

DESARROLLO SEXUAL DIFERENTE

Diagnóstico multidisciplinar del desarrollo sexual diferente

Multidisciplinary diagnosis of different sexual development

Julio Guerrero-Fernández^{ab}, Montse Amat Bou^{ac}, Laura Audí Parera^{ad}, María Cristina Azcona Sanjulian^{ac}, Atilano Carcavilla Urqui^{ab}, Luis Castaño González^{af}, Jesús Domínguez Riscart^{ag}, José María Martos Tello^{ah}, Cristina Mora Palma^{ab}, María Francisca Moreno Macián^{ai}, Diego Yeste Fernández^{aj}

^a Grupo de Trabajo sobre ADS/DSD de la Sociedad Española de Endocrinología Pediátrica (SEEP)

^b Servicio de Endocrinología Pediátrica, Hospital Infantil La Paz, Madrid, España.

^c Servicio de Endocrinología Pediátrica, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, España.

^d Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR), CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, España

^e Unidad de Endocrinología, Departamento de Pediatría, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, España

^f Servicio de Pediatría - Endocrinología, Hospital Universitario Cruces, Barakaldo, España

^g Instituto BioCruces - Endocrinología Pediátrica, Hospital Universitario Cruces, Barakaldo, España

^h Unidad de Endocrinología Pediátrica, Hospital Universitario Puerta del Mar, España.

ⁱ Unidad de Endocrinología Pediátrica, Hospital Universitario Virgen de La Arrixaca, Murcia, España

^j Servicio de Endocrinología Pediátrica, Hospital La Fé, Valencia, España

^k Servicio de Endocrinología Pediátrica, Hospital Materno Infantil Vall d'Hebron, CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), EndoERN, Barcelona, España

Resumen

La valoración diagnóstica de pacientes con desarrollo sexual diferente debe llevarse a cabo por equipos multidisciplinarios con experiencia en los que cada integrante aportará los conocimientos y la experiencia necesarios para la interpretación conjunta de los resultados obtenidos de las pruebas complementarias y, con ellos, tomar las decisiones oportunas que deriven de un diagnóstico etiológico probable o establecido. Tales decisiones dependerán, también, de un diagnóstico anatómico del sistema urogenital e histopatológico de las gónadas, y consistirán en valorar ítems como la identidad de género del paciente, el tipo de cirugía necesaria, tanto de corrección anatómica como de reasignación sexual, las terapias hormonales que deberán llevarse a cabo y la conveniencia de gonadectomía profiláctica.

Introducción

Las entidades que configuran el desarrollo sexual diferente (DSD) constituyen un grupo heterogéneo de patologías que dan como resultado una alteración en la determinación o diferenciación del sexo, y que se estima que afectan a 1 de cada 4.500 recién nacidos (excluidos el hipospadias aislado y los DSD secundarios a anomalías cromosómicas). Según la clasificación del Consenso de Chicago de 2006, se pueden dividir en tres categorías según el resultado del cariotipo en la sangre periférica: la que incluye las entidades que presentan un cariotipo 46,XX, la que tiene como resultado un cariotipo 46,XY, y, por último, la que deriva de alteraciones en este par cromosómico 23 (Tabla I)^{1,2}.

Tabla I. Clasificación de las entidades incluidas dentro del desarrollo sexual diferente (DSD).

A. Alteraciones cromosómicas	
	a. 47,XXY: síndrome de Klinefelter y variantes b. 45,X0 y mosaicos 45,X0/46,XX: síndrome de Turner y variantes c. 45,X0/46,XY: disgenesia gonadal mixta d. 46,XX/46,XY: DSD ovotesticular, quimerismo e. 47,XYY
B. Cariotipo 46,XX	
Anomalías en el desarrollo gonadal	a. Disgenesia gonadal 46,XX b. 46,XX ovotesticular c. DSD testicular 46,XX (<i>SRY</i> , <i>dup SOX9</i> , <i>RSPO1</i>) o varón 46,XX
Anomalías en el desarrollo genital por exceso de andrógenos	<p><i>Producción fetal:</i></p> a. Deficiencia de 21-hidroxilasa (<i>CPY21A2</i>) b. Deficiencia de 11-β-hidroxilasa (<i>CYP11B1</i>) c. Deficiencia P450 oxidoreductasa (<i>POR</i>) d. Deficiencia de citocromo b5 (<i>CYB5</i>) e. Deficiencia de 3-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (<i>HSD3B2</i>) f. Mutaciones del receptor de glucocorticoides (<i>NR3C1</i>)
	<p><i>Producción fetoplacentaria:</i></p> a. Deficiencia de aromatasa placentaria y fetal (<i>CYP19A1</i>) b. Deficiencia de P450 oxidoreductasa (<i>POR</i>) c. Tumores fetales o placentarios productores de andrógenos
	<p><i>Producción materna:</i></p> a. Fármacos androgénicos b. Tumores maternos virilizantes (por ejemplo, luteomas, tumor de Krukenberg)
Otros	- Síndrome pie-mano-genital - Hipoplasia/agenesia de estructuras müllerianas (síndrome de Rokitansky-Hauser de tipo I y de tipo II (<i>MURCS</i>) - Anomalías uterinas (por ejemplo, <i>MODY 5</i>) - Atresia vaginal - Adherencias de los labios vaginales
C. Cariotipo 46,XY	
Anomalías en el desarrollo gonadal	a. Disgenesia gonadal 46,XY (completa o parcial) (<i>SRY</i> , <i>SOX9</i> , <i>NR5A1</i> , <i>WT1</i> , <i>DHH</i> , etc.) b. 46,XY ovotesticular c. Síndrome de regresión testicular (incluye la anorquia y el síndrome de fuga testicular)
Anomalías en el desarrollo genital por alteración en la síntesis o en la acción hormonal	<p><i>Alteraciones de la síntesis de andrógenos:</i></p> a. Mutaciones del receptor de LH (hipoplasia o aplasia de células de Leydig; <i>LHCGR</i>) b. Síndrome Smith-Lemli-Opitz (déficit de 7-deshidrocolesterol reductasa: <i>DHCR7</i>) c. Defectos en la síntesis de testosterona: - Hiperplasia suprarrenal lipoidea congénita (<i>StAR</i>) - Deficiencia de colesterol desmolasa (<i>CYP11A1</i>) - Deficiencia de 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (<i>HSD3B2</i>) - Deficiencia de 17α-hidroxilasa/17-20 liasa (<i>CYP17A1</i>) - Deficiencia P450 oxidoreductasa (<i>POR</i>) - Deficiencia de citocromo b5 (<i>CYB5</i>) - Deficiencia de 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (<i>HSD17B3</i>) - Deficiencia de 5α-reductasa tipo 2 (<i>SRD5A2</i>)
	<p><i>Alteraciones en la acción de los andrógenos:</i></p> a. Insensibilidad a los andrógenos (<i>AR</i> ; total o parcial = <i>CAIS</i> o <i>PAIS</i>) b. Fármacos y moduladores ambientales
	<p><i>Alteraciones en la síntesis o acción de la hormona antimülleriana:</i> síndrome de los conductos de Müller persistentes (<i>AMH/AMHR2</i>)</p>
Otros	- Síndromes malformativos con alteraciones del desarrollo genital masculino (por ejemplo, anomalías cloacales, síndrome de Aarskog, síndrome de Robinow, etc.) - Retraso de crecimiento intrauterino grave y precoz - Hipospadias aislado (<i>CXorf6</i> o <i>MAMLD1</i>) - Hipogonadismo hipogonadótropo congénito - Criptorquidismo (<i>INSL3</i> , <i>RXFP2</i> [o <i>INSL3R</i> o <i>GREAT</i>])

CAIS: síndrome de insensibilidad completa a los andrógenos; LH: hormona luteinizante; MURCS: aplasia del conducto mülleriano, displasia renal, anomalías de los somitas cervicales; PAIS: síndrome de insensibilidad parcial a los andrógenos.

Son situaciones que pueden manifestarse a edades muy variables, desde una detección prenatal, en el recién nacido o en el lactante, hasta descubrirse en la infancia, en la pubertad o incluso en el adulto³⁻⁵.

Sus causas son múltiples, desde genéticas a medioambientales, que pueden afectar a cualquiera de los niveles del desarrollo sexual: el de la gónada (disgenesia gonadal o gónadas discordantes), y el de los genitales internos (ausentes o discordantes) y/o externos (grado de virilización)^{3,4,6}.

Para llegar al diagnóstico concreto de la entidad responsable del DSD, es necesario seguir un camino liderado por un equipo multidisciplinar que debe seguir varios pasos, como la realización de un cariotipo y una analítica hormonal, el uso de métodos de imagen, el análisis molecular y, cuando sea pertinente, una biopsia gonadal³. Otras decisiones relevantes tomadas a *posteriori*, y que requieren una valoración conjunta por parte de este comité de expertos, tienen que ver con la asignación del género, la decisión de cirugías y la conveniencia de gonadectomía en determinados pacientes con DSD^{4,6}.

El presente artículo pretende centrarse exclusivamente en la valoración diagnóstica por parte del equipo multidisciplinar, donde cada integrante aportará los conocimientos y la experiencia necesarios para la interpretación conjunta de los resultados obtenidos, y tomará las decisiones oportunas que deriven de un diagnóstico probable o establecido de DSD.

Necesidad de un equipo multidisciplinar en el manejo diagnóstico del paciente con desarrollo sexual diferente

El diagnóstico de un paciente con DSD abarca tres áreas fundamentales que derivan de la respuesta a varias preguntas: a) ¿por qué se ha producido?, ¿es un problema hormonal o puramente malformativo?, ¿tiene un origen genético? (*diagnóstico etiológico*); b) ¿afecta a genitales externos y/o internos, o sólo a la gónada? y, si es lo primero, ¿cuál es la anatomía del sistema urogenital? (*diagnóstico anatómico*); y c) ¿debe biopsiarse la gónada para clasificarla? y, ¿tiene riesgo de malignizar en el futuro? (*diagnóstico histopatológico*). Responder a lo primero resulta obvio, pero no siempre factible (un porcentaje relativamente alto de los DSD hoy en día permanece sin diagnóstico etiológico); responder a lo segundo y lo tercero es tan importante, o más, ya que ello permite conocer la posibilidad de presentar complicaciones presentes o futuras a nivel urogenital (y puede que a otros niveles), y porque de ello dependen las cirugías que puedan plantearse después (de corrección anatómica, de reasignación sexual y gonadectomía). También hay otras preguntas derivadas que son pertinentes resolver en un paciente con DSD: si el origen es genético, ¿el cambio molecular responsable es de *novo* o hereda-

do?, ¿cuál es el riesgo de transmisión a descendientes? (consejo genético), y ¿puede suponer un cambio en la identidad de género esperada del paciente con DSD? (evaluación psicológica del género).

Responder a las preguntas que permitan el diagnóstico etiológico, anatómico e histopatológico representa, en muchos casos, un proceso complejo que depende de una adecuada interpretación de los resultados obtenidos en las diversas pruebas complementarias practicadas y para el que se requieren de equipos multidisciplinarios con experiencia. Con este objetivo, los especialistas implicados en dicho proceso deberían incluir a un endocrinólogo pediatra, un neonatólogo en el caso de recién nacidos, un radiólogo pediátrico, un bioquímico clínico experto en la determinación e interpretación de hormonas, un genetista clínico, un urólogo/cirujano pediátrico y un patólogo. En el seguimiento ulterior y la toma de decisiones más complejas, el equipo multidisciplinar debe contar, además, con un psicólogo clínico, un trabajador social, un experto en bioética, una enfermera pediátrica especializada y los especialistas de adultos correspondientes (endocrinología y ginecología) con quienes poder programar, llegado el momento, el proceso de transición (Tabla II)^{2,3,7,8}.

En la configuración de tales equipos, la complejidad de estas patologías, su escasa prevalencia y, por ende, la escasez de especialistas con experiencia en su manejo, sólo algunos centros terciarios nacionales bien seleccionados deberían poder optar a desarrollarse como unidades de referencia (centros, servicios y unidades de referencia - CSUR). Esta selección de centros acreditados no debe implicar una derivación sistemática a ellos de todos los casos desde el primer momento, pero sí garantizar una vía de derivación estructurada dentro de una región o fuera de ésta si fuera oportuno, a la par que un seguimiento consensuado entre los centros implicados que permita una mejor atención del paciente^{3,7}.

Valoración diagnóstica multidisciplinar del paciente con desarrollo sexual diferente

Se han elaborado y propuesto muchos algoritmos diagnósticos que han ido evolucionando en función de las tecnologías que se han ido incorporando, fundamentalmente en los campos de la imagen y la bioquímica, pero sobre todo del diagnóstico molecular, que empieza a ocupar una prueba complementaria de primer orden⁸.

La sospecha de DSD por parte del clínico viene dada por la presencia de los signos clínicos ya bien establecidos antaño. Además de genitales atípicos en la época neonatal, otras manifestaciones clínicas sugerentes de DSD serían, en el caso de genitales de apariencia masculina, el hipospadias familiar, el hipospadias aislado proximal (penoescrotal), el micro-

Tabla II. Miembros de un equipo multidisciplinar y su papel en el cuidado de pacientes con DSD^a.

Neonatólogo o pediatra generalista	<ul style="list-style-type: none"> - Manejo inicial del paciente que presenta genitales atípicos - Iniciación de pruebas de primer nivel y contacto con el endocrinólogo pediatra y/o el equipo multidisciplinar - Dar la información inicial a los padres del paciente
Endocrinólogo pediatra	<ul style="list-style-type: none"> - Manejo inicial o ulterior del paciente con sospecha de DSD - Interpretación de los resultados de pruebas de primer nivel y valoración de pruebas de segundo nivel - Iniciación y monitorización a largo plazo de la terapia hormonal necesaria - Fuente principal de información a los padres - Enlace con el equipo multidisciplinar y decisión sobre la intervención de otros especialistas integrantes en él
Radiólogo pediatra	<ul style="list-style-type: none"> - Realización e interpretación de las imágenes obtenidas y de su fiabilidad, especialmente si éstas pueden influir en la asignación del sexo - Valorar la repetición o realización de pruebas de imagen más complejas para mejorar la fiabilidad de los resultados obtenidos
Urólogo/cirujano pediatra	<ul style="list-style-type: none"> - Evaluación de la anatomía externa - Valoración de ampliación de estudios de imagen o laparoscopia - Explicación de la anatomía y resultados de las imágenes - Explicación de los pros y los contras de la cirugía - Realizar procedimientos de biopsia, cirugía reconstructiva y gonadectomía - Valorar el pronóstico de fertilidad y la posibilidad de guardar tejido congelado - Organizar la participación oportuna y apropiada de otros miembros del equipo multidisciplinar
Enfermera pediátrica	<ul style="list-style-type: none"> - Proporcionar apoyo general al paciente y los padres - Organización y realización de las peticiones realizadas - Entrenamiento de las dilataciones vaginales en la niña adolescente/adulta
Psicólogo clínico/ trabajador social	<ul style="list-style-type: none"> - Proporcionar apoyo a los padres después del nacimiento - Valoración sucesiva de la posible identidad de género del paciente - Guiar al equipo multidisciplinar sobre los tiempos y el ritmo de información dada al paciente (niño mayor y adolescente) sobre su condición
Bioquímico de hormonas	<ul style="list-style-type: none"> - Facilitar el análisis oportuno de las muestras - Interpretación de los resultados hormonales - Orientar sobre la realización de pruebas bioquímicas complementarias - Facilitar el almacenamiento de muestras para su análisis en una etapa posterior
Genetista clínico	<ul style="list-style-type: none"> - Facilitar el análisis oportuno del análisis cromosómico - Mayor implicación en el niño con DSD que asocia rasgos dismórficos - Supervisar el proceso del análisis genético - Facilitar el almacenamiento de muestras para su análisis en una etapa posterior - Asesoramiento genético
Ginecólogo/ obstetra	<ul style="list-style-type: none"> - Manejo de la embarazada con feto sospechoso de DSD (obstetra) - Disponibilidad en etapas tempranas de la pubertad para discutir el pronóstico de la niña con DSD y de posibles terapias médicas y quirúrgicas futuras - Discutir los asuntos relacionados con la función sexual y reproductiva (valoración de la fertilidad) - Seguimiento a largo plazo de la terapia hormonal sustitutiva y de las exploraciones ginecológicas - Supervisar el entrenamiento de las dilataciones vaginales con una enfermera especializada
Endocrinólogo de adultos	<ul style="list-style-type: none"> - Valorar al adolescente por primera vez a partir de los 16 años (inicio de transición) - Enlace con el equipo multidisciplinar y decisión sobre el involucramiento de otros especialistas integrantes en el mismo, una vez iniciada la transición. - Iniciar o continuar y controlar la terapia hormonal sustitutiva a largo plazo
Andrólogo	<ul style="list-style-type: none"> - Valorar el pronóstico de fertilidad en el sexo masculino

DSD: desarrollo sexual diferente. ^a Modificado de Ahmed et al³.

pene, la criptorquidia bilateral, la atrofia testicular, el hipospadias de localización distal (balánico) o medio (peneano) asociado a criptorquidia unilateral; y, en el caso de genitales de apariencia femenina, lo serían la presencia de una masa en región inguinal/labios mayores, la hipertrofia del clitoris y la fusión labial posterior. Posteriormente, pueden ser datos evocadores de un DSD la pubertad retrasada, la virilización durante la pubertad en niñas, la amenorrea primaria o secundaria, la infertilidad y la menopausia precoz^{4,5}.

EVALUACIÓN PRELIMINAR DE UN PACIENTE CON SOSPECHA DE DESARROLLO SEXUAL DIFERENTE

El enfoque inicial de todo paciente con DSD comienza en manos del neonatólogo, el pediatra generalista y/o el endocrinólogo pediatra, seguido de la ayuda del radiólogo, el bioquímico y el genetista clínico^{2,3,8}.

Para los casos de DSD sospechados prenatalmente por parte del obstetra, el abordaje diagnóstico debe implicar fundamentalmente al endocrinólogo pediatra, al radiólogo y al genetista clínico⁹.

1. Papel inicial del pediatra/neonatólogo/endocrinólogo pediatra

Es habitual que el contacto inicial con pacientes pediátricos candidatos a DSD sea con el neonatólogo, en el caso de recién nacidos, o el pediatra generalista en el resto de los casos. El especialista en endocrinología pediátrica será el encargado de supervisar el manejo diagnóstico inicial de estos pacientes, constituirá la fuente principal de información a los padres y servirá de enlace con el equipo multidisciplinar.

En el caso de recién nacidos, la evaluación debe hacerse de manera urgente para descartar situaciones de riesgo vital, como la pérdida salina asociada a la hiperplasia suprarrenal congénita, forma clásica (HSC), en una niña, la insuficiencia suprarrenal por déficit enzimático en un niño, o la crisis suprarrenal derivada de un panhipopituitarismo congénito en un varón. El resto de los grupos etarios no supone riesgo vital y la evaluación inicial puede seguir un proceder diagnóstico inicial algo diferente (por ejemplo, el de pubertad retrasada o amenorrea)³⁻⁵.

En cualquiera de estos casos, la aproximación inicial exige una detallada historia clínica y exploración física, a la par que la petición de pruebas complementarias de primer nivel, a saber, la extracción analítica para la determinación de hormonas, la obtención de cariotipo y de ADN, así como una ecografía abdominopélvica (Tabla IIIA)^{3-5,8,10}.

1.1 Estudio de imagen. Papel del radiólogo pediatra

La ecografía abdominopélvica representa una prueba de gran utilidad en manos expertas. Tiene por objeto establecer la presencia y anatomía del útero, la vagina, el seno urogenital, los ovarios o los testículos (en la bolsa escrotal, el trayecto inguinal o a nivel intraabdominal), y también podrá descartar anomalías renales estructurales y de tamaño de las suprarrenales. No requiere una especial preparación ni tampoco sedación^{4,11,12}.

Otras pruebas de imagen, como la genitografía o la sinuscopia, pueden requerirse en este momento por el cirujano/urólogo pediátrico, si bien su indicación suele ser posterior a los resultados de estas pruebas de primer nivel (véase más adelante)¹¹.

El DSD fetal se puede diagnosticar en el útero mediante ecógrafos de alta resolución, imágenes de resonancia magnética fetal realizadas en sistemas de 1,5 o 3 T, o ambos.

La observación de la micción activa mediante ecografía-Doppler en tiempo real (imágenes ultrasonográficas dinámicas) es fundamental para determinar la posición exacta de la uretra en los casos más difíciles¹².

1.2 Estudio hormonal. Papel del bioquímico

La interpretación de los resultados hormonales obtenidos a partir de la extracción analítica corre a cargo del endocrinólogo pediatra y sólo se requerirá la ayuda del bioquímico especialista en hormonas cuando sus valores sean difíciles de interpretar. Con el objetivo de valorar adecuadamente tales resultados, existen una serie de premisas que hay que tener en cuenta⁸:

- La extracción analítica debería realizarse a partir de las 48 horas de vida y a primera hora de la mañana (08:00-09:00 horas).

- Podemos diferenciar dos grandes grupos de hormonas, las esteroideas y las peptídicas:

- En la determinación de hormonas esteroideas en la sangre y la orina (Fig. 3), aunque las técnicas de inmunoensayo a través de kits comerciales sean válidas en la práctica habitual, las sociedades científicas internacionales recomiendan la utilización de métodos basados en la espectrometría de masas combinada con cromatografía líquida o cromatografía

Tabla IIIA. Valoración diagnóstica de un paciente con sospecha de DSD.

A. Evaluación inicial	
Historia clínica	<ul style="list-style-type: none"> • Existencia de consanguinidad y etnia familiar • Antecedentes con ADS/DSD, hipospadias, infertilidad, amenorrea, menopausia precoz, pérdida salina o muertes infantiles inexplicadas • <i>Historia obstétrica de la madre</i>: posible exposición prenatal a andrógenos (progesterona, danazol o testosterona), esteroides, antiandrógenos (orales o tópicos, incluso en el padre) o a otros fármacos (fenitoína). Técnicas de reproducción asistida. Virilización progresiva durante el embarazo (déficit de aromatasa placentaria o tumores secretores de andrógenos) • Historia de prematuridad y/o retraso de crecimiento intrauterino
Exploración física	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Descartar alteraciones menores</i> de significación no patológica: capuchón clitorídeo o de labios agrandados por edema en niñas, y pseudomicropene por acúmulo de almohadilla de grasa suprapúbica en niños • <i>Valorar la presencia de hallazgos sospechosos de síndrome pierde-sal</i> (deshidratación, somnolencia, hipotonía, hipotensión e hiperpigmentación de genitales), cuadro sindrómico (anomalías congénitas y/o rasgos dismórficos) y panhipopituitarismo (ictericia e hipoglucemia junto con micropene y/o criptorquidia) • <i>Examen minucioso de los genitales externos</i>: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Intentar palpar las gónadas</i>: desde el abdomen, siguiendo por el trayecto inguinal, hasta el periné (localización, tamaño, forma y consistencia) - <i>Estructura fálica</i>: tamaño del pene/clítoris (forma, anchura y longitud: medir por la parte dorsal) - <i>Tratar de identificar la desembocadura de la uretra y el ano</i>: presencia de seno urogenital común (ausencia de la separación entre la apertura vaginal y uretral). Presencia de hipospadias (balánico, peneano o penoescrotal) - <i>Grado de pigmentación, rugosidad y fusión posterior de los pliegues labioescrotales</i> (aumento de la distancia anogenital) - Presencia de asimetría en los genitales externos (típica de disgenesia gonadal mixta y del DSD ovotesticular) • Establecer grado de ambigüedad genital: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Grado de virilización de los genitales externos femeninos</i>. Puede evaluarse mediante la clasificación de Prader (grados 1 a 5; Fig. 1) - <i>Grado de inframasculinización de los genitales externos masculinos</i>. Se evalúa mediante un sistema de puntuación del grado de masculinización externa (rango de 0-12; Fig. 2) - Aunque éstas son las escalas más utilizadas hasta la fecha, recientemente se ha propuesto una modificación de esta última hacia una escala categórica común (neutral en cuanto al género), más refinada y que tiene en cuenta la edad gestacional del recién nacido²⁴
Pruebas complementarias	<p>1. Extracción de analítica sanguínea a partir de las 48 horas de vida y a primera hora de la mañana (08:00-09:00 horas):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cariotipo • Extracción de ADN (array-CGH y/o reserva para estudio posterior [véase B]) • Estudio hormonal: <ul style="list-style-type: none"> - 17-hidroxiprogesterona, a la par que la medición de electrolitos y glucemia séricos - DHEA, androstenediona, progesterona y, si es factible, 17-hidroxipregnenolona y 11-desoxicortisol - Testosterona, estradiol, FSH y LH. Puede ser conveniente una segunda muestra a partir de los 15 días de vida para confirmar los valores de testosterona y gonadotropinas en el grupo de pacientes 46,XY (minipubertad) - Cortisol y ACTH basales. - Hormona antimulleriana e inhibina B. <p>2. Ecografía abdominopélvica</p>

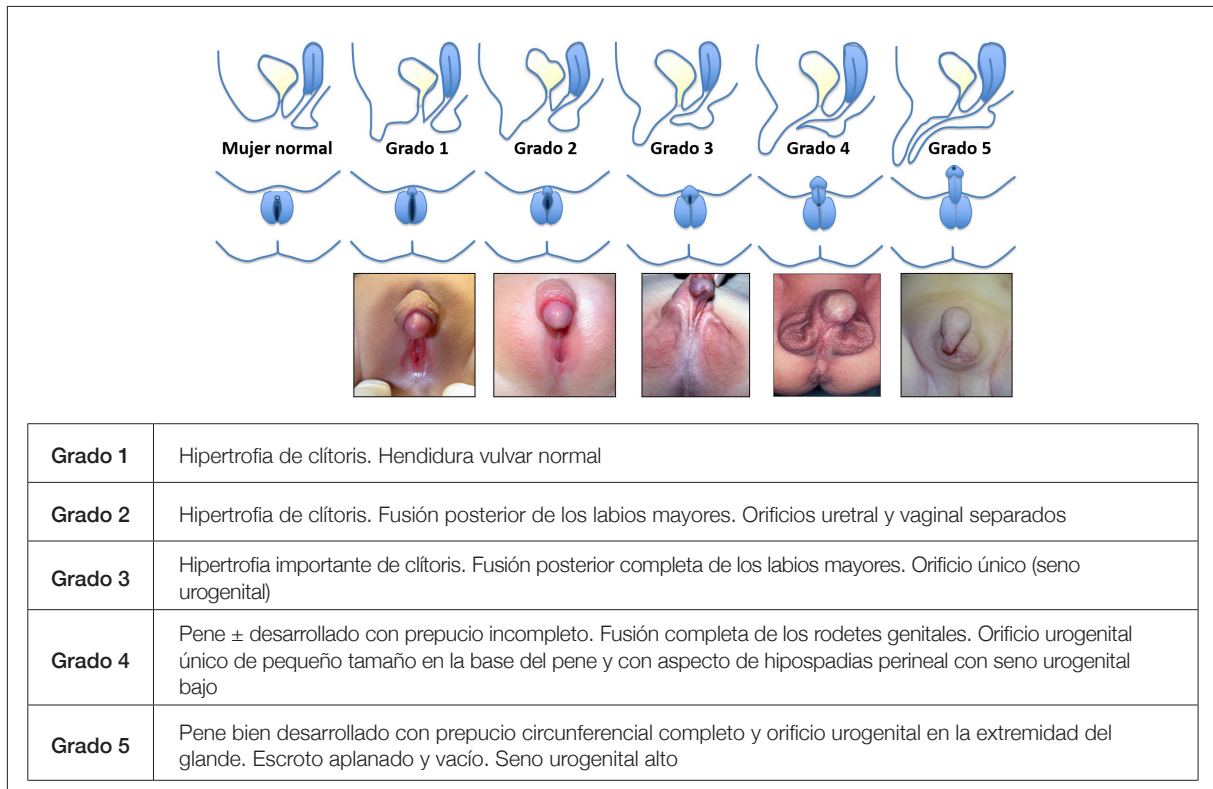


Figura 1. Grado de virilización de genitales externos femeninos mediante la escala de Prader en niñas con hiperplasia suprarrenal congénita. Estadio 1: mínima virilización, a estadio 5: virilización completa. (Fotografías por cortesía del Dr. J.A. Tovar).

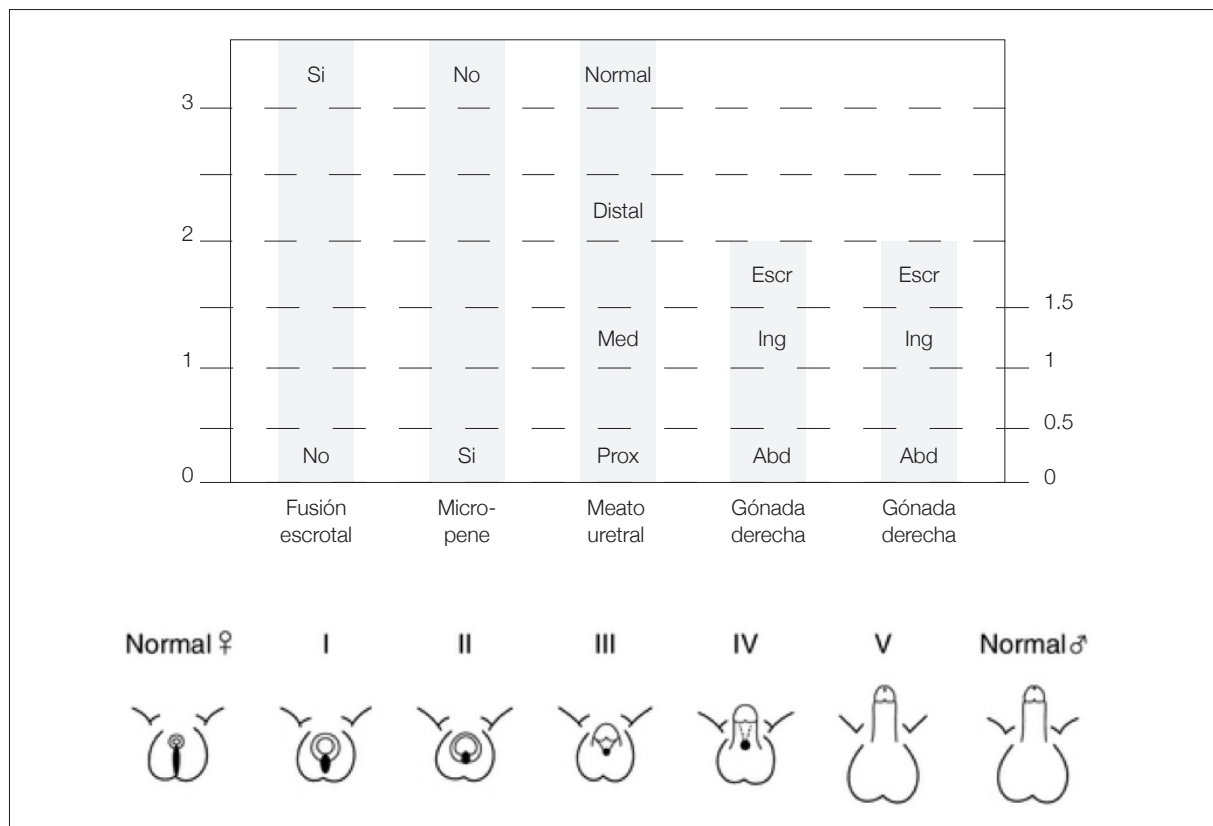


Figura 2. Puntuación del grado de masculinización de los genitales externos masculinos (46,XY) mediante el sistema *External Masculinization Score*, propuesto por Ahmed SF, Khwaja O, Hughes IA²⁵. Rango de 0 a 12 (0: escasamente masculinizado y 12: completamente masculinizado).

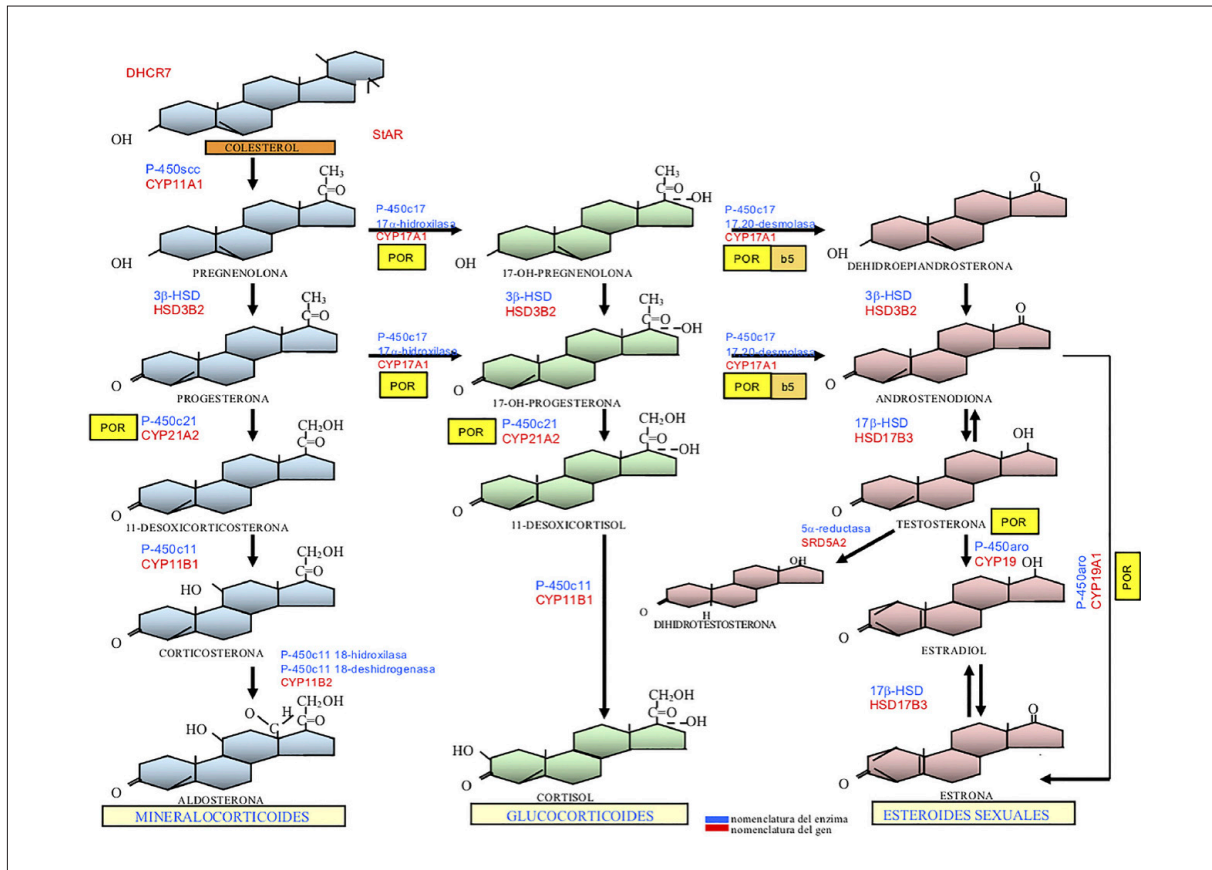


Figura 3. Esteroidogénesis suprarrenal y gonadal.

Desde el colesterol, la biosíntesis progresa en la glándula suprarrenal hasta el cortisol (vía de los glucocorticoides) y hasta la aldosterona (vía de los mineralocorticoides). En las gónadas, los precursores progresan hacia los esteroides sexuales: testosterona como principal andrógeno y estradiol como principal estrógeno. La testosterona se transforma periféricamente en dihidrotestosterona como andrógeno más potente.

En azul: abreviación de las enzimas; en rojo: abreviación de los genes que codifican cada enzima; cuadro amarillo: coenzima POR (P450-oxidorreductasa); cuadro beige: citocromo b5.

3-β-HSD: 3-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 2 (gen *HSD3B2*); 5-α-reductasa de tipo 2 (gen *SRD5A2*); 17-β-HSD: 17-hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 3 o 17-cetorreductasa (gen *HSD17B3*); *DHCR7*: gen *DHCR7* (7-α-deshidrocolesterol reductasa); *P-450aro*: aromatasa (gen *CYP19A1*); *P-450c11*: 11β-hidroxiolasa de tipo 1 (gen *CYP11B1*); *P-450c11*: 18-deshidrogenasa (corticosterona metil-oxidasa tipo II [CMO-II]) (gen *CYP11B2*); *P-450c11*: 18-hidroxiolasa (corticosterona metil-oxidasa de tipo I [CMO-I]); *P-450c17*: 17α-hidroxiolasa/17,20-desmolasa o liasa (gen *CYP17A1*); *P-450c21*: 21-hidroxiolasa (gen *CYP21A2*); *P-450scc*: *P-450 side-chain cleavage*: colesterol-desmolasa (gen *CYP11A1*); *StAR*: steroid acute regulatory protein (gen *StAR*).

fía de gases, fundamentalmente en neonatos. Además, es muy importante que el laboratorio trabaje según estándares de calidad y disponga de intervalos de referencia específicos para edad y sexo.

- La 17-hidroxiprogesterona, a la par que la medición de electrolitos y glucemia séricos, constituye una determinación esencial en todo recién nacido con criptorquidia bilateral o con genitales atípicos, al objeto de descartar la causa más frecuente de DSD 46,XX: la HSC por déficit de 21-hidroxiolasa. Es importante tener valores de referencia estratificados por edad gestacional, no sólo

por días o semanas de vida, ya que en el prematuro las concentraciones de esta hormona son mucho más elevadas, y son causa de diagnósticos falsamente positivos.

- La medición de hormonas proteicas se realiza fundamentalmente por inmunoensayos no competitivos que tienen gran sensibilidad, pero cuya especificidad no siempre es conocida. La falta de métodos de referencia y las diferencias en la estandarización se traducen en una falta de comparabilidad entre ensayos, haciendo indispensable disponer de valores de referencia específicos para los diferentes grupos de edad y sexo en función del ensayo.

- La medición de las concentraciones basales plasmáticas de gonadotropinas (también de los esteroides sexuales, como la testosterona y sus precursores), en pacientes con DSD 46,XY, resulta de interés durante el período de minipubertad, esto es, antes de las 36 horas de vida, y entre los 15 y los 90 días de vida (tiempo ampliable hasta los 6 meses de edad durante el cual hay descenso en los niveles de estas hormonas para luego ser indetectables). Por tanto, puede ser conveniente una segunda muestra a partir de los 15 días de vida para confirmar los valores de testosterona y gonadotropinas en el grupo de pacientes 46,XY.
- Hormona antimulleriana e inhibina B. La determinación de las concentraciones séricas de hormona antimulleriana y/o de inhibina B permite valorar la función de las células de Sertoli. La hormona antimulleriana, al secretarse exclusivamente por éstas, constituye un buen marcador de disfunción testicular primaria (reducida en la disgenesia gonadal, no así en el déficit aislado de la síntesis o acción de los andrógenos) y, dado que sus niveles son inversamente proporcionales a los de la testosterona (disminuyen en la pubertad), tiene gran valor en la prepubertad. La inhibina B no es exclusiva de la célula de Sertoli, pero tiene también valor como marcador de función testicular.
- Dado que en algunos casos la medición de hormonas basales no es suficientemente informativa, puede ser necesario realizar test de estimulación para poner en evidencia déficits de secreción, de origen enzimático o no. Éstos constituirían estudios complementarios de segundo nivel que se comentarán más adelante.

1.3 Cariotipo y extracción de ADN. Papel del genetista clínico

La labor del genetista clínico se reduce, en este primer nivel de pruebas complementarias, a los casos de genitales atípicos que asocian anomalías a otros niveles, o a aquellos otros donde se necesita un resultado rápido del cariotipo (sospecha de HSC). También resulta fundamental su participación en los casos de DSD de detección prenatal, donde el diagnóstico del sexo cromosómico fetal y la realización de estudios moleculares a través del ADN fetal libre de células plasmáticas en la sangre materna sería posible a partir de las ocho semanas de gestación. Esta técnica puede acabar sustituyendo a los procedimientos diagnósticos invasivos, como la amniocentesis o la cordocentesis, y en los que el riesgo de aborto espontáneo y otras

complicaciones puede desanimar a muchas parejas a buscar un diagnóstico prenatal^{9,13}.

a. Cariotipo. El cariotipo en sangre resulta imprescindible para incluir al paciente en uno de los tres grandes apartados de la clasificación de DSD según el resultado de los cromosomas sexuales (Tabla I). La técnica clásica es la de citogenética, aunque recientemente se están utilizando técnicas de hibridación de alta resolución (array-hibridación genómica comparada) que permitirían la detección de variaciones en el número de copias (deleciones, duplicaciones, traslocaciones) tanto en autosomas como en cromosomas sexuales; esto es especialmente importante cuando, como acaba de referirse, el fenotipo incluye otras anomalías adicionales al DSD, y en los casos que requieren un resultado rápido del cariotipo (sospecha de HSC). Por último, también es posible la detección de los centrómeros de los cromosomas X e Y, así como del gen *SRY* mediante hibridación *in situ* fluorescente o reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa^{8,10}.

b. Extracción de ADN. Debe reservarse el ADN por si se requiriera ampliar el estudio molecular más adelante. Si así fuera, existen dos tipos de técnicas cuya aplicación quedará supeditada al tipo de alteración génica que se desee buscar, esto es, a la sospecha diagnóstica que se tenga, y el genetista clínico decidiría la más adecuada^{8,10,14}:

- Buscar *cambios puntuales en genes candidatos* a través de la técnica clásica de secuenciación de tipo Sanger (un solo gen) o utilizando técnicas de secuenciación masiva (secuenciación de nueva generación) (varios genes), como el uso de paneles dirigidos o la secuenciación del exoma completo (o del genoma completo). Es importante reseñar que la evolución tecnológica y económica va permitiendo realizar la secuenciación del exoma completo como primer abordaje, sobre todo cuando no existe ningún gen candidato o en los casos sin diagnóstico a través de las técnicas anteriores. La ventaja de la realización de una secuenciación del exoma completo es que el resultado siempre se puede revisar a posteriori, buscando genes candidatos nuevos. La secuenciación del genoma completo quedaría reservada al marco de los protocolos de investigación.
- Detectar *alteraciones en la cantidad génica* (formas de DSD debidas a alteraciones en el número de copias de algunos genes, como DAX1 o SOX9), mediante amplificación de sondas tras ligación múltiple o array-hibridación genómica comparada.

2. Pruebas complementarias de segundo nivel a partir del resultado del cariotipo periférico (Tabla IIIB)

Al diagnóstico etiológico definitivo de la entidad de DSD se llega en este punto cuando se encuentran alteraciones en el par 23 del cariotipo periférico (grupo 1 de la clasificación; Tabla I); el diagnóstico etiológico de la entidad DSD correspondiente a los grupos 46,XX y 46,XY requiere, sin embargo, pruebas dirigidas (Tabla IIIB), que se comentarán en los apartados correspondientes, y donde el diagnóstico molecular empieza a cobrar una importancia capital. En esta parcela del diagnóstico, también debe valorarse la funcionalidad endocrina del eje gonadótropo que puede haber sido el origen del fenotipo genital del paciente con DSD y que podría predecir la evolución posterior en términos de pubertad y fertilidad. El endocrinólogo pediatra, con ayuda del bioquímico, por un lado, y el genetista, por el otro, representaría la figura principal en este cometido^{3,8,14}.

Para el diagnóstico anatómico, el cirujano/urólogo pediátrico puede decidir realizar procedimientos que le permitan explorar el abdomen y los genitales internos para conocer con claridad las anomalías presentes, información imprescindible en caso de plantearse la cirugía genital (Tabla IIIB):

a. Gónadas y estructuras mullerianas:

- Si la imagen de la ecografía abdominopélvica no resulta concluyente en la localización de las gónadas o en detectar la presencia de estructuras mullerianas, el radiólogo pediatra puede decidir la repetición de la prueba en mejores condiciones, indicar la realización de una resonancia magnética (generalmente en niños más mayores) o plantear, con el cirujano/urólogo pediatra y mediante consenso multidisciplinar, la laparoscopia^{11,15}.
- Este último procedimiento suele plantearse, además, conocida o no la localización de las gónadas, para tomarles biopsia (véase más adelante) e incluso extirparlas si fuera preciso; también nos dará información sobre la presencia y el aspecto de las estructuras mullerianas¹⁶.

b. Estudio de la anatomía urogenital:

- El genitograma ha sido una prueba radiológica imprescindible para estudiar la anatomía del seno urogenital y determinar el punto de confluencia de la uretra o de la vagina. Esta prueba nos permite medir la longitud de la

uretra y del seno urogenital, datos determinantes a la hora de elegir la técnica quirúrgica¹⁷.

- De mayor utilidad, hoy en día, es el examen endoscópico, esto es, la *sinuscopia*. Permite examinar, bajo visión directa, la anatomía del seno urogenital. De esta exploración debemos obtener la siguiente información: descripción de la vejiga y la uretra, localización de la confluencia vaginal, número de vaginas y de cérvix, y longitud del canal común y de la uretra (distancia entre el cuello vesical y la confluencia con la vagina)^{16,17}.

En último lugar, nos queda determinar la necesidad de un diagnóstico histopatológico, esto es, la realización de una biopsia gonadal, decisión que debe tomarse de manera multidisciplinar, y con ayuda del patólogo, para clasificar la gónada con fines diagnósticos (¿es una disgenesia gonadal?, ¿el resultado sugiere alguna otra etiología probable?) y/o determinar el riesgo de lesión precursora de tumor de células germinales. Debería decidirse ésta si se cumplen los siguientes criterios^{3,4}:

- I. En DSD 46,XY sin diagnóstico o que no se puede confirmar, o cuando existe sospecha clínica o genética de disgenesia gonadal.
- II. En DSD 46,XY/46,XX y 46XY/45X0, para clasificar la gónada (tipo) y establecer el riesgo de tumor de células germinales.
- III. En los DSD 46,XX rara vez se plantea la biopsia gonadal, salvo que se sospeche hiperandrogenismo de origen gonadal.

Abordar cada una de estas áreas diagnósticas en un paciente con DSD constituye un proceso cuyos pasos se van decidiendo paralelamente y de manera consensuada entre los miembros del equipo multidisciplinar y con un coordinador que, generalmente, será el endocrinólogo pediatra. En tal cometido, lo que sigue resume este proceso en función del grupo nosológico principal al que pertenezca el paciente tras el resultado del cariotipo periférico.

2.1 Desarrollo sexual diferente por alteración del sexo cromosómico

El diagnóstico etiológico viene dado por la alteración de los cromosomas sexuales, sin olvidar que también debe incluirse una evaluación de la función gonadal que defina la situación hormonal durante la minipubertad (en el fenotipo varón durante los primeros 6 meses de edad) y la pubertad, así como de la futura fertilidad.

Tabla IIIB.

B. Evaluación ulterior. pruebas complementarias de segundo nivel	
	<p>1. Diagnóstico etiológico:</p> <p>a. Genética molecular:</p> <p style="padding-left: 20px;">I. Detección de cambios puntuales (secuenciación):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Secuenciación clásica de Sanger. • Secuenciación masiva (NGS): paneles → EXOMA → GENOMA <p style="padding-left: 20px;">II. Detección de cambios en la cantidad génica: MLPA y/o array-CGH</p> <p>b. Segunda determinación hormonal:</p> <p style="padding-left: 20px;">I. Determinación basal de gonadotropinas y testosterona en el paciente 46,XY o con ovoteste a partir de los 15 días de vida, no más allá de los 5-6 meses (minipubertad)</p> <p style="padding-left: 20px;">II. Tests de estímulo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • De HCG (determinación basal, y tras estímulo, de testosterona, DHEA, androstenediona, progesterona y dihidrotestosterona) • De ACTH (determinación basal, y tras estímulo, de 17-hidroxiprogesterona, 17-hidroxipregnenolona y progesterona) • De LHRH (determinación basal, y tras estímulo, de FSH y LH para la detección de pubertad) <p>2. Diagnóstico anatómico:</p> <p>a. Detección de gónadas y para mejorar definición de estructuras mullerianas:</p> <p style="padding-left: 20px;">I. Resonancia magnética abdominopélvica</p> <p style="padding-left: 20px;">II. Laparoscopia, si se valora biopsia gonadal</p> <p>b. Estudio de la anatomía urogenital:</p> <p style="padding-left: 20px;">I. Genitograma</p> <p style="padding-left: 20px;">II. Sinuscopia</p> <p>3. Diagnóstico histológico (laparoscopia) → Biopsia</p> <p style="padding-left: 20px;">a. Para clasificar gónadas</p> <p style="padding-left: 20px;">b. Para detectar lesiones precursoras de tumor de células germinales y tumores de células germinales</p>

ACTH: hormona adrenocorticotrófica; ADS: anomalías de la diferenciación sexual; CGH: hibridación genómica comparada; DHEA: dehidroepiandrosterona; DSD: desarrollo sexual diferente; FSH: hormona estimulante del folículo; HCG: gonadotropina coriónica humana; LH: hormona luteinizante; LHRH: hormona liberadora de hormona luteinizante; MLPA: amplificación de sondas tras ligación múltiple; NGS: secuenciación de nueva generación. a Si bien el término 'ambigüedad genital' parece el más apropiado en recién nacidos donde el aspecto de los genitales impide aclarar su sexo, en muchos DSD éstos no son realmente ambiguos, sino sencillamente 'atípicos', de ahí que se recomiende emplear esta etiqueta de 'atípico' en lugar de 'ambiguo'.

- Las causas más frecuentes de DSD en este grupo son el *síndrome de Turner* (45,X0 y sus variantes) y el *síndrome de Klinefelter* (47,XXY y sus variantes). Ninguno de ellos, salvo el *síndrome de Turner* con restos de cromosoma Y, presenta genitales atípicos. El *síndrome de Klinefelter* puede presentarse en el período neonatal como micropene y/o criptorquidia, en la pubertad como retraso puberal, ginecomastia o pubertad lentamente progresiva (siempre con marcada disminución del volumen testicular en relación con el estadio puberal de Tanner), y en la etapa adulta, como infertilidad. Los estudios complementarios de segundo nivel y el seguimiento ulterior están sujetos, en cada entidad, a las guías de consenso correspondientes, y en ellos, en términos generales, el endocrinólogo pediatra suele ser, dentro del equipo multidisciplinar, el especialista más relevante^{4,18,19}. Los diagnósticos anatómico e histopatológico no suelen ser necesarios, salvo en el *síndrome de Turner* con restos de cromosoma Y.

Entre los DSD con alteración de los cromosomas sexuales que pueden dar lugar a genitales atípicos cabría destacar:

- *Mosaicismo 45,X0/46,XY*: el fenotipo puede ser muy variable: femenino, atípico o masculino, según el grado de mosaicismo. Las gónadas pueden ser testículos normales, testículos disgenéticos, gónadas en cintilla o, excepcionalmente, ovotestes (DSD ovotesticular). Cuando en un lado está presente un testículo más o menos disgenético y en el otro lado una cintilla, esta entidad suele denominarse *disgenesia gonadal mixta o asimétrica*. Los genitales internos suelen ser coherentes con la funcionalidad de la gónada homolateral y existe un alto riesgo de desarrollo de lesión preneoplásica de tumor de células germinales en las gónadas disgenéticas⁴.
- *Mosaicismo 46,XX/46,XY*: causa de alrededor del 33% de los casos de DSD ovotesticular. Suele ser necesario un estudio de la función go-

nadal en la minipubertad y, posteriormente, en la pubertad⁴.

El diagnóstico anatómico en ambos casos suele ser necesario, fundamentalmente si los genitales son atípicos, mientras que el histopatológico depende del riesgo de tumor de células germinales inherente a cada uno de ellos: en el mosaicismo 45,X0/46,XY existe un alto riesgo de desarrollo de lesión preneoplásica en las gónadas disgenéticas, por lo que suele ser necesario un estudio de la función gonadal en minipubertad y la realización de laparoscopia con biopsia gonadal para decidir, según la presencia de marcadores de riesgo de tumor de células germinales, gonadectomía precoz o no; para el segundo, el mosaicismo 46,XX/46,XY, suele ser necesario un estudio de la función gonadal en la minipubertad y posteriormente en la pubertad, momento a partir del cual, o tras finalizar ésta, dado que el riesgo de tumor de células germinales es bajo o muy bajo, podría plantearse la gonadectomía en función de la asignación de género²⁰.

2.2 Desarrollo sexual diferente 46,XX

El exceso androgénico de este grupo que determina la virilización en la niña (subgrupos 1.º y 2.º del grupo B de la Tabla I) puede tener un origen fetal (suprarrenal o gonadal), materno, placentario o exógeno. El subgrupo malformativo (subgrupo 3.º) no responde a esta causa hormonal.

El diagnóstico etiológico de la entidad DSD 46,XX correspondiente comienza con la interpretación de los niveles séricos de 17-hidroxiprogesterona, cuya elevación sería constitutiva de la causa más frecuente, con mucho, de este grupo: la HSC (Fig. 4)^{4,5,8}.

- El déficit de *21-hidroxilasa* representa más del 90% de las HSC. En un 70% de los casos asocia deficiencia de mineralocorticoides a partir de la primera semana de vida (síndrome pierde sal), situación que compromete la vida del recién nacido. Cursa con marcada elevación de 17-hidroxiprogesterona, pero requiere diagnóstico diferencial con otras formas de HSC mucho menos frecuentes que cursan también con tal elevación y genitales atípicos, así como con prematuros normales. Tales casos requieren la interpretación de otros precursores de la esteroidogénesis suprarrenal, como el 21-desoxicortisol, exclusivo del déficit de la 21-hidroxilasa y que tampoco se eleva en prematuros. El diagnóstico molecular deberá confirmar la presencia de alteraciones en el gen *CYP21A2* en homocigosis o heterocigosis compuesta.
- *Déficit de 11-β-hidroxilasa*: genitales atípicos, tendencia a la hipertensión arterial con reni-

na suprimida y ausencia de síndrome pierde sal, con elevación de 11-desoxicortisol y 11-desoxicorticosterona (tiene efecto mineralocorticoide).

- *Déficit de 3-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 2*: virilización mínima (clitoromegalia) o nula, donde también se eleva la 17-hidroxipregnenolona, basalmente o tras estimulación con hormona adrenocorticotropa. Cursa con síndrome pierde sal.
- *Déficit de P450 oxidorreductasa (POR)*: espectro fenotípico variado (desde genitales atípicos a femeninos normales) con posible deficiencia glucocorticoide y, en ocasiones, anomalías esqueléticas; elevación de la 17-hidroxiprogesterona, la testosterona, la progesterona y la corticosterona.

Todas estas formas de HSC pueden diferenciarse entre sí por los resultados de los precursores mencionados de la vía de la esteroidogénesis suprarrenal, si bien la confirmación vendrá dada por el estudio molecular, donde se requieren técnicas de secuenciación. El diagnóstico anatómico es preciso en todas ellas, pero no el histopatológico, al resultar excepcional el riesgo de malignización de la gónada^{4,20}.

La resistencia a los glucocorticoides es una causa muy infrecuente de virilización del feto femenino que cursa con elevación de hormona adrenocorticotropa e hipersecreción de cortisol, sin evidencia clínica de hipercortisolismo, pero con manifestaciones clínicas de exceso de andrógenos y mineralocorticoides. Se debe a cambios en *NR3C1*.

Una vez descartadas las distintas formas de HSC y la rara resistencia a los glucocorticoides, si no ha existido *ingesta de medicamentos androgénicos* y no se ha producido virilización materna durante la gestación (*déficit de aromatas placentario, déficit de POR o tumores maternos/fetales virilizantes*), se valorará, como tercera posibilidad, la posible presencia de tejido testicular o gónada disgenética mediante la realización de biopsia gonadal, seguido de estudio molecular (véase en detalle tales pruebas más adelante, en el último grupo de DSD 46,XY)^{4,5,8,21}:

- *Disgenesia gonadal 46,XX (parcial o completa)*: fenotipo femenino, tanto externo como interno. El diagnóstico suele hacerse en la época puberal (ausencia de pubertad, pubertad retrasada/detenida o amenorrea) y cursa con elevación de gonadotropinas y con niveles indetectables de estradiol y AMH. Sería de utilidad el diagnóstico molecular (cambios inactivadores en *BMP15*, *ESR2*, *FOXL2*, *MYRF*, *NR5A1*, *NUP107*, *SOX8*, etc.).

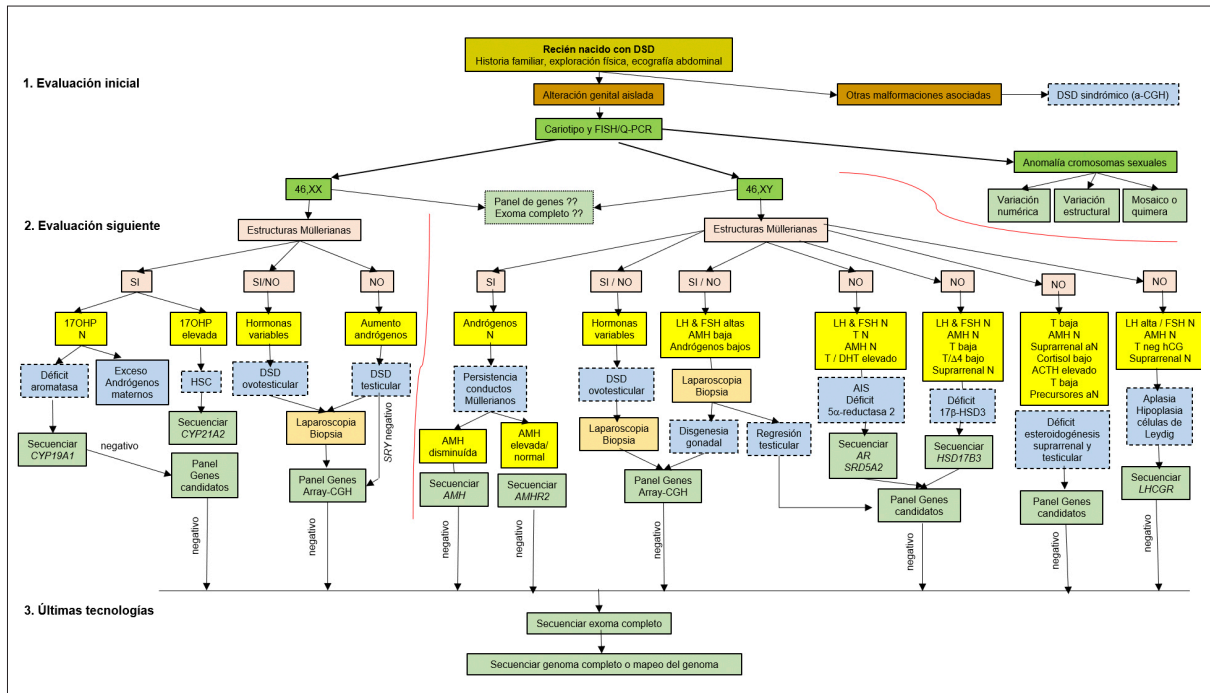


Figura 4. Algoritmo diagnóstico en DSD.

Algoritmo diagnóstico en un recién nacido o lactante que presente un DSD por detectarse alguna discordancia entre los niveles de diferenciación sexual femeninos o masculinos (sexos genético y genital).

17OH-P: 17-hidroxiprogesterona; ACTH: hormona adrenocorticotrófica; AIS: síndrome de insensibilidad a los andrógenos; AMH: hormona anti-Mülleriana; $\Delta 4$: androstendiona; DHT: dihidrotestosterona; DSD: desarrollo sexual diferente; FSH: hormona estimulante del folículo; HSC: hiperplasia suprarrenal congénita; LH: hormona luteinizante; N: normal; T: testosterona; T neg HCG: falta de respuesta de T al test de gonadotropina coriónica humana.

Obtenido con el consentimiento de Granada M y Audí L, 2021¹⁰.

- DSD 46,XX ovotesticular: requiere para su diagnóstico la presencia simultánea de tejido ovárico (conteniendo folículos) y testicular funcional, bien en la misma gónada (ovoteste) o en opuestas.

En términos generales, el 60% de los pacientes con ovotestes muestra un cariotipo 46,XX (entidad en cuestión); un 7%, un cariotipo 46,XY (DSD 46,XY ovotesticular, mencionado más adelante); y un 33%, un cariotipo 46,XX/46,XY (DSD ovotesticular por alteración del sexo cromosómico, referido anteriormente). En el caso de los pacientes con cariotipo 46,XX, no suele encontrarse causa genética; un 10-15% responde a una translocación de SRY al X o a un autosoma y, de forma ocasional, a alteraciones moleculares a otros niveles, como la duplicación en *SOX9*, *FGF9* o *SOX3*, o cambios puntuales en *RSP01*, *SOX10*, *NR2F2*, *NR5A1*, *WNT4* y *WT1*. Las manifestaciones clínicas son muy variables, con genitales externos aparentemente masculinos, femeninos o atípicos. Aproximadamente en la mitad de los casos se observa una hernia inguinal que contiene una gónada o el útero. La vagina y el útero están presentes en la mayoría

de los casos. A nivel bioquímico, los hallazgos hormonales en el recién nacido y el lactante pequeño serían similares a los del sexo masculino 46,XY (hormona estimulante del folículo, hormona luteinizante y testosterona detectables); durante la infancia deberá evaluarse esta elevación de la testosterona con el test de gonadotropina coriónica humana, mientras que en la pubertad es habitual una elevación insuficiente de la testosterona con hipergonadotropismo.

- DSD 46,XX testicular: sólo un 15% tiene hipospadias o genitales atípicos; el resto son varones fenotípicamente normales. En el 80% de los casos, la causa es la translocación de SRY desde el cromosoma Y paterno al X materno (SRY+). En el resto de los casos pueden describirse las propias alteraciones moleculares del 46,XX ovotesticular anteriormente descrito. El patrón bioquímico es también similar.

Para terminar con este gran grupo de los DSD, el diagnóstico anatómico es necesario en los que cursan con alteración del fenotipo genital externo. Por otro lado, descartada la HSC, suele ser útil la biopsia con fines exclusivamente diagnósticos; el

riesgo de malignización de la gónada es bajo o muy bajo, pero va a depender, en los casos de tejido gonadal masculino presente, de la detección molecular de TSPY^{4,20}.

2.3. Desarrollo sexual diferente 46,XY

Representa el grupo más complejo desde el punto de vista del diagnóstico etiológico, y se requieren diferentes pruebas complementarias que se deben realizar en función de resultados previos (hormonas e imagen). Con ellos, puede llegarse a una sospecha de una o varias entidades dentro de los subgrupos del grupo C de la tabla I, y se va sugiriendo que el estudio molecular mediante secuenciación de nueva generación (paneles y, en última instancia, exoma o genoma) podría relegar el uso de otras pruebas, como los test dinámicos y la biopsia^{4,22}. Y, aunque todavía sigue vigente el uso de los test mientras llega el resultado del estudio molecular, estas nuevas propuestas indican su empleo a posteriori, esto es, tras un resultado genético sospechoso (VUS o probablemente patogénico) o confirmatorio (patogénico) para evaluar la verdadera funcionalidad testicular²³. Téngase en cuenta, no obstante, que un 50% de los pacientes DSD 46,XY no tendrá un diagnóstico de confirmación molecular hoy en día¹⁴.

El plan que se describe a continuación sigue, no obstante, la secuencia diagnóstica habitual (Fig. 4):

- Test de estímulo:
 - Cuando el grado de masculinización genital es insuficiente y los niveles basales de hormona adrenocorticotropa son normales, debe sospecharse un defecto en la producción o en la acción de testosterona y/o dihidrotestosterona, bien sea por una disgenesia testicular, un defecto enzimático a nivel de la esteroidogénesis gonadal o una resistencia a los andrógenos. En estos casos estaría indicado el test de gonadotropina coriónica humana, si bien esta prueba podría obviarse durante el período de minipubertad del varón (primeros 6 meses de edad).

Sus resultados deben valorarse con cautela, ya que las determinaciones de esteroides en el suero por inmunoensayos automatizados utilizados en los laboratorios convencionales carecen de la especificidad necesaria. Valora la respuesta de la testosterona a la gonadotropina coriónica humana (equivalente a la hormona luteinizante) y, por tanto, la presencia de células de Leydig funcionantes; también es útil para valorar un bloqueo en la síntesis de testosterona a partir de su precursor, la androstenediona, o la conversión de testosterona en dihidrotestosterona. Existen varias pautas: en

la más habitual, se administran tres dosis durante tres días consecutivos (1.000-1.500 UI/dosis) con determinación, en la analítica basal y al cuarto día, de testosterona, dehidroepiandrostenediona, androstenediona, progesterona y dihidrotestosterona; otra opción menos invasiva que no ha mostrado diferencias significativas con respecto a la pauta de tres días consiste en la administración única de 100 UI/kg (dosis máxima de 5.000 UI; alternativa, 5.000 UI/m²) con determinación analítica basal y a las 72 o 96 horas de la inyección de los mismos parámetros^{4,10}. Interpretación:

- Respuesta normal: incremento de valores de testosterona sobre el valor inicial de > 1 ng/mL en la infancia y un incremento de 2-3 veces en la adolescencia. El cociente testosterona/dihidrotestosterona debe ser < 8,5 (basal) y < 10 (postestímulo).

- Respuestas anormales:

- Una respuesta normal con valores del cociente testosterona/dihidrotestosterona tras el test de estímulo > 10 es orientativa de insensibilidad a los andrógenos (cociente entre 10 y 20) y déficit de 5- α -reductasa de tipo 2 (cociente > 20).

- Una respuesta anormal (baja) requiere el cálculo del índice testosterona/androstenediona:

- Si es > 1, pueden sospecharse varios diagnósticos, desde una disgenesia gonadal hasta una aplasia-hipoplasia de células de Leydig o un déficit enzimático previo a la androstenediona.

- Si es < 1, debe sospecharse un déficit de 17- β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa de tipo 3.

- Cuando el grado de masculinización genital es insuficiente y los niveles basales de hormona adrenocorticotropa plasmática son elevados, el déficit de testosterona, se haya realizado o no previamente el estímulo con gonadotropina coriónica humana, puede ser la consecuencia de un bloqueo enzimático de la esteroidogénesis mixta, esto es, suprarrenal y testicular. El test de estimulación con hormona adrenocorticotropa (250 μ g/m²) ayudará a establecer el diagnóstico mediante la determinación basal, y tras estímulo, de 17-hidroxiprogesterona, 17-hidroxipregnenolona y progesterona^{4,10}. Interpretación:

- Si la respuesta de cortisol es normal (≥ 18 -20 μ g/dL), debe pensarse

se en disgenesia gonadal, hipoplasia de células de Leydig, déficit de 17- β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa de tipo 3 y déficit aislado de 17,20 liasa.

- Si la respuesta de cortisol es baja, las posibilidades son:
- Hiperplasia suprarrenal congénita –déficit de STAR (HSC lipoidea), P450scc, 3- β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa de tipo 2, citocromo P450 oxidoreductasa o 17- α -hidroxilasa/17,20 liasa–
- Alteración en la síntesis del colesterol –síndrome de Smith-Lemli-Opitz (DHCR7) o desmosterolosis (DHCR24)–

Realizados alguno de estos test, se puede lograr acotar el diagnóstico diferencial^{4,10,20}:

I. Cuando la respuesta de la testosterona es escasa/nula al estímulo, son varias las posibilidades:

1. Anomalías del desarrollo gonadal (disgenesia gonadal, síndrome de regresión testicular y DSD 46,XY ovotesticular): cursan con disminución de la síntesis de testosterona, así como de hormona antimulleriana e inhibina B. El diagnóstico etiológico de confirmación se realizará mediante la realización de biopsia gonadal, pero, dado que se describen cada vez más cambios en genes de desarrollo gonadal con diferente espectro clínico, puede ser conveniente disponer del estudio molecular. Existe un riesgo variable, pero no desdeñable, de desarrollo de tumor de células germinales que puede aconsejar la gonadectomía profiláctica; este riesgo puede depender del cambio génico responsable.
2. Mutación en el receptor de *hormona luteinizante (hipoplasia de células de Leydig)*: disminución de la síntesis de testosterona con hormona antimulleriana normal o aumentada, con hormona estimulante del folículo normal, pero hormona luteinizante aumentada. El test de gonadotropina coriónica humana no orienta a ningún déficit enzimático y la hormona adrenocorticotropa es normal. Fenotipo genital desde femenino a poco masculinizado con ausencia de restos mullerianos. Los derivados del conducto de Wolff están ausentes o son hipoplásicos. La biopsia gonadal es muy sugestiva, pero

el estudio molecular lo confirma (cambio patogénico bialélico en LHCGR).

3. *Defectos enzimáticos de la síntesis de testosterona*: cursan con disminución de la síntesis de testosterona y elevación o normalidad de la hormona antimulleriana. Las gónadas son testículos normales y no hay evidencia de restos mullerianos. El diagnóstico definitivo resultaría del estudio molecular del gen responsable de la enzima alterada:

- *Déficit de 7-deshidrocolesterol reductasa* (síndrome de Smith-Lemli-Opitz): grave defecto en la biosíntesis del colesterol que conduce a concentraciones muy bajas de colesterol en el plasma y gran aumento del precursor 7-deshidrocolesterol. Cursa con un amplio espectro de malformaciones congénitas y discapacidad intelectual variable, que incluye defectos de crecimiento, microcefalia, rasgos faciales característicos, sindactilia del segundo y el tercer dedos del pie, y alteraciones cardíacas, renales y del tracto urinario. Además, presentan insuficiencia suprarrenal, déficit de andrógenos y genitales atípicos.

- *Hiperplasia lipoide congénita por déficit de StAR (steroidogenic acute regulatory protein) o por déficit de la 20-22 colesterol desmolasa*. Forma más grave de HSC que cursa con síndrome pierde sal y genitales externos atípicos o femeninos en individuos 46,XY. Todos los precursores suprarrenales se encuentran disminuidos basalmente y tras estímulo con hormona adrenocorticotropa. Niveles muy elevados de hormona adrenocorticotropa plasmática. Los derivados del conducto de Wolff son normales o hipoplásicos.

- *Déficit de 3- β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa de tipo 2*: forma de HSC que cursa con genitales atípicos y síndrome pierde sal. Tras el estímulo con hormona adrenocorticotropa, aumentan los cocientes 17-hidroxipregnenolona/17-hidroxiprogesterona. Los derivados del conducto de Wolff son normales.

- *Déficit de 17-hidroxilasa/17-20 liasa o desmolasa*: provoca genitales externos femeninos normales o atípicos, junto con hipertensión arterial e hipopotasemia (aumento de mineralocorticoides). El estímulo con hormona adre-

nocorticotropa incrementa el cociente progesterona/17-hidroxiprogesterona. Los derivados del conducto de Wolff están ausentes o son hipoplásicos. Puede haber deficiencia aislada de la actividad 17-20 liasa, en cuyo caso no hay exceso de mineralocorticoides.

- *Déficit de P450 oxidoreductasa*: forma excepcional de HSC. Genera genitales externos atípicos. Los derivados del conducto de Wolff son normales o hipoplásicos.
- *Déficit de 17-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa*: tras el estímulo con gonadotropina coriónica humana, el cociente testosterona/androstenediona es menor de 1. Los derivados del conducto de Wolff son normales. A diferencia del resto de enzimopatías, este déficit sí presenta riesgo (intermedio) de tumor de células germinales y se recomienda la gonadectomía puberal o pospuberal.
- Otros: *déficit de citocromo B5 y déficits en la esteroidogénesis de la vía trasera* (enzimas de la familia de la aldorreductasa que están implicadas en la síntesis de dihidrotestosterona sin pasar por la síntesis de testosterona).

II. Cuando la respuesta de la testosterona es normal o aumentada al estímulo, son varias las posibilidades:

4. *Síndrome de insensibilidad completa o parcial a los andrógenos*: causa más frecuente de DSD 46,XY. Niveles normales/aumentados de testosterona y de hormona antimulleriana. En ocasiones encontraremos elevación de la hormona luteinizante. En las formas completas, el fenotipo externo es femenino en ausencia de vello dependiente del andrógeno, con derivados mullerianos ausentes (vagina corta) y del conducto de Wolff ausentes-hipoplásicos; gónadas de estructura normal, pero localización intraabdominal o inguinal. En las formas parciales, hay diverso grado de atipicidad genital externa con derivados de los conductos de Müller y Wolff variables, habitualmente hipoplásicos. En la mayoría de los síndromes de insensibilidad completa a los andrógenos, pero sólo en el 25% de los síndromes de insensibilidad parcial a los andrógenos, es posible identificar mutaciones inactivadoras en el receptor de andrógenos (AR; Xq11-12);

en el resto de los casos, se desconoce la base molecular. El riesgo de tumor de células germinales es sustancialmente mayor en los síndromes de insensibilidad parcial a los andrógenos.

5. *Déficit de 5-α-reductasa de tipo 2*: cociente testosterona/dihidrotestosterona, tras gonadotropina coriónica humana, > 20. Cursa con genitales externos atípicos, pero los internos son masculinos normales. El estudio molecular confirmará el diagnóstico (mutaciones inactivantes en SRD5A2; 2p23).
6. *Síndrome de persistencia de los conductos mullerianos*: forma de DSD 46,XY extremadamente rara, debida a alteración en la síntesis (tipo 1; mutaciones en AMH) o acción de la hormona antimulleriana (tipo 2; mutaciones en el gen del receptor de la hormona antimulleriana; AMHR). Cursa con fenotipo masculino y presencia de derivados mullerianos. Suele descubrirse en el contexto de cirugía por criptorquidia bilateral o hernia inguinal, que habitualmente requieren estos pacientes.

- Estudio molecular: ya referida como una prueba diagnóstica de primer orden para conocer o confirmar la causa en los DSD 46,XY, bien sea previo o posterior a la realización de los test mencionados. Los paneles dirigidos de secuenciación masiva, que actualmente permiten también la detección de cambios en la cantidad génica, representan la técnica más conveniente en estos casos. No obstante, todavía la técnica de secuenciación de Sanger tiene sentido en los casos con alta sospecha de entidades concretas (por ejemplo, déficit de 5-α-reductasa y resistencia a los andrógenos), mientras que los casos sin diagnóstico a través de las técnicas anteriores obligarían al uso de otras más avanzadas, como la secuenciación del exoma completo^{4,10}.

Como sucede con el resto de los grupos de la clasificación DSD, en cualquiera de estas entidades, y muchas veces antes de llegarse a su diagnóstico, es necesario un diagnóstico anatómico donde, como ya se ha referido anteriormente, el cirujano/urólogo pediátrico puede decidir realizar procedimientos que le permitan explorar el abdomen y los genitales internos para conocer con claridad las anomalías presentes, una información imprescindible en caso de plantearse la cirugía genital^{2-4,17}. Por último, también se han comentado las indicaciones para hacer una biopsia go-

nadal (diagnóstico histopatológico), generalmente en algunas entidades de este grupo a partir de 1 año de edad, con el objetivo de clasificar la gónada y/o determinar el riesgo de lesión precursora de tumor de células germinales, donde la experiencia del patólogo para llegar a un diagnóstico y tomar decisiones futuras (gonadectomía) resulta esencial⁴.

Bibliografía

1. Lee PA, Houk CP, Ahmed SF, Hughes IA, International Consensus Conference on Intersex organized by the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society and the European Society for Paediatric Endocrinology. Consensus statement on management of intersex disorders. *International Consensus Conference on Intersex*. *Pediatrics* 2006; 118: e488-500.
2. Lee PA, Nordenström A, Houk CP, Ahmed SF, Auchus R, Baratz A, et al. Global disorders of sex development update since 2006: perceptions, approach and care. *Horm Res Paediatr* 2016; 85: 158-80.
3. Ahmed SF, Achermann J, Alderson J, Crouch NS, Elford S, Hughes IA, et al. Society for Endocrinology UK Guidance on the initial evaluation of a suspected difference or disorder of sex development (Revised 2021). *Clin Endocrinol (Oxf)* 2021; 95: 818-40.
4. Guerrero-Fernández J, Azcona San Julián C, Barreiro Conde J, Bermúdez de la Vega JA, Carcavilla Urquí A, Castaño González LA, et al. [Management guidelines for disorders/different sex development (DSD)]. *An Pediatr (Engl Ed)* 2018; 89: 315.e1-19.
5. Grinspon RP, Castro S, Rey RA. Up-to-date clinical and biochemical workup of the child and the adolescent with a suspected disorder of sex development. *Horm Res Paediatr* 2021; 279-90. [Online ahead of print].
6. Raza J, Zaidi SZ, Warne GL. Management of disorders of sex development – with a focus on development of the child and adolescent through the pubertal years. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2019; 33: 101297.
7. Krege S, Eckoldt F, Richter-Unruh A, Köhler B, Leuschner I, Mentzel HJ, et al. Variations of sex development: the first German interdisciplinary consensus paper. *J Pediatr Urol* 2019; 15: 114-23.
8. Granada ML, Audí L. El laboratorio en el diagnóstico multidisciplinar del desarrollo sexual anómalo o diferente (DSD). I) Fisiología, clasificación, abordaje y metodología. II) Marcadores bioquímicos y genéticos diagnósticos en los 46,XX. *Advances in Laboratory Medicine* 2021; 2: 481-93.
9. Whitehead J, Hirsch J, Rosoklija I, Goetsch Weisman A, Dungan J, Finlayson C, et al. Prenatal detection and evaluation of differences of sex development: a qualitative interview study of parental perspectives and unmet needs. *Prenat Diagn* 2022; 42: 1332-42.
10. Granada ML, Audí L. El laboratorio en el diagnóstico multidisciplinar del desarrollo sexual anómalo o diferente (DSD). III) Marcadores bioquímicos y genéticos en los 46,XY. IV) Propuestas para el diagnóstico diferencial de los DSD. *Advances in Laboratory Medicine* 2021; 2: 505-15.
11. Hryhorczuk AL, Phelps AS, Yu RN, Chow JS. The radiologist's role in assessing differences of sex development. *Pediatr Radiol* 2022; 52: 752-64.
12. Goncalves LF, Hill H, Bailey S. Prenatal and postnatal imaging techniques in the evaluation of disorders of sex development. *Semin Pediatr Surg* 2019; 28: 150839.
13. Mahdi Mortazavipour M, Mahdian R, Shahbazi S. The current applications of cell-free fetal DNA in prenatal diagnosis of single-gene diseases: a review. *Int J Reprod Biomed* 2022; 20: 613-26.
14. Byers HM, Fossum M, Wu HY. How geneticists think about differences/disorders of sexual development (DSD): a conversation. *J Pediatr Urol* 2020; 16: 760-7.
15. Son JK, Ali S, al Khori N, Lee EY. MR imaging evaluation of pediatric genital disorders: MR technologic overview and interpretation. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2019; 27: 301-21.
16. Tafazzoli K, Wünsch L, Bouteleux M, Lindert J, Schulz T, Birnbaum W, et al. Endoscopy and laparoscopy in disorders of sex development. *Sex Dev* 2018; 12: 100-5.
17. Ashour K, Shehata S, Osheba A. Cystourethroscopy versus contrast studies in urogenital sinus and cloacal anomalies in children. *J Pediatr Surg* 2018; 53: 313-5.
18. Gravholt CH, Andersen NH, Conway GS, Dekkers OM, Geffner ME, Klein KO, et al. Clinical practice guidelines for the care of girls and women with Turner syndrome: proceedings from the 2016 Cincinnati International Turner Syndrome Meeting. *Eur J Endocrinol* 2017; 177: G1-70.
19. Zitzmann M, Aksglaede L, Corona G, Isidori AM, Juul A, T'Sjoen G, et al. European academy of andrology guidelines on Klinefelter Syndrome Endorsing Organization: European Society of Endocrinology. *Andrology* 2021; 9: 145-67.

20. Guerrero-Fernández J, González-Peramato P, Rodríguez Estévez A, José M, Villar A, Parera LA, et al. Consensus guide on prophylactic gonadectomy in different sex development. *Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed)* 2022; 69: 629-45.

21. Grupo de Trabajo ADS/DSD de la Sociedad Española de Endocrinología Pediátrica (SEEP). Genes ADS/DSD. URL: https://docs.google.com/document/d/1C773CPRtQvW6ug5JhDZePxAuUzo_rAVyVZg0C-oNiA/edit#. 2023.

22. Rey RA. Next-generation sequencing as first-line diagnostic test in patients with disorders of sex development? *J Clin Endocrinol Metab* 2022; 107: E2628-9.

23. Alhomaidah D, McGowan R, Ahmed SF. The current state of diagnostic genetics for conditions affecting sex development. *Clin Genet* 2017; 91: 157-62.

24. van der Straaten S, Springer A, Zecic A, Hebens-treit D, Tonnhofer U, Gawlik A, et al. The External Genitalia Score (EGS): a European multicenter validation study. *J Clin Endocrinol Metab* 2020; 105: dgz142.

25. Ahmed SF, Khwaja O, Hughes IA. The role of a clinical score in the assessment of ambiguous genitalia. *BJU Int* 2000; 85: 120-4.