



The Biologist (Lima)



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

CYTOGENETIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF FOUR PATIENTS WITH DIFFERENCES IN SEXUAL DEVELOPMENT

CARACTERIZACIÓN CITOGENÉTICA Y MOLECULAR DE CUATRO PACIENTES CON DESARROLLO SEXUAL DIFERENTE

Anduriña Barrios-Martínez¹; Damarys García-Gómez¹, Enny Morales-Rodríguez¹, Michel Soriano-Torres¹, Marilyn del Sol-González¹, Teresa Collazo-Mesa² & Luis Alberto Méndez-Rosado^{1*}

¹ Laboratorio de citogenética. Centro Nacional de Genética Médica de La Habana, Cuba. abarrios@infomed.sld.cu / damarys-garcia@infomed.sld.cu / enny@infomed.sld.cu / michel.soriano@cngen.sld.cu / marilynsg@infomed.sld.cu / albermen@infomed.sld.cu

² Laboratorio de Biología Molecular. Centro Nacional de Genética Médica. Cuba. tcollazo@infomed.sld.cu

* Corresponding author: albermen@infomed.sld.cu

Anduriña Barrios-Martínez: <https://orcid.org/0000-0002-5957-3538>

Damarys García-Gómez: <https://orcid.org/0000-0001-7289-7265>

Enny Morales-Rodríguez: <https://orcid.org/0000-0001-9261-1084>

Michel Soriano-Torres: <https://orcid.org/0000-0003-3335-8669>

Marilyn del Sol-González: <https://orcid.org/0000-0002-1454-6800>

Teresa Collazo-Mesa: <https://orcid.org/0000-0002-3984-9189>

Luis Alberto Méndez-Rosado: <https://orcid.org/0000-0002-4401-0054>

ABSTRACT

Differences in sexual development (DSD) encompass a diverse spectrum of conditions arising from alterations during fetal development related to genetic, gonadal, or phenotypic sex. With a prevalence of less than 1 case per 2,000 newborns, these entities are classified as rare diseases. The objective was to characterize four patients with differences in sexual development through cytogenetic and molecular analysis in order to establish genotype-phenotype correlations. Four patients were evaluated due to presenting reproductive disorders. Lymphocyte cultures with GTG-banding were performed, complemented by fluorescence in situ hybridization (FISH) using X-centromeric and *SRY* gene locus-specific probes. Additionally, *SRY* gene detection was carried out using polymerase chain reaction (PCR). Three patients with a male phenotype presented a 46,XX karyotype and the presence of the *SRY* gene, suggesting a translocation of the *SRY* locus to the X chromosome during paternal meiosis. One patient with a female phenotype exhibited a 46,XY karyotype and the absence of the *SRY* gene. Distinct phenotypic peculiarities were observed in the patients consistent with their respective diagnoses. The integration of cytogenetic techniques (karyotype + FISH) and molecular methods



(*SRY* detection) is fundamental for the accurate diagnosis of these entities. These findings not only help elucidate underlying genetic mechanisms but also guide personalized genetic counseling strategies, minimizing clinical uncertainty for affected families.

Keywords: Chapelle Syndrome – Disorders of Sex Development – Swyer Syndrome

RESUMEN

Las diferencias del desarrollo sexual comprenden un espectro diverso de condiciones originadas por alteraciones en las etapas del desarrollo fetal relacionadas con el sexo genético, gonadal o fenotípico. Con una prevalencia inferior a 1 caso por cada 2 000 recién nacidos, estas entidades se clasifican como enfermedades raras. El objetivo fue caracterizar citogenéticamente y molecularmente a cuatro pacientes con desarrollo sexual diferente con el fin de establecer correlaciones genotipo-fenotipo. Fueron evaluados cuatro pacientes debido a los trastornos reproductivos que presentaban. Se realizó cultivo de linfocitos con bandeado GTG, complementado con hibridación *in situ* fluorescente mediante sondas centroméricas del X y locus específico del gen *SRY*. También la detección del gen *SRY* se llevó a cabo mediante reacción en cadena de la polimerasa. Tres pacientes con fenotipo masculino presentaron cariotipo 46,XX y presencia del gen *SRY*, sugiriendo una translocación del locus *SRY* al cromosoma X durante la meiosis paterna. Un paciente con fenotipo femenino mostró un cariotipo 46,XY y ausencia del gen *SRY*. Se observan peculiaridades fenotípicas en los pacientes acordes con el diagnóstico realizado. La integración de técnicas citogenéticas (cariotipo + FISH) y moleculares (detección de *SRY*) es fundamental para el diagnóstico preciso de estas entidades. Estos hallazgos no solo permiten elucidar mecanismos genéticos subyacentes, sino que también orientan estrategias de asesoramiento genético personalizadas, minimizando la incertidumbre clínica en las familias afectadas.

Palabras clave: síndrome Chapelle – síndrome de Swyer – Trastornos Desarrollo Sexual

INTRODUCCIÓN

Las diferencias en el desarrollo sexual (DDS), anteriormente denominadas anomalías del desarrollo sexual (ADS), comprenden un grupo heterogéneo de condiciones originadas por variaciones en las etapas del desarrollo fetal. Estas determinan el sexo cromosómico, gonadal (ovarios o testículos) o anatómico (genitales internos o externos) del individuo. (Horowitz *et al.*, 2025).

Su prevalencia es baja (inferior a 1 por cada 2.000 recién nacidos), lo que las clasifica como enfermedades raras. Su etiología es predominantemente genética, con más de 40 genes identificados en la regulación de la diferenciación sexual; no obstante, en una minoría de casos, pueden influir factores maternos o ambientales (Hughes *et al.*, 2006; Kavanaugh *et al.*, 2021).

Este proceso biológico es complejo y secuencial: comienza con la determinación del sexo cromosómico durante la fecundación, continúa con la diferenciación gonadal —donde la cresta indiferenciada evoluciona hacia testículo o ovario— y concluye con la formación del sexo fenotípico. Cualquier

alteración en estos periodos críticos del desarrollo fetal puede dar lugar a las DDS (Díaz-Hernández & Merchant-Larios, 2008).

La etapa inicial del desarrollo genital es común a ambos sexos durante las primeras seis semanas posfecundación. A partir de la séptima semana, inicia la diferenciación gonadal regulada por una red de genes. En este contexto, la presencia del gen *SRY* en el cromosoma Y es el factor determinante para el desarrollo testicular, actuando como el iniciador de una cascada de genes reguladores complementarios (Krishna *et al.*, 2017).

El diagnóstico de las DDS exige un enfoque multidisciplinario que integre: estudios clínicos: antecedentes, exploración física y técnicas de imagen; análisis fisiológicos: bioquímica general y perfiles hormonales; estudios citogenéticos: determinación del cariotipo. (Barrios-Martínez *et al.*, 2022).

Posteriormente, la evaluación integrada de estos datos permite el análisis de genes candidatos según el diagnóstico diferencial. En casos específicos, es fundamental la caracterización molecular del gen *SRY*, particularmente en pacientes

con cariotipo 46,XX y presencia de tejido testicular, o en individuos 46,XY con disgenesia gonadal. Estas condiciones suelen manifestarse con infertilidad, ambigüedad genital o discordancia entre el sexo genético y el fenotípico (Kutney *et al.*, 2016; Lambert *et al.*, 2021),

El objetivo del presente trabajo es caracterizar citogenéticamente y molecularmente a cuatro pacientes con desarrollo sexual diferente mediante el análisis del cariotipo y la detección del gen *SRY*, con el fin de establecer correlaciones genotipo-fenotipo y fundamentar el asesoramiento genético.

MATERIAL Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo entre enero de 2023 y diciembre de 2024. Se realizó un estudio observacional, descriptivo y prospectivo de una serie de casos que incluyó a cuatro pacientes con infertilidad de más de un año de evolución o DDS. Todos los sujetos fueron evaluados previamente en consultas de genética médica.

Las muestras se remitieron a los laboratorios de Citogenética y Biología Molecular del Centro Nacional de Genética Médica (La Habana), Cuba, para realizar el análisis del cariotipo, hibridación *in situ* fluorescente (FISH) y el estudio molecular del gen *SRY*.

Para el análisis citogenético, se recolectaron 5 mL de sangre periférica heparinizada, los cuales fueron procesados mediante cultivos celulares y bandeo GTG, siguiendo los protocolos estandarizados de la institución. La descripción de los cariotipos se realizó conforme a la nomenclatura del sistema ISCN 2020 (Liehr, 2021).

La técnica de FISH se efectuó empleando sondas específicas para la región del gen *SRY* (marcada con fluorocromo rojo en Yp11.2) y para el centrómero del cromosoma X (Spectrum Aqua, CEP Xp11.1-q11.1). Asimismo, se empleó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección del gen *SRY*. Los productos de amplificación se visualizaron mediante transiluminación UV, identificando fragmentos de 510 pb para el control interno y de 609 pb para el gen *SRY*.

Aspectos éticos: Los resultados de esta investigación cuentan con la aprobación del Comité de Ética e Investigación y del Consejo Científico del Centro Nacional de Genética Médica de La Habana, Cuba. (Resolución # 28/2025). Tras informar a los pacientes sobre los objetivos del estudio, se procedió a la obtención del consentimiento informado. Para garantizar el anonimato, los datos fueron codificados al ingresarlos en la base de datos del laboratorio. Finalmente, las muestras de sangre se desecharon conforme a las normas de bioseguridad y no se emplearon para fines adicionales.

RESULTADOS

A continuación, presentamos una descripción de los pacientes estudiados teniendo en cuenta sus características clínicas y el diagnóstico obtenido.

Caso # 1: Paciente con fenotipo masculino, pene pequeño y baja talla que fue remitido al laboratorio de citogenética por presentar infertilidad. En el espermograma fue detectada una azoospermia. El diagnóstico citogenético convencional fue 46,XX en 25 metafases analizadas con una resolución de 450 bandas. Tabla 1. Los estudios mediante la técnica FISH utilizando las sondas CEP del cromosoma X y la sonda LSI del gen *SRY* detectaron una probable translocación X,Y (Figura 1). El cariotipo del paciente fue: 46,X .ish der(X)t(X;Y)(p22.3;p11.2)

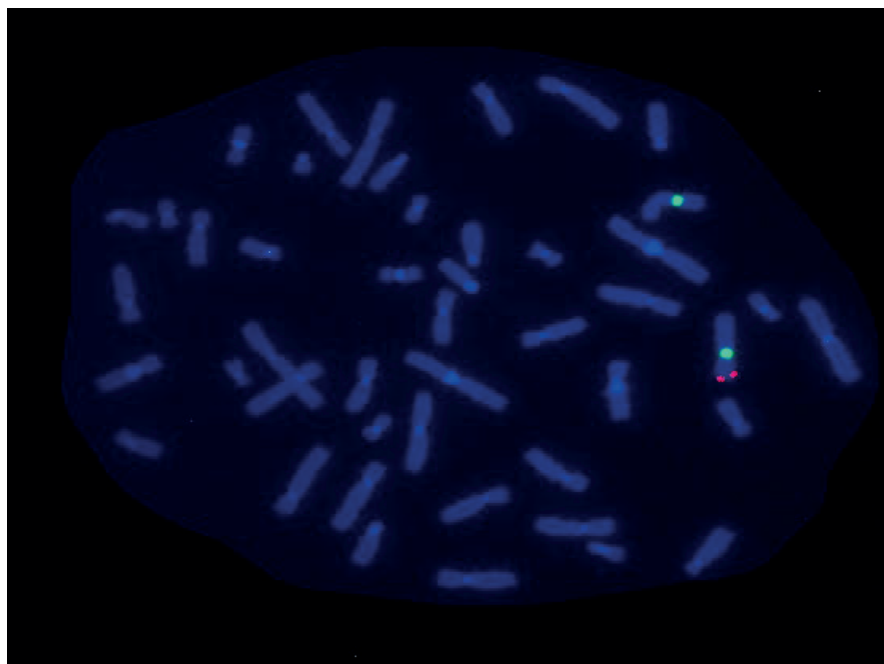


Figura 1. Muestra la translocación X,Y. El derivativo X tiene el marcaje centromérico verde (DXZ1) y el marcaje del gen *SRY* en rojo ubicado en Xp. Aparece la X normal con su centrómero marcado en verde.

Caso # 2: Paciente con fenotipo masculino normal que fue remitido al laboratorio de citogenética por presentar 5 años de infertilidad. En el espermograma fue detectada una azoospermia. El diagnóstico citogenético convencional mostró 46,XX en 30 metafases analizadas con una resolución de 500 bandas. Los resultados utilizando la técnica FISH (sondas CEP del cromosoma X y sonda LSI del gen *SRY*) detectaron una probable translocación X,Y (Tabla 1). El cariotipo del paciente después de los resultados del FISH fue: 46,X . ish der(X)t(X;Y)(p22.3;p11.2).

Caso #3: Paciente con fenotipo masculino, genitales externos normales, que es remitido al laboratorio producto de su infertilidad. El diagnóstico citogenético convencional fue de 46, XX en 20 metafases con una resolución de 550 bandas. Al realizar la técnica FISH (sondas CEP del cromosoma X y sonda LSI del gen *SRY*) se detectó una

translocación X,Y (Tabla 1). El cariotipo final del paciente después de los resultados con la técnica FISH fue: 46,X. ish der(X)t(X;Y)(p22.3;p11.2)

CASO # 4: Paciente con fenotipo femenino, genitales externos normales y normal desarrollo de las mamas. Un examen ultrasonográfico ginecológico reveló la ausencia de útero, de las trompas de Falopio y de ambos ovarios. Al examen físico se detectaron abultamientos bilaterales en los conductos inguinales semejantes a los que produce la criptorquidia. El cariotipo realizado mediante citogenética convencional mostró en 30 metafases 46,XY con una resolución de 450 bandas (Tabla 1). Mediante genética molecular (extracción de ADN, PCR y corrida electroforética) no se detecta el gen *SRY*. La técnica FISH no estaba disponible en ese momento. Como resultado final se propuso: 46,XY *SRY*(-)

Tabla 1. Descripción de los resultados del cariotipo, del gen *SRY* y de la técnica utilizada para el diagnóstico.

Pacientes	Fenotipo	Cariotipo, Gen <i>SRY</i>	Método molecular
CASO # 1	Varón con azoospermia, baja talla, hipogonadismo	46, XX , <i>SRY</i> (+)	FISH
CASO # 2	Varón normal con azoospermia	46, XX, <i>SRY</i> (+).	FISH
CASO # 3:	Varón normal con azoospermia	46, XX, <i>SRY</i> (+)	FISH
CASO # 4:	Fenotipo femenino, alteraciones del aparato reproductor.	46, XY, <i>SRY</i> (-)	PCR

SRY: gen *SRY*, FISH: hibridación *in situ* fluorescente por sus siglas en inglés, PCR: reacción en cadena de la polimerasa por sus siglas en inglés, (+): positivo, (-): negativo.

DISCUSIÓN

Las translocaciones X/Y son eventos genéticos poco frecuentes con escasos reportes en la literatura (Kusz *et al.*, 2001; Morel *et al.*, 2001; Xiaoyi *et al.*, 2022). Las aberraciones en los cromosomas sexuales pueden comprometer el desarrollo gonadal, derivando en trastornos reproductivos y endocrinos complejos. Existen diversos tipos de translocaciones X/Y (Hsu *et al.*, 1994); sin embargo, el cariotipo convencional presenta limitaciones para el diagnóstico preciso de estas entidades, las cuales suelen ser crípticas. En el presente trabajo, el diagnóstico final se realizó, en tres casos, mediante la técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH), técnica disponible y estandarizada en nuestro laboratorio (Méndez-Rosado *et al.*, 2020).

Se presentan cuatro casos con trastornos reproductivos. En tres de ellos se identificó una translocación X/Y, condición conocida como síndrome de La Chapelle (o varón 46,XX).

Aproximadamente el 90% de estos casos se atribuye a la presencia del gen *SRY* en el cromosoma X, tal como está presente en nuestros pacientes, producto de un intercambio inusual de información genética durante la meiosis paterna (Thaker *et al.*, 2023). La incidencia reportada del síndrome del varón 46,XX es de 1 por cada 20.000 recién nacidos. En el 90% de los pacientes, los genitales externos presentan una virilización completa, lo que retrasa el diagnóstico hasta la pubertad, cuando suelen manifestarse signos clínicos como hipogonadismo, ginecomastia, baja talla e infertilidad recurrente (Zenteno-Ruiz *et al.*, 2001). Estas características fueron reportadas en uno de nuestros pacientes.

Todos los casos analizados en este estudio presentan un fenotipo masculino. No obstante, uno de ellos muestra alteraciones fenotípicas como talla baja y micropene, rasgos también descritos en la literatura (Zenteno-Ruiz *et al.*, 2001) Es posible que, en este paciente, el cromosoma X

derivativo (portador del gen *SRY*) haya sufrido una inactivación desfavorable, permitiendo que el cromosoma X normal permanezca activo en mayor proporción. Existen reportes de casos similares que, debido a esta inactivación preferencial del X derivativo, presentan incluso un fenotipo típicamente femenino (Brewer *et al.*, 2024; Politi *et al.*, 2024).

El cuarto caso corresponde a una paciente con cariotipo 46,XY y ausencia del gen *SRY*. A pesar de su constitución cromosómica, presenta un fenotipo femenino con diversas malformaciones del aparato reproductor. Un cariotipo 46,XY con *SRY* negativo es indicativo de una disgenesia gonadal pura, conocida comúnmente como síndrome de Swyer. En la literatura se han reportado nódulos calcificados en la región inguinal que corresponden a testículos atrofiados (centellas gonadales) (Choi *et al.*, 2023). La ausencia de tejido testicular normal en nuestra paciente sugiere que la mutación afectó a un gen responsable del desarrollo o mantenimiento testicular, como el *SRY*. Debido al elevado riesgo de desarrollar gonadoblastomas, esta paciente requiere un seguimiento clínico regular (Rudnicka *et al.*, 2024).

La integración de técnicas citogenéticas (cariotipo + FISH) y moleculares (detección de *SRY*) es fundamental para el diagnóstico preciso de estas entidades. Estos hallazgos no solo permiten elucidar mecanismos genéticos subyacentes, sino que también orientan estrategias de asesoramiento genético personalizadas, minimizando la incertidumbre clínica en las familias afectadas.

AGRADECIMIENTOS

A los genetistas clínicos que remiten los casos a nuestro laboratorio con una correcta delineación fenotípica de los pacientes.

Author contributions: CRediT (Contributor Roles Taxonomy)

ABM = Anduriña Barrios-Martínez

DGG = Damarys García-Gómez

EMR = Enny Morales-Rodríguez

MST = Michel Soriano-Torres

MSG = Marilyn del Sol-González

TCM = Teresa Collazo-Mesa

LAMR = Luis Alberto Méndez-Rosado

Conceptualization: ABM, LAMR

Data curation: EMR, DGG, TCM

Formal Analysis: LAMR

Funding acquisition: ABM, DGG, EMR, MST, MSG, TCM, LAMR

Investigation: ABM, LAMR

Methodology: MST, MSG

Project administration: ABM

Resources: MST, MSG

Software: LAMR

Supervision: MSG

Validation: LAMR, ABM

Visualization: EMR, DGG, TCM

Writing – original draft: ABM

Writing – review & editing: LAMR

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barrios-Martínez, A., Soriano-Torres, M., García-Gómez, D., Benítez-Cordero, Y., González-Domínguez, N., & Méndez-Rosado, L.A. (2022). Rearreglos cromosómicos complejos involucrados en la infertilidad masculina. *Salud, Ciencia y Tecnología - Serie de Conferencias*, 2, 340.
- Brewer, C.J., Coyan, A.G., Smith, N., Jones, B., Smolarek, T.A., & Liu, J. (2024). *SRY*+ derivative X chromosome in a female with apparently typical sexual development. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 12, e70033.
- Choi, H.G., & Park, S. (2023). De la Chapelle syndrome: a case report. *Journal of the Korean Society of Radiology*, 84, 1181-1184.
- Díaz-Hernández, V., & Merchant-Larios, H. (2008). Bases moleculares de la determinación sexual en mamíferos. *Ciencia Ergo Sum*, 15, 287-296.
- Horowitz, K., Zayhowski, K., Palmour, N., Haghghat, D., & Joly, Y. (2025). Navigating the disclosure landscape: parents' perspectives on healthcare professionals' role in supporting intersex children and families. *Journal of Genetic Counseling*, 34, e1962.

- Hsu, L.Y. (1994). Phenotype/karyotype correlations of Y chromosome aneuploidy with emphasis on structural aberrations in postnatally diagnosed cases. *American Journal of Medical Genetics*, 53, 108–140.
- Hughes, I.A., Houk, C., Ahmed, S.F., & Lee, P.A. (2006). Consensus statement on management of intersex disorders. *Journal of Pediatric Urology*, 2, 148–162.
- Kavanaugh, G.L., Mohnach, L., Youngblom, J., Kellison, J.G., Sandberg, D.E., & Accord Alliance. (2021). “Good practices” in pediatric clinical care for disorders/differences of sex development. *Endocrine*, 73, 723–733.
- Krishna, K.B., Houk, C.P., & Lee, P.A. (2017). Pragmatic approach to intersex, including genital ambiguity, in the newborn. *Seminars in Perinatology*, 41, 244–251.
- Kusz, K., Wojda, A., Wiśniewska, M., Latos-Bieleńska, A., & Jaruzelska, J. (2001). A familial X/Y translocation: cytogenetic and molecular study. *Journal of Applied Genetics*, 42, 237–240.
- Kutney, K., Konczal, L., Kaminski, B., & Uli, N. (2016). Challenges in the diagnosis and management of disorders of sex development. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, 108, 293–308.
- Lambert, S., Peycelon, M., Samara-Boustani, D., Hyon, C., Dumeige, L., Peuchmaur, M., Fiot, E., Léger, J., Simon, D., Paye-Jaouen, A., Bouligand, J., Siffroi, J.-P., Carel, J.-C., McElreavey, K., El Ghoneimi, A., Brachet, C., Bouvattier, C., & Martinerie, L. (2021). SRY-negative 46,XX testicular/ovotesticular DSD: long-term outcomes and early blockade of gonadotropic axis. *Clinical Endocrinology (Oxf)*, 94, 667–676.
- Liehr, T. (2021). International system for human cytogenetic or cytogenomic nomenclature (ISCN): some thoughts. *Cytogenetic and Genome Research*, 161, 223–224.
- Méndez-Rosado, L.A., Gamboa, O.M., Torres, M.S., Mayedo, U.S., Rodríguez, M.G., & Martínez, A.B. (2020). Características del diagnóstico prenatal por hibridación fluorescente in situ en Cuba. *Revista Cubana de Pediatría*, 92, e822.
- Morel, F., Fellmann, F., Roux, C., & Bresson, J.L. (2001). Meiotic segregation analysis by FISH investigation of spermatozoa of a 46,Y,der(X),t(X;Y)(qter-->p22::q11-->qter) carrier. *Cytogenetic and Cell Genetics*, 92, 63–68.
- Politi, C., Grillone, K., Nocera, D., Colao, E., Bellisario, M.L. & Loddo, S., Catino, G., Novelli, A., Perrotti, N., Rodolfo, I., & Malatesta, P. (2024). Non-invasive prenatal test analysis opens a Pandora's box: identification of very rare cases of SRY-positive healthy females, segregating for three generations thanks to preferential inactivation of the XqYp translocated chromosome. *Genes (Basel)*, 15, 103.
- Rudnicka, E., Jaroń, A., Kruszewska, J., Smolarczyk, R., Jajdzewski, K., Derlatka, P., & Kucharska, A.M. (2024). A risk of gonadoblastoma in familial Swyer syndrome—a case report and literature review. *Journal of Clinical Medicine*, 13, 785.
- Thaker, N., Parihar, P., Dhande, R., Raj, N. & Unadkat, B. (2023). A case of de la Chapelle syndrome. *Cureus*, 15, e48150.
- Xiaoyi, C., Weiqiang, L., & Yuanyuan, P. (2022). Clinical genetic analysis of imbalanced translocation between X and Y chromosomes. *Zhongguo You Sheng Yu Yi Chuan Xue Za Zhi*, 30, 615–618.
- Zenteno-Ruiz, J.C., Kofman-Alfaro, S., & Méndez, J.P. (2001). 46,XX sex reversal. *Archives of Medical Research*, 32, 559–566.

Received April 24, 2026.

Accepted June 3, 2026.