliman B. Hypogonadism in a male with immunologically active biologically inactive luteinizing hormone: an exception to a venerable rule. *J Clin Endocrinol Metab.* 1978;48:593-603.
 60. Weiss J, Axelrod L, Whitcomb RW, Harris PE, Crowley WF, Jameson JL. Hypogonadism caused by a single amino acid substitution in the β -subunit of luteinizing hormone. *N Engl J Med.* 1992;326:179-83.
 61. Meyer W, Keenan B, de Lacerda L, Park J, Jones HE, Migeon CJ. Familial male pseudohermaphroditism with normal Leydig cell function at puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 1978; 46: 593-603
 62. Tsai-Morris CH, Geng Y, Buczko E, Dufau ML. A novel human luteinizing hormone receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:288-91.
 63. Wu SM, Chan WY. Male pseudohermaphroditism due to inactivating luteinizing hormone receptor mutations. *Arch Med Res.* 1999;30:495-500.
 64. Themmen APN, Huhtaniemi IT. Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors: elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. *Endocr Rev.* 2000;21:551-83.
 65. Ginat S, Maslen CL, Connor WE, Porter FD, Steiner RD. Smith-Lemli-Opitz syndrome: a multiple malformation/mental retardation syndrome caused by defective cholesterol synthesis. *The Endocrinologist.* 2000;10:300-13.
 66. Kelley RI, Hennekam RCM. The Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Med Genet.* 2000;37:321-35.
 67. Porter FD. RSH/Smith-Lemli-Opitz syndrome: a multiple congenital anomaly/mental retardation syndrome due to an inborn error of cholesterol biosynthesis. *Mol Genet Metab.* 2000;71:163-74.
 68. Bose HS, Sugawara T, Strauss JF III, Miller WL. The pathophysiology and genetics of congenital lipid adrenal hyperplasia Consortium. *N Engl J Med.* 1996;335:1870-8.
 69. 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;85:3636-9.
 70. Tajima T, Fujieda K, Kouda N, Nakae J, Miller WL. Heterozygous mutation in the cholesterol side chain cleavage enzyme (P450scC) gene in a patient with 46,XY sex reversal and adrenal insufficiency. *J Clin Endocr Metab.* 2001;86:3820-5.
 71. Rhéaume E, Lachance Y, Zhao HF, Breton N, Dumont M, de Launoit Y, Trudel C, Luu-The V, Simard J, Labrie F. Structure and expression of a new complementary DNA encoding the almost exclusive 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ^5 - Δ^4 -isomerase in human adrenals and gonads. *Mol Endocrinol.* 1991;5:1147-57.
 72. McCartin S, Russell AJ, Fisher RA, Wallace AM, Arnhold IJP, Mason JI, Varley J, Mendonça BB, Sutcliffe RG. Phenotypic variability and origins of mutations in the gene encoding 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase type II. *J Mol Endocrinol.* 2000;24:75-82.
 73. Picado-Leonard J, Miller WL. Cloning and sequence of the human gene for P450c17 (steroid 17 α -hydroxylase/17,20-lyase): similarity with the gene for P450c21. *DNA.* 1987;6:439-48.
 74. Matteson KJ, Picado-Leonard J, Chung BC, Mohandas TK, Miller WL. Assignment of the gene for adrenal P450c17 (steroid 17 α -hydroxylase/17,20-lyase) to human chromosome 10. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986;63:789-91.
 75. Yanase T, Simpson ER, Waterman MR. 17 α -hydroxylase/17,20-lyase deficiency: from clinical investigation to molecular definition. *Endocr Rev.* 1991;12:91-108.
 76. Miller WL, Geller DH, Auchus RJ. The molecular basis of isolated 17,20 lyase deficiency. *Endocr Res.* 1998;24:817-25.
 77. Luu-The V, Labrie C, Simard J, Lachance Y, Zhao HF, Couet J, Leblanc G, Labrie F. Structure of two in tandem human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase genes. *Mol Endocrinol.* 1990;4:268-75.
 78. Geissler WM, Davis DL, Wu L, Bradshaw KD, Patel S, Mendonça BB, Elliston KO, Wilson JD, Russell DW, Andersson S. Male pseudohermaphroditism caused by mutations of testicular 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 3. *Nat Genet.* 1994;7:34-9.
 79. Andersson S, Geissler WM, Wu L, Davis DL, Grumbach MM, New MI, Schwarz HP, Blethen SL, Mendonça BB, Bloise W, Witchel SF, Cutler Jr GB, Griffin JE, Wilson JD, Russell DW. Molecular genetics and pathophysiology of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 3 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:130-6.
 80. Bilbao JR, Loridan L, Audí L, Gonzalo E, Castaño L. A novel missense (R80W) mutation in 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 3 gene associated with male pseudohermaphroditism. *Eur J Endocrinol.* 1998;139:330-3.
 81. Boehmer AL, Brinkmann AO, Sandkuijl LA, Halley DJ, Niermeijer MF, Andersson S, de Jong FH, Kayserli H, de Vroede MA, Otten BJ, Rouwe CW, Mendonça BB, Rodrigues C, Bode HH, de Ruiten PE, Delemarre-van de Waal HA, Drop SL. 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase-3 deficiency: diagnosis, phenotypic variability, population genetics, and world-wide distribution of ancient and the novo mutations. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:4713-21.
 82. Twosten W, Holterhus PM, Sippell WG, Morlot M, Schumacher H, Schenk B, Hiort O. Clinical, endocrine, and molecu-

- lar genetic findings in patients with 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. *Horm Res.* 2000;53:26-31.
83. Rösler A, Silverstein S, Abielovich D. A (R80Q) mutation in 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 3 gene among Arabs of Israel is associated with pseudohermaphroditism in males and normal asymptomatic females. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:1827-31.
 84. Andersson S, Russell DW. Structural and biochemical properties of cloned and expressed human and rat steroid 5 α -reductases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990;87:3640-4.
 85. Thigpen AE, Davis DL, Milatovich A, Mendonça BB, Imperato-McGinley J, Griffin JE, Francke U, Wilson JD, Russell DW. Molecular genetics of steroid 5 α -reductase 2 deficiency. *J Clin Invest.* 1992;90:799-809.
 86. Vilchis F, Méndez JP, Canto P, Lieberman E, Chávez B. Identification of missense mutations in the SRD5A2 gene from patients with steroid 5 α -reductase 2 deficiency. *Clin Endocrinol.* 2000;52:383-8.
 87. Fernández-Cancio M, Nistal M, Gracia R, Molina MA, Tovar JA, Esteban C, Carrascosa A, Audí L. Compound heterozygous mutations in the SRD5A2 gene exon 4 in a male pseudohermaphrodite patient of Chinese origin. *J Androl.* 2004;25:412-6.
 88. Fernández-Cancio M, Rodó J, Andaluz P, Martínez de Osaba M^aJ, Rodríguez-Hierro F, Esteban C, Carrascosa A, Audí L. Clinical, biochemical and morphologic diagnostic markers in an infant male pseudohermaphrodite patient with compound heterozygous mutations (G115D/R246W) in SRD5A2 gene. *Horm Res.* 2004;62:259-64.
 89. Chávez B, Valdez E, Vilchis F. Uniparental disomy in steroid 5 α -reductase 2 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:3147-50.
 90. Silver RI, Russell DW. 5 α -reductase type 2 mutations are present in some boys with isolated hypospadias. *J Urol.* 1999;162:1142-5.
 91. Migeon BR, Brown TR, Axelman J, Migeon CJ. Studies of the locus for androgen receptor: localization on the human X chromosome and evidence for homology with the tfm locus in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1981;78:6339-43.
 92. Chang C, Kokontis J, Liao S. Molecular cloning of human and rat complementary DNA encoding androgen receptors. *Science.* 1988;240:324-6.
 93. Lubahn DB, Joseph DR, Sullivan PM, Willard HF, French FS, Wilson EM. Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome. *Science.* 1988;240:327-30.
 94. 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;16:271-321.
 95. Pinsky L, Trifiro M, Kaufman M, Beitel LK, Mhatre A, Kazemi-Esfarjani P, Sabbaghian N, Lumbroso S, Alvarado C, Vasiliou M, Gottlieb B. Androgen resistance due to mutation of the androgen receptor. *Clin Invest Med.* 1992;15:456-72.
 96. Gottlieb B, Pinsky L, Beitel LK, Trifiro M. Androgen insensitivity. *Am J Med Genet (Semin Med Genet).* 1999;89:210-7.
 97. McPhaul MJ, Griffin JE. Male pseudohermaphroditism caused by mutations of the androgen receptor. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3435-41.
 98. Gottlieb B, Beitel LK, Wu JH, Trifiro M. The androgen receptor gene mutations database (ARDB): 2004 update. *Hum. Mutat.* 2004;23:527-33. Note: Erratum: *Hum. Mutat.* 2004; 24:102.
 99. Gottlieb B. Androgen receptor gene mutations database. <http://www.androgendb.mcgill.ca/>
 100. Adachi M, Takayanagi R, Tomura A, Imasaki K, Kato S, Goto K, Yanase T, Ikuyama S, Nawata H. Androgen-insensitivity syndrome as a possible coactivator disease. *N Engl J Med.* 2000;343:856-62.