

LA DETERMINACION SEXUAL PRIMARIA *

Por TOBIAS MOJICA ARAQUE**

I. INTRODUCCION

A principios del siglo, C. E. McClung (1902) observó la presencia de un "cromosoma accesorio" en la mitad de los espermatozoides de ciertos insectos; el mismo sugirió que este cromosoma estaba en alguna manera implicado en la diferenciación del macho.

Las observaciones de McClung condujeron a las teorías de determinación sexual XX y XY y a la noción contemporánea de que entre los mamíferos la determinación del sexo masculino ocurre cuando un ovum portador de un cromosoma X es fertilizado por un espermatozoide que porte un cromosoma Y. Esta fertilización resulta en un embrión que es XY (el sexo heterogamético) mientras que el sexo femenino se determina por fertilización de un ovum X por un espermatozoide X para resultar en un embrión XX (el sexo homogamético).

Así pues, la determinación del sexo en mamíferos parece ser, desde el punto de vista genético, uno de los procesos más simples de la biología del desarrollo. El dimorfismo sexual hembra-macho se correlaciona muy estrechamente con el dimorfismo cromosómico XX,XY. Se debe concluir, por necesidad, que existen genes estructurales o reguladores, en los cromosomas sexuales, que gobiernan la diferenciación sexual.

Ratones y humanos XO (con un solo cromosoma X y sin cromosoma Y) son inequívocamente hembras, mientras que los individuos mamíferos

XXY, XXXY (hasta con cinco cromosomas X y un solo Y) son inequívocamente machos.

El cromosoma Y parece pues tener la función reguladora dominante para la diferenciación sexual. Embriones sin cromosoma Y se desarrollan como hembras, mientras que embriones con cromosoma Y (sin tener en cuenta el número de cromosomas X presente) se desarrollan como machos.

De acuerdo con la noción contemporánea de la determinación sexual la gonada bipotente del embrión mamífero es inducida, en presencia (de productos génicos) del cromosoma Y a organizarse en testículo y a organizarse en ovario en ausencia del cromosoma Y.

Yo quiero revisar: 1) los modelos corrientes que nos explican los mecanismos de la determinación sexual primaria, 2) El hecho de que muy probablemente no es el cromosoma Y per se el que hace que la gonada del mamífero se organice en testículo sino que es una molécula generalmente reconocida como antígeno H-Y, 3) La disgenesia gonadal XY, el síndrome masculino XX y el hermafroditismo verdadero XX, amén de otras excepciones cromosómico-sexuales, se verán como errores específicos de regulación, síntesis o función del antígeno H-Y y 4) los esfuerzos experimentales que estamos adelantando para resolver algunos de los problemas conceptuales, experimentales y clínicos que han aparecido recientemente.

II. DETERMINACION SEXUAL PRIMARIA: ORGANOGENESIS DEL TESTICULO

El dimorfismo sexual es evidente en las especies de mamíferos debido al desarrollo diferencial de la genitalia externa e interna y a otras características no genitales tales como estatura, apéndices, y componentes específicos.

La diferenciación sexual y el sexo en general pueden disectarse en cuatro niveles los cuales co-

* Este manuscrito fue terminado en Agosto de 1981. En el tiempo transcurrido desde su terminación se han hecho observaciones importantes especialmente a nivel molecular. Estas observaciones no son incluidas en este artículo y tal hecho debe tenerse en cuenta al leerlo.

** Departamento de Genética. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia.

responden estrechamente a los cuatro pasos cronológicos del desarrollo sexual masculino:

- 1) sexo cromosómico,
- 2) sexo gonadal,
- 3) sexo ductal o genitalia interna,
- 4) sexo genital o genitalia externa.

El sexo cromosómico se establece en el momento de la fertilización y éste dirige el desarrollo de ovarios o de testículos, es decir el sexo cromosómico dirige la diferenciación del sexo gonadal.

En el hombre, las gonadas primitivas XX y XY aparecen idénticas hasta los 42 días de vida embrionaria (Jirasek 1977a y 1977b). No se sabe con certeza cuando ocurre una señal fisiológica que inicia la diferenciación del testículo en machos y no se sabe si ocurre una señal especial que inicia la diferenciación del ovario en hembras. Entre 6 y 7 semanas de gestación el testículo se ha diferenciado en machos (Summit, 1979). Alfred Jost (1972) estableció inequívocamente que el embrión mamífero castrado se desarrolla como hembra. Esto quiere decir que el embrión, como la gonada, también es bipotente y que el programa genético del desarrollo sexual tiende a producir el fenotipo femenino. Para que se produzca el fenotipo masculino el testículo fetal tiene que imponer señales hormonales. Señales emitidas por el testículo dirigen la organización del sexo ductal y del sexo genital.

En respuesta a estas señales, el tubo Wolffiano, o ducto mesonefrítico se diferencia para formar los ductos sexuales internos del macho (ducto epididimal), vas deferens, vesícula seminal y ducto eyaculatorio). Se ha demostrado que es la testosterona (Wilson, George y Griffin, 1981), el andrógeno principal producido por las células de Leydig del testículo fetal, la molécula que actúa sobre el ducto mesonefrítico y que inicia la diferenciación de los ductos internos. Además de testosterona, el testículo fetal, por medio de las células de Sertoli, elabora el factor supresivo de Müller el cual se encarga de la regresión y degeneración del tubo de Müller o ducto paramesonefrítico (Josso *et al.*, 1977), previniendo en esta manera el desarrollo paralelo de estructuras internas femeninas en el embrión macho.

En el embrión castrado Y (o que no organiza testículo por otra razón) no ocurre regresión del tubo de Müller ni diferenciación de tubo Wolffiano. Por el contrario, el tubo de Müller o ducto paramesonefrítico se desarrolla en útero, vagina y tubos de Falopio.

Por último, también bajo control de la testosterona emitida por el testículo ocurre la diferenciación de los genitales externos del macho.

Evidentemente, el evento definitivo y primordial consiste en la generación de testículo; esto lo lla-

maremos la determinación sexual primaria. El sexo ductal y el sexo genital (la diferenciación sexual secundaria) están controlados por el sexo gonadal.

Cuando el sexo fenotípico no corresponde al sexo cromosómico se dice que ha ocurrido reversión del sexo. Esta es controlada genéticamente en mamíferos pero que puede darse por factores medioambientales como hormonas en especies inferiores, por ejemplo en peces.

Desde la fertilización hasta la formación de blastocisto, el embrión macho tiene un solo cromosoma X funcional mientras que el embrión femenino tiene los 2 cromosomas X funcionales. La función del cromosoma Y aparece por primera vez en la fase de 8 células; detectado por la presencia de un antígeno de la superficie celular (el antígeno H-Y) regulado por el cromosoma Y (Krcy y Goldberg, 1976).

III. MODELO DE DETERMINACION SEXUAL PRIMARIA

En la actualidad se utilizan dos modelos para explicar la determinación sexual primaria en mamíferos y para explicar las observaciones experimentales y clínicas.

El modelo original se debe a S. Ohno y S. Wachtel (véase por ejemplo Wachtel y Ohno, 1979) y en su más simple expresión dice: El antígeno H-Y es la molécula que inicia la diferenciación de testículo. El gene estructural del antígeno HY está, en copias múltiples en el cromosoma Y. La regulación de la síntesis del antígeno H-Y es constitutiva.

El modelo alternativo (en realidad son varias las alternativas) que se debe a Wolf y sus colaboradores (e.g. Wolf, Fraccaro, Mayerova, Hecht, Zuffardi y Hameister, 1980; Wolf, Fraccaro, Mayerova, Hecht, Maraschio y Hameister, 1980) establece que el antígeno H-Y es la molécula que inicia la diferenciación de testículo y el gene estructural del antígeno H-Y es autosómico (i está ligado a X). En este caso al cromosoma X contribuye regulatoriamente con un represor mientras que el cromosoma Y contribuye con un inductor.

El presente estado de los conocimientos no permite una discriminación inequívoca entre los 2 modelos ni una formulación sensata de otro modelo.

IV. EL ANTIGENO H-Y

A. Historia

En 1955 Eichwald y Silmsker observaron que ratones hembras de la cepa C57BL (una cepa generada por cruces entre hermanos por varias generacio-

nes y por lo tanto altamente consanguíneos tal que considera que los miembros de esta cepa son isogénicos, la única diferencia genética entre machos y hembras está en el cromosoma Y), rechazaban trasplantes de piel de machos de la misma cepa, mientras que trasplantes de piel entre las otras tres combinaciones sexuales posibles eran aceptados.

La reacción del rechazo de trasplantes se atribuyó a la presencia de un "antígeno-débil-de-trasplante" determinado por un locus "menor" de histocompatibilidad en el cromosoma Y. El locus se conoce ahora como H-Y (histocompatibilidad-Y) y el antígeno se conoce como antígeno H-Y.

La anterior observación sobre el antígeno H-Y en la cepa C57BL ha sido confirmada en otras cepas de ratón y de rata y en otros mamíferos en los cuales es experimentalmente factible generar cepas consanguíneas.

El estudio del antígeno H-Y permaneció en el dominio de la biología de trasplantes hasta 1971 cuando E. Goldberg (1971) observó que hembras de ratón injertadas con piel de machos de la misma cepa producen anticuerpos anti H-Y el cual es citotóxico para células espermáticas del ratón, y para células epidermales masculinas (Scheid *et al.*, 1972).

B. Metodología

La observación de Goldberg (1971) abrió la avenida del ensayo serológico del antígeno H-Y.

El ensayo más común es el de citotoxicidad diferencial del antisuero H-Y contra células espermáticas (Goldberg, 1971), células epidermales (Scheid *et al.*, 1972) y células de la línea Raji derivadas del linforma de Burkitt (Fellous *et al.*, 1978). Otros tipos de células parecen no ser susceptibles a lisis mediada por antisuero anti H-Y en el ensayo de citotoxicidad.

La presencia del antígeno H-Y se detecta en cualquier tejido por medio de "absorción indirecta" de antisuero anti H-Y. Si el tejido tiene antígeno H-Y entonces disminuirá la citotoxicidad del antisuero H-Y contra las células blanco (e.g. células Raji). Se han diseñado otros ensayos un poco más sofisticados. Uno de ellos, el ensayo de hemoadsorción mezclada del anticuerpo híbrido de Koo *et al.* (1973), consiste en exponer células espermáticas o epidermales a antisuero anti H-Y del tabaco o puede ser con eritrocitos ovinos (Koo *et al.*, 1977). La rotulación se efectúa usando un anticuerpo híbrido sintético (preparado en conejo) con dos especificaciones a saber: anti H-Y en un brazo y anti-eritrocitos ovinos en el otro brazo.

En el ensayo de las rosetas de la proteína-A-eritrocitos ovinos; los eritrocitos ovinos se acoplan con proteína A por medio de cloruro crómico; las

células que se van a ensayar por este método se tratan con antisuero anti H-Y; al mezclar los dos tipos de células ocurre la formación de rosetas debido a que la proteína A liga con mucha avidéz el antisuero anti H-Y (Koo *et al.*, 1981).

Claramente los ensayos del antígeno H-Y son indirectos no sólo porque son ensayos serológicos, sino también porque el antígeno H-Y de la mayor parte de los mamíferos se ensaya con antisuero anti H-Y del ratón. Es preciso desarrollar un ensayo directo del antígeno H-Y.

C. Propiedades Bioquímicas

El antígeno H-Y es una proteína de la superficie de las células macho, con propiedades altamente hidrofóbicas y que está compuesta por subunidades de peso molecular 18.000 (Nagai *et al.*, 1980), las cuales, en ausencia de detergentes, muestran gran tendencia a formar agregados multiméricos de alto peso molecular presumiblemente por formación de enlaces de azufre (Nagai, Ciccicarese y Ohno, 1979). En células Daudi (derivadas también del linforma de Burkitt) el antígeno H-Y demostró una vida media relativamente larga de más de 20 hr. (Nagai *et al.*, 1980).

El antígeno H-Y está relacionado en la membrana celular con la microglobulina Beta 2 (Fellous *et al.*, 1978) y probablemente con uno de los antígenos de histocompatibilidad mayor (Nagai, Ciccicarese y Ohno, 1979), la relación entre el antígeno H-H-Y y los componentes mencionados apoya la hipótesis de que hay un conjunto de proteínas que dirigen organogénesis (Ohno, 1977). In vivo la constitución genética del locus MHC influye profundamente la expresión del antígeno H-Y (Silvers y Billingham, 1967; Wachtel *et al.*, 1973). El determinante antigénico del antígeno H-Y parece ser un polisacárido cuyo azúcar terminal es probablemente galactosa (Shapiro y Erickson, 1981). Esto indica entonces que el antígeno H-Y es una glicoproteína con una molécula de galactosa, terminal.

D. El Receptor del Antígeno H-Y

La organización del testículo no sólo es función del antígeno H-Y sino del receptor específico en la membrana de las células blanco (las células que responden al antígeno H-Y que son afectadas morfológicamente).

La expresión del antígeno H-Y ocurre sólo en los machos pero es universal (es decir todos los tejidos del macho normal expresan (H-Y); la evidencia preliminar indica que solamente células de las gonadas de ambos sexos, y no otros tejidos, son capaces de ligar antígeno H-Y radioactivo (Nagai, Ciccicarese y Ohno, 1979), es decir contienen el receptor H-Y.

Puesto que la expresión del receptor está limitada a un órgano, la expresión universal del antígeno

H-Y no causa problemas; y puesto que la expresión del antígeno H-Y es específico del sexo masculino no hay necesidad teleológica de restringir el receptor al sexo masculino (Muller *et al.*, 1978). El receptor del antígeno H-Y no se ha caracterizado.

La ausencia del receptor del antígeno H-Y es equivalente a la ausencia del antígeno H-Y mismo; es decir, individuos que sintetizan antígeno H-Y pero no expresan el receptor deben ser fenotípicamente idénticos a individuos que no sintetizan antígeno H-Y.

E. Papel Hormonal del Antígeno H-Y

En los Freemartins bovinos y en aves ocurre la formación de anastomosis vasculares coriónicas; en los bovinos se produce masculinización del embrión gemelo femenino y en las aves se produce feminización del embrión gemelo masculino (Short, 1970; Ostertag, 1958).

Se puede inferir que en un estado crítico, del desarrollo de los Freemartins, actúa una hormona que media el cambio fenotípico del sexo. La evidencia indica que esa hormona es muy probablemente el antígeno H-Y (Wachtel *et al.*, 1980c). De esto se colige que el antígeno H-Y efectúa su función actuando como una hormona.

F. Moléculas que Inducen Ovarios

Todo lo que hemos visto parece indicar que mientras la organización del testículo es un evento eminentemente activo, la organización del ovario parece ser un evento pasivo que refleja más la ausencia de la señal que inicia la organización de testículo que la presencia de una molécula que inicia la organización del ovario. Sin embargo, se conocen casos en que no ocurre desarrollo ovárico aún en individuos que son XX (Simpson, 1976).

Utilizando gonadas fetales de quimeras producidas, en ratones, por agregación experimental de células de diferentes embriones (McLaren, 1976), se ha obtenido evidencia de que células XX pueden persuadir algunas veces a células XY para que ocurra organización de ovario; más aún células XY pueden ser persuadidas para que se conviertan en oocitos funcionales (Ford, Evans y Burtenshaw, 1975; Evans, Ford y Lyon, 1977). Parece completamente razonable que la "feminización" de células XY en las quimeras de ratón pueda ser debida a la diseminación de una señal "organizadora de ovario", que es el correspondiente funcional del antígeno H-Y, pero esto no se ha demostrado.

V. LA EVIDENCIA DE QUE EL ANTIGENO H-Y DIRIGE LA ORGANIZACION DE TESTICULO

Aunque la evidencia de que el antígeno H-Y dirige la organización de testículo es muy convincente, la certeza no es absoluta sin embargo, pues

en primer lugar no existe evidencia de la función del antígeno H-Y IN VIVO y en segundo lugar se conocen varios eventos que se pueden interpretar como indicaciones de que el antígeno H-Y no dirige la organización del testículo.

A. La evidencia más directa: el antígeno H-Y dirige la formación de estructuras testiculares IN VITRO.

La evidencia más directa de que el antígeno H-Y dirige la organización de testículo viene de las observaciones experimentales IN VITRO utilizando las técnicas de reasociación celular en cultivo de tejidos originalmente diseñadas por Moscona (1957 y 1974).

Las gonadas disociadas de ratón (Ohno *et al.*, 1978) y de rata (Zezes, Wolf, Gunther y Engel, 1978) neonatos, se reorganizan en estructuras reconociblemente histotípicas; es decir, ovarios disociados se reorganizan en estructuras foliculares mientras que, los testículos disociados se reorganizan en estructuras tubulares. Células de testículo de ratón (Ohno *et al.*, 1978) y de rata (Zezes, Wolf, Gunther y Engel, 1978) expuestas a antisuero anti H-Y se reasocian no en estructuras tubulares sino en estructuras foliculares típicamente ováricas. Estas observaciones se explican de la siguiente manera: la reacción entre el antígeno H-Y sobre la superficie de la célula testicular y el antisuero anti H-Y resulta en la formación de un complejo inmune el cual es fagocitado ("Capped" en inglés) hacia el interior de la célula testicular, dejando en esta manera, las células "desnudas" ("Lysostriped" en inglés) de antígeno H-Y tal que las células desnudas no se reorganizan en estructuras testiculares sino que se reorganizan en estructuras ováricas. Más directamente todavía, el antígeno H-Y excretado al medio por las células Daudi induce a células de ovarios fetales ovinos a formar túnica albuginea y túbulos seminíferos (Nagai, Ciccarese y Ohno, 1979).

Inmediatamente se debe concluir que el antígeno H-Y reacciona de alguna manera con las células gonadales y produce cambios profundos que resultan en la formación de testículos aún en células que son XX.

B. La evidencia circunstancial

Además de la evidencia de la acción de antisuero anti H-Y y de antígeno H-Y IN VITRO, se tiene un cuerpo muy fuerte de evidencia circunstancial que favorece la noción de que el antígeno H-Y es el organizador de testículo.

1. El antígeno H-Y está filogenéticamente muy conservado. Silvers y Yang (1973) primero observaron que células de ratones machos sensibilizan ratones hembras, contra injertos de piel de ratones machos de la misma cepa. Después observaron que cé-

lulas machos pero no células hembras absorbían antisuero anti H-Y del ratón.

Desde que se hicieron esas observaciones originales, varios investigadores han observado que células machos pero no células hembras absorben antisuero anti H-Y del ratón en muchas especies de mamíferos tales como hombre (Wachtel *et al.*, 1974), topos (Nagai y Ohno, 1977) perros (Selden y Wachtel, 1977) y toros (Wachtel *et al.*, 1980).

El antisuero H-Y del ratón es específico para el antígeno H-Y del ratón. Esto quiere decir muy claramente que células masculinas de esas especies de mamíferos mencionadas antes (y probablemente de todas las especies de mamíferos) poseen un componente de la membrana que es por lo menos muy parecido al antígeno H-Y del ratón.

La biología moderna nos ha enseñado que genes de importancia fundamental rara vez sufren cambios evolutivos por mutación por lo menos en regiones que controlan los sitios activos del producto. Así que la conservación de la estructura antigénica del antígeno H-Y a través de varios millones de años de evolución, indica la conservación de una función vital para las especies de mamíferos.

La conservación de la estructura (antigénica) del antígeno H-Y no se limita a mamíferos sino que se extiende a aves, teleostos y anfibios, (Wachtel, *et al.*, 1975).

En aves las hembras son heterogaméticas, mientras que en teleostos y anfibios existen especies en las cuales las hembras son heterogaméticas y especies en las cuales los machos lo son. En todos los casos el género heterogamético es H-Y positivo.

Así pues que, en mamíferos y en otras especies el macho hereda el modo heterogamético de diferenciación sexual y también hereda la expresión del antígeno H-Y, mientras que en otras especies la hembra hereda el modo heterogamético de diferenciación sexual y la expresión del antígeno H-Y. Esto correlaciona el antígeno H-Y con el cromosoma Y.

La correlación del antígeno H-Y con el cromosoma Y (o W en aves) quiere decir que la función está relacionada con el sexo, y quizá sea el producto del gene que controla la organización del testículo.

2. El antígeno H-Y está presente en todos los tejidos de los machos. La expresión del antígeno H-Y no solamente tiene la propiedad de estar confinada a los machos sino que en los machos todos los tejidos expresan al antígeno H-Y (Nagai, Ciccarese y Ohno, 1979; Koo *et al.*, 1981). Esta observación puede quizá tomarse como evidencia circunstancial de que el antígeno H-Y dirige la organogénesis de testículo, además indica claramente que los genes del antígeno H-Y no sufren regulación durante el desarrollo.

3. El antígeno H-Y en el síndrome de feminización testicular. En los individuos con síndrome de feminización testicular, las gonadas embrionarias se organizan en testículo bajo la influencia del cromosoma Y; estos individuos no desarrollan ni útero, ni tubos de falopio ni la porción cefálica de la vagina (esto indica definitivamente la función de un producto testicular: el factor supresivo de Müller), y todas las demás características sexuales son femeninas (Wilson y McDonald, 1978). El defecto bioquímico en estos individuos consiste en la ausencia de la proteína (del núcleo-citosol) que actúa como receptor del andrógeno.

En otras palabras, las células de Leydig sintetizan testosterona mientras que las células de Sertoli producen el factor supresivo de Müller pero el desarrollo sexual es femenino debido a la ausencia total de respuesta al andrógeno que resulta de una mutación (en el cromosoma X) en el gene que controla el receptor androgénico. Este síndrome se llama hoy síndrome de resistencia al andrógeno y representa un error en la diferenciación sexual secundaria.

Si la expresión del antígeno H-Y fuese una característica sexual secundaria (de los machos) el antígeno H-Y debería estar ausente en individuos con síndrome de resistencia al andrógeno. Por otra parte, si el antígeno H-Y fuese el mediador de la determinación sexual primaria (gonadal), el antígeno H-Y debería estar presente en individuos con el síndrome de resistencia al andrógeno. Esto se ha demostrado en todos los individuos con resistencia al andrógeno (Koo, Wachtel y Saenger, 1977).

Una de las enzimas que se requieren para la síntesis de la testosterona es la enzima 17α - hidroxilasa. La deficiencia de esta enzima en embriones XY resulta en otra forma de pseudohermafroditismo el cual se caracteriza por la ambigüedad de la genitalia externa (e. g., escroto bífido, pene rudimentario, hipospadias de tercer grado, vagina pequeña, testículos presentes bilateralmente, útero y tubos de falopio ausentes; New, 1970).

La deficiencia de 17α - hidroxilasa nos presenta otra oportunidad para determinar si la expresión del antígeno H-Y está asociada con desarrollo de testículos en ausencia de función androgénica normal. Las observaciones experimentales indican que el antiguo H-Y se detecta en pacientes con esta condición. Esto implica directamente que la expresión de H-Y en la membrana celular no depende ni de ligamento ni de síntesis de la testosterona (Wachtel, Koo y Breg, 1975); Koo, Wachtel y Kruppen-Brown, 1977) y sugiere indirectamente que el antígeno H-Y tiene función en la determinación sexual primaria.

4. El antígeno H-Y en machos XX. Machos humanos con cariotipo 46, XX (femenino) son poco comunes (Simpson, 1976). Estos machos se parecen a pacientes 47,XXY (Klinefelter) con testícu-

los pequeños y aspermatogénicos. La ausencia de células espermáticas maduras puede ser debida a falla meiótica que ocurre por la presencia de un cromosoma X funcional, pues en el espermatocito primario normal el único cromosoma X presente está inactivo (Monesi 1965).

El antígeno H-Y se ha determinado todos los machos XX ensayados (Wachtel y Ohno, 1979, Wachtel, 1979) lo cual sugiere la función del antígeno H-Y en la determinación sexual primaria.

5. El antígeno H-Y en hermafroditas verdaderos. El hermafroditismo es más que un mito; Van Nierk (1974) lista 302 casos documentados desde 1899. El hermafrodita verdadero se define como un individuo que posee tanto tejido testicular como tejido ovárico y generalmente caracterizado por ambigüedad (existe gran variación entre diversas descripciones clínicas) de los genitales externos. El cariotipo más común es 46,XX. La presencia de tejido testicular implica la presencia del antígeno H-Y si el antígeno H-Y funciona en la organización del testículo. Todos los casos de hermafroditismo verdadero son antígeno H-Y positivos (Saenger, Levine y Wachtel, 1976).

La ocurrencia de hermafroditismo verdadero permite predecir otro evento; si el antígeno H-Y es el organizador de testículo, la ocurrencia simultánea de estructuras testiculares y ováricas debe implicar que un ovotestículo es un tejido mosaico H-Y⁺ /H-Y. Las células de las proporciones testiculares y ováricas de un individuo con hermafroditismo verdadero fueron cultivadas separadamente, antígeno H-Y se detectó en la porción testicular pero no en la porción ovárica (Winters, Wachtel y White, 1979). La evidencia de los hermafroditas verdaderos también sugiere el papel del antígeno H-Y como organizador de testículo.

6. La proporción sexual en *Myopus schisticolor*: hembras XY. el *Myopus schisticolor* muestra una preponderancia muy grande de hembras. La proporción es aproximadamente 4:1 (Gropp, Winhinz y Frank 1976). El hecho interesante es que la mitad de esas hembras tienen cariotipo masculino 32,XY (Fredga Gropp y Winking, 1976). A pesar de la presencia del cromosoma Y intacto, las gonadas se diferencian como ovarios normales y producen hembras fértiles las cuales tienen progenie femenina solamente (XX y XY). Esta forma de reversión sexual no se debe a mutación del cromosoma Y. El cromosoma Y es eliminado de las células germinales (no disyunción doble) por lo tanto las hembras XY sólo producen ova X. Esta condición se hereda ligada a X lo cual sugiere que en esta especie genes en X "apagan" los genes que determinan testículo lo cual produce reversión sexual (Fredga Gropp y Winking, 1976). Lo más importante en este contexto es la observación de que todos los machos de *Myopus schisticolor* son

H-Y⁺ mientras que todas las hembras (XX y XY son H-Y (Wachtel, Koo y Ohno, 1976).

En resumen: (a) La ausencia de antígeno H-Y causa que las células testiculares se reorganicen en estructuras foliculares (b) la presencia del antígeno H-Y causa que las células ováricas se reorganicen en estructuras tubulares, (c) El antígeno H-Y es una estructura que muestra una conservación filogenética profunda, (d) la herencia del modo heterogamético de dimorfismo sexual se correlaciona directamente con la herencia del antígeno H-Y. (e) El antígeno H-Y se encuentra en todos los tejidos masculinos, y (f) Se encuentra en todos los machos sin tener en cuenta su constitución cromosómica. Todas estas líneas de evidencia consideradas juntas sugieren muy fuertemente que el antígeno H-Y es la molécula organizadora de testículo que define la determinación sexual primaria.

C. La evidencia en contra

En las páginas anteriores consideramos que la evidencia de que el antígeno H-Y es el organizador de testículo es bastante convincente; sin embargo hay contra-ejemplos reportados en la literatura que tenemos que explicar, a saber; la presencia del antígeno H-Y en hembras con disgenesia gonadal XY y XO.

En hembras mamíferas, el segundo cromosoma X no es activo (Lyon, 1961) tal que se espera a priori que individuos con la constitución cromosómica 45,XO sean normales, sin embargo, estos individuos son hembras con los estigmas del síndrome de Turner que incluyen esterilidad con la presencia de gonadas fibrosas (disgenesia gonadal). Se han descrito otras formas de disgenesia gonadal en individuos con cariotipo 46,XY; funcionalmente la gonada de estos individuos es idéntica a la gonada 45,XO.

La disgenesia gonadal en hembras XY y XO puede explicarse más simplemente recordando que se necesitan dos cromosomas X activos para que las células germinales sean viables y que el desarrollo del ovario necesita de las células germinales viables (Short, 1978).

Las observaciones más importantes en este contexto son que muchos de los individuos con disgenesia gonadal XY y XO son antígeno H-Y⁺ (Wolf, et al., 1980a; 1980b; Wolf, 1979; Wachtel et al., 1980a y 1980b; Bernstein, Koo y Wachtel, 1980). Estas observaciones introducen una paradoja que tiene que ser resuelta experimentalmente. Si el antígeno H-Y es la molécula organizadora del testículo, como se puede explicar la ausencia de diferenciación testicular en individuos con fenotipos celulares contradictorios. Las posibles soluciones se discutirán más adelante cuando se hable de la genética de la determinación sexual primaria.

VI. LA GENÉTICA DE LA DETERMINACIÓN SEXUAL PRIMARIA

Como se había establecido antes, la diferencia cariotípica entre machos y hembras normales es que el macho tiene un cromosoma Y y un sólo X, mientras que las hembras tienen dos cromosomas X y ningún Y. El paralelo entre el dimorfismo sexual y el dimorfismo cromosómico es prácticamente irrompible. Se tiene que concluir que existen genes, reguladores o estructurales, en los cromosomas sexuales, que gobiernan la determinación sexual.

Durante muchos años no se supo si el factor determinante de la diferenciación gonadal residía en la dosis del cromosoma X o en el cromosoma Y. Sin embargo, en 1959 se descubrieron: ratones XO inequívocamente hembras (Welshons y Russell, 1959, Russell, Russell y Gower, 1959), individuos humanos XO también inequívocamente hembras (Ford *et al.*, 1959), individuos humanos XXY que eran inequívocamente machos (Jacobs y Strong, 1959). Poco después se describieron ratones machos XXY (McLaren, 1961) y hombres con hasta cuatro cromosomas X y uno Y (Jacobs y Ross, 1966).

Las anteriores observaciones indican claramente que el cromosoma Y es portador de genes (estructurales o reguladores) que dirigen la formación del testículo. Como consecuencia el estudio de anomalías del cromosoma Y ha recibido mucha atención. Un resumen muy completo que cubre las anomalías del cromosoma Y ha recibido mucha atención. de aparecer (Davis, 1981).

A. El papel del brazo corto de Y.

La mayor parte de los análisis de anomalías estructurales del cromosoma Y sugieron que el brazo corto de Y (Yp) porta genes que dirigen la formación de testículos (Davis, 1981).

Isocromosomas para el brazo largo de Y (iYq) se han correlacionado con ausencia del desarrollo testicular (Jacobs y Ross, 1966; Book *et al.*, 1977; Koo, Wachtel y Krupen-Brown, 1977).

Delección simple del brazo corto (Yp) resulta un fenotipo femenino con gonadas fibrosas características de individuos con cariotipo XO (Rosenfeld *et al.*, 1979). Por otra parte delección del brazo largo (Yq) con el brazo corto (Yp) intacto resulta en la presencia de tejido testicular (Meisner, Inhorn, 1972, Yunis *et al.*, 1977 a; 1977b).

Se conoce también por lo menos un ejemplo de un macho XK uno de cuyos cromosomas X parece haber recibido una cantidad de material cromosómico equivalente al brazo corto (quinocrina-negativo) de Y (Madam, 1976) y con bandeado de cromosomas se ha podido detectar la presencia putativa

de material de Yp en los cromosomas X de algunos machos XX (Evans *et al.*, 1979).

Todos estos datos apoyan la noción de que el brazo Yp porta genes que controlan la organización de testículo. Sin embargo otros estudios de individuos con cromosoma Y anormales complican la situación.

B. El papel de brazo largo del cromosoma Y

Existe alguna evidencia de que información en el brazo largo de Y es importante en la determinación sexual primaria. Se ha descrito un paciente cuyo Yq fue translocado al cromosoma 8, sin material detectable de Yp, y cuyas gonadas tenían tejido testicular (Buhler *et al.*, 1971; Buhler, 1980). Otro ejemplo consiste de un mosaico cuyo cromosoma Y es sólo material del brazo largo, pero cuyas gonadas contenían tejido testicular (Ferguson-Smith *et al.*, 1969). También se conoce un paciente con un isocromosoma de Yp, es decir, sin información genética de Yq, y sin diferenciación testicular (Siebers *et al.*, 1973).

La asociación del brazo corto del cromosoma Y con determinación testicular no es invariable; podría uno argüir que la resolución analítica de los cromosomas no es lo suficientemente alta y que las contradicciones aparentes no son contradicciones sino problemas de tecnología que podrían resolverse en el futuro.

C. Determinación Genética del Antígeno H-Y

Uno podría esperar a priori que el descubrimiento del antígeno H-Y y el desarrollo de ensayos serológicos para medirlo llevaría a la solución de las discrepancias mencionadas.

Con la identificación del producto del gene que determina testículo, el problema se reduce al problema simple de mapear un sólo gene. Sin embargo se presentan ciertas dificultades; mientras el ensayo serológico tiene más resolución que el ensayo histológico, es también menos directo; para que el antígeno H-Y efectúe su función tiene que interactuar con las células blanco. Los esfuerzos para mapear el locus H-Y se basan en la aplicación del ensayo serológico a pacientes con anomalías cariotípicas similares a las descritas antes.

1. Cariotipo XYY

Pacientes con cariotipo XYY expresan más antígeno H-Y aue individuos XY (Wachtel *et al.*, 1975). Esta sola observación lleva a conjeturar que los genes estructurales del antígeno H-Y están en el cromosoma Y, pues esta es la explicación más simple de la dosis elevada de antígeno H-Y. Modelos alternativos (ligamento a X, ligamento a autosomas) sobre el modo de herencia del antígeno H-Y tienen que explicar esta observación y estos modelos pue-

den aducir tres argumentos: (a) el ensayo serológico del antígeno H-Y está sujeto a muchas variables y es difícil de cuantificar, (b) lo que se reconoce serológicamente como antígeno H-Y es en realidad un conjunto de especificaciones antigénicas discretas, cada una controlada por un gene estructural y activada por un regulador específico y (c) Polisomía en Y causa por razones desconocidas (e.g. amplificación, recombinación), polisomía en las partes de cromosomas autosómicos o de X que contienen los genes estructurales del antígeno H-Y.

2. Evidencia de Yp y de Yq

Ensayos del antígeno H-Y en personas con anomalías del cromosoma Y, en los cuales se correlaciona expresión o no expresión del antígeno H-Y con presencia o ausencia de porciones particulares del cromosoma Y, permitieron la identificación tentativa de dos loci H-Y; uno en Yp (en 16 pacientes) y uno en Yq (en un paciente). Ambos loci se mapearon cerca del centrómero (Koo *et al.*, 1977). La dificultad reside en que la presencia de material genético originado en Yq no puede descartarse definitivamente. Si existe un locus en Yq, este locus no ocurre en todos los individuos. El locus H-Y en Yq ha sido explicado proponiendo que el cromosoma Y sufre inversiones pericéntricas, pero no existen observaciones ineludibles que apoyen esta posibilidad mecanística.

Estudios con el antígeno H-Y de la misma manera que los estudios testiculares, correlacionan ambos brazos del cromosoma Y con determinación testicular y no han generado información incontrovertible acerca de la localización subcromosómica de esta información genética.

3. Hembras XY

Los problemas que hemos mencionado hasta ahora son amplificados por informes de hembras XY con cromosomas Y aparentemente normales pero con expresión variable del antígeno H-Y. En una serie, tres personas fueron antígeno H-Y negativas y nueve fueron antígeno H-Y positivas (Wolf, 1979), en otra serie cinco personas fueron antígeno H-Y positivas (Wachtel *et al.*, 1980); en otra serie cuatro personas fueron antígeno H-Y negativas y siete fueron antígeno H-Y positivas (Dorus, Amaro-se y Koo, 1977).

La paradoja biológica se resuelve asumiendo ausencia funcional del antígeno H-Y. El concepto de ausencia funcional se deriva de la evidencia de que la diferenciación testicular y en manera general la organogénesis, requiere la diseminación de una señal inductiva. Si tal señal (e.g., el antígeno H-Y) es un evento indispensable, la inability de recibir y procesar la señal (e.g., ausencia de receptores para el antígeno H-Y) es absolutamente equivalente a la ausencia de la señal. Los casos de hembras XY antígeno H-Y negativas se pueden entonces explicar

tentativamente como debidas a mutaciones estructurales o reguladoras del antígeno H-Y y los casos de hembras XY antígeno H-Y positivas (además estas observaciones representan evidencia de que los genes estructurales del antígeno H-Y están en el cromosoma Y), se pueden explicar postulando un defecto en el receptor del antígeno H-Y como resultado del cual las células blanco (de la gonada primitiva) son incapaces de responder al antígeno H-Y, tal que el desarrollo sexual es femenino y los ovarios son disgenéticos debido a la ausencia del segundo cromosoma X de los oocitos.

La presencia de estructuras tubulares en las gonadas de un paciente con disgenesia gonadal XY, lo cual indica diferenciación masculina incipiente (Wolman *et al.*, 1980), sugiere alternativamente un error en otro paso de la secuencia morfogenética normal.

Otros casos de ausencia de antígeno H-Y en presencia de un cromosoma Y normal se pueden explicar postulando regulación anormal del gene H-Y, por una mutación en el locus H-Y, por una mutación que cambia la estructura de la membrana tal que el antígeno H-Y no puede anclarse apropiadamente o por un gene ligado a X que suprime la expresión del gene H-Y. Esta última explicación encuentra cierto favor en la identificación de hembras XY con un cromosoma X con duplicación de una porción del brazo Xp (Bernstein, Koo y Wachtel, 1980). El problema principal de estos postulados es que genes supresores son hioptéticos.

Una posibilidad importante es que el antígeno H-Y no sea el producto del gene que determina testículo, en cuyo caso los ejemplos paradójicos y contradictorios recibirían explicaciones simples y directas. Alternativamente, la reversión sexual XY podría resultar de la pérdida física de copias del gene H-Y del cromosoma Y (e.g., deleción, translocación, etc.). En este caso, la pérdida no tendría que ser detectable citogenéticamente y podría variar desde unas pocas copias (niveles intermedios del antígeno H-Y) hasta pérdida de todas las copias (antígeno H-Y negativo). Este mecanismo asume, prácticamente sin evidencia, que para que ocurra organización del testículo se requiere un nivel umbral del antígeno H-Y (Wachtel y Ohno, 1979).

4. Casos de herencia anormal de los genes H-Y (hembras XO machos XX, hermafroditismo verdadero XX).

Las observaciones discrepantes discutidas antes ilustran las dificultades que se han presentado para mapear el gene que determina el testículo. Los casos contradictorios de hembras XY se discuten como casos de regulación anormal de la síntesis del antígeno H-Y en referencia a los dos modelos alternativos de herencia de los genes H-Y.

Los casos que se discutirán a continuación a saber, hembras XO, antígeno H-Y positivas, machos

XX y hermafroditas verdaderos XX, se discutirán como casos de herencia anormal de los genes estructurales del antígeno H-Y de acuerdo con el modelo original; como casos de herencia anormal de los genes reguladores del H-Y de acuerdo con el modelo alternativo.

Individuos humanos XO, son antígeno H-Y positivos (Wolf *et al.*, 1980b); más precisamente, la presencia de antígeno H-Y detectable serológicamente está asociada con la pérdida del segmento Xp223 (Wolf *et al.*, 1980a). La presencia del antígeno H-Y en hembras XO ha sido confirmada en ratones (Engel, Klemme y Ebrecht, 1981).

Puesto que citogenéticamente no se puede detectar la presencia de material originado en el cromosoma Y, como se esperaría en el modelo original, se deben ofrecer explicaciones alternativas; la explicación más simple sería que el cromosoma X (segmento Xp223) contiene un gene represor del gene estructural H-Y portado por un autosoma; en caso de monosomía de este represor (casos XO y XY) el gene autosómico no es inactivado por el represor, es activo y el individuo es H-Y positivo.

El cromosoma Y contribuye con un represor del represor en X tal que individuos XY son antígeno H-Y positivos (Wolf *et al.*, 1980a; 1980b). Este represor del represor es innecesario pues individuos XY son monosómicos en X.

Este modelo explica la presencia de antígeno H-Y en individuos XO pero no explica la presencia del antígeno H-Y en individuos XXY, XXXY, etc; además no explica los datos cuantitativos del antígeno H-Y en individuos polisómicos para Y. Además, de no explicar esos eventos, este modelo introduce eventos regulatorios de los cuales no hay evidencia ni experimental ni fenomenológica y además asume que el represor en X no es inactivado junto con el resto del cromosoma.

Tenemos que recordar sin embargo que el modelo original requiere translocación (de Y a otro cromosoma) de los genes estructurales del antígeno H-Y para explicar la presencia de antígeno H-Y en individuos XO, aunque no existe evidencia citogenética de tales translocaciones tal mecanismo no se puede rechazar por el momento.

El modelo original de la herencia del antígeno H-Y explicaría la presencia de hombres XX como debidos a una translocación de un número crítico mínimo de genes H-Y de Y a X o a autosoma o a adquisición por medio de eventos mutacionales de la función H-Y. Si por otra parte se asume que los genes ligados a Y (modelo alternativo) son genes reguladores, entonces los hombres XX pueden ser debidos a mutaciones constitutivas de genes estructurales preexistentes ligados a X o a un autosoma, es decir, mutaciones que "encienden" genes estructurales en ausencia de las señales reguladoras norma-

les de Y, en este caso es concebible que la expresión reducida de H-Y podría representar síntesis constitutiva subnormal del antígeno H-Y.

En las cabras (*Capra hircus*) existe un gene autosómico dominante P que causa ausencia de cuernos. Cabras heterocigóticas (P/+) nacen sin cuernos pero son sexualmente normales. Cabras homocigóticas XX(P/P) desarrollan testículos u ovo-testículos con fenotipos sexuales que varían desde hembras hermafroditas hasta machos casi normales (Basrur y Kanagawa, 1969; Hammerton, Dickson y Pollard, 1969; Soller, Padeh y Wysoki, 1969). Antígeno H-Y fue detectado en cabras intersexuales XX(P/P), pero no en cabras XX(P/+) (Wachtel, Basrur y Koo, 1978). Parece claro que ocurre una acumulación de factores heredados de ambos padres, en asociación con los genes P, que puede inducir varios grados de desarrollo testicular. De esto se colige que las cabras hembras pueden portar genes que funcionan en desarrollo testicular sin afectarles la fertilidad.

Recientemente se ha descrito un pedigree humano de una familia con tres machos XX con un antepasado común nacido en Finlandia en 1664. Los tres casos se explican en una base genética común, debida a genes autosómicos recesivos (De la Chapelle, 1972; De la Chapelle, Koo y Wachtel, 1978). La diferenciación testicular en estos tres hombres XX es análoga a la diferenciación testicular en cabras XX (P/P).

Los machos XX mejor conocidos son los ratones XXS σ r (Cattanach *et al.*, 1971) en los cuales la reversión sexual se debe a una mutación autosómica dominante (S σ r), sin evidencia de material originado del cromosoma Y en las células de machos XXS σ r.

Tenemos entonces dos tipos generales de reversión sexual, es decir dos tipos generales de machos XX, a saber: cabros y hombres (incluyendo en ambos casos los hermafroditas verdaderos) en los cuales la reversión sexual ocurre por medio de un mecanismo genético recesivo, y los ratones en los cuales la reversión sexual ocurre por medio de un mecanismo genético autosómico dominante.

El modelo original explica los dos tipos de machos XX, proponiendo que los genes estructurales del antígeno H-Y están en el cromosoma Y en copias múltiples y que un número umbral de copias se necesitan para inducir testículo, tal que en los hombres y cabros XX ha ocurrido una translocación, no detectable citogenéticamente, de un número subumbral de copias, resultando en un modo recesivo de herencia, mientras en el ratón ha ocurrido una translocación de un número supraumbral de copias del gene H-Y, resultando en un modo dominante de herencia (Ohno, 1979). Los modelos alternativos de herencia de H-Y tienen dificultades en explicar los dos tipos fundamentales de reversión sexual XX.

5. Resumen

No se ha podido establecer con convicción el modo de herencia del antígeno H-Y. La mayor parte de la evidencia tiende a sugerir que el brazo corto de Y contiene los genes importantes, pero no se puede ignorar la evidencia que sugiere que el brazo largo de Y, autosomas, y aún X participan en estos eventos.

Tendremos que esperar a que la biología molecular de los cromosomas humanos mejore considerablemente para que estos eventos se puedan estudiar a nivel de la secuencia del ADN.

VII. CONCLUSIONES

1. Evidencia sólida nos lleva a pensar que el antígeno H-Y es la molécula que dirige la organogénesis de testículos. La evidencia es en su mayor parte circunstancial pero tomada en conjunto es muy persuasiva. La evidencia en contra de esta noción quizá podrá ser explicada en el futuro próximo.

2. La evidencia de que en cromosoma Y contiene los genes del antígeno H-Y es menos convincente

La posibilidad de que estos genes estén en otro cromosoma es real pero entonces se introducen pasos regulatorios que no resisten la cuchilla de Oham. No existe evidencia de regulación del antígeno H-Y ni siquiera durante el desarrollo. Uno puede arguir en bases teleológicas que una función tan importante para la especie como es el mantenimiento del dimorfismo sexual debería estar en la jerarquía más alta de regulación: la constitutividad de la función. Este tipo de regulación solo es posible si los genes estructurales del antígeno H-Y están en Y.

3. No es definitivo cual (es) parte (s) de Y (o de otros cromosomas) funcionan en la determinación sexual primaria. Gran parte de la evidencia indica que es la región pericéntrica del brazo corto de Y. Estas incógnitas solo podrán ser despejadas cuando podamos leer e interpretar las secuencias nucleotídicas de todos los tipos de genes que participan en la ontogenia de la organogénesis sexual.

Agradecimientos:

Mis sinceras y sentidas gracias a mis colegas Dr. Hugo F Hoenigsberg y Dr. E. Yunis por sus contribuciones críticas y a E. Mojica y B. Junco por haber pasado a máquina estemanscrito muchas veces.

BIBLIOGRAFIA

- BASRUR, P. K., y H. Kanagawa. (1969). Anatomic and Cytogenetic Studies on 19 Hornless Goats with Sexual Disorders, *Ann. Genet Select. Anim. 1: 349.*
- BERNSTEIN, R., G. C. Koo y S. S. Wachtel. (1980). Abnormality of the X Chromosome in Human 46,XY Female Siblings with Dysgenetic Ovaries. *Science 207: 768.*
- BOOK, J. A., B. E. Eilon, I. Halbrecht I. L. Komlos y F. Shabtay (1973). Isochromosome Y (46, X, i (Yq)) and Female Phenotype. *Clin. Genet. 4: 410.*
- BUHLER, E. M. (1980). A Synopsis of the Human Y- Chromosome. *Hum. Genet. 55: 145.*
- BUHLER E. M., H. Muller y G. R. Stalder. (1971). A Strongly Fluorescing Abnormal Chromosome in a Malformed Child. *Humangenetik 12: 64.*
- CATTANACH. B. M., C. E. Pollard, y S. G. Hawkes. (1971). Sex-Reversed Mice. XX and XO Males. *Cytogenetics 10: 318.*
- DAVIS, R. M. (1981). Localization of Male Determining Factors in Man: A Thorough Review of Structural Anomalies of the Y Chromosome. *J. Med. Genet. 18: 161.*
- DE LA CHAPELLE, A. (1972). Analytical Review: Nature and Origin of Males with XX Sex Chromosomes. *Am. J. Hum. Genet. 24: 71.*
- DE LA CHAPELLE, A., G. C. Koo y S. S. Wachtel. (1978). Recessive Sex Determining Genes in Human XX Male Syndrome. *Cell 15: 837.*
- DORUS, G., A. P. Amarose, G. C. Koo y S. S. Wachtel. (1977). Clinical Pathologic and Genetic Findings in a Case of 46,XY Pure Gonadal Dysgenesis (Swyer's Syndrome). II. Presence of H-Y Antigen. *Am. J. Obstet. Gynecol. 127: 829.*
- EICHWALD, E. J. y C. R. Silmsler. (1955). Communication (sin título) *Transpl. Bull. 2: 148.*
- ENGEL, W., B. Klemme y A. Ebrecht. (1981). Serological evidence for H-Y Antigen in XO- Female Mice. *Hum. Genet. 57: 68.*
- EVANS, H. J. Buckton, G. Spowart y A. D. Carothers. (1979). Heteromorphic X Chromosomes in 46, XX Males: Evidence for the Involvement of X-Y Interchange. *Hum. Genet. 49: 11.*
- EVANS, E. P., C. E. Ford y M. F. Lyon. (1977). Direct Evidence of the Capacity of the XY Germ Cell in the Mouse to Become an Oocyte. *Nature. 267: 430.*
- FELLOUS, M., E. Gunther, R. Kemler, J. Wiels, R. Berger, J. L. Guenet, H. Jakob y F. Jacob. (1978). Association of the H-Y Male Antigen with Beta- 2 - Microglobulin on Human Lymphoid and Differentiated Mouse Teratocarcinoma Cell Lines. *J. Exp. Med. 148: 58.*
- FERGUSON - SMITH, M. A., E. Boyd, M. E. Ferguson - Smith, J. G. Pritchard, A. F. M. Yusuf y B. Gray (1969). Isochromosome for Long Arm of Y Chromosome in Patient with Turner's Syndrome and Sex Chromosome Mosaicism (45, X/46, XY qi). *J. Med. Genet 6: 422.*
- FORD, C. E., E. P. Evans y M. D. Burtenshaw, (1975). A Functional Sex - Reversed Oocyte in the Mouse. *Proc. Roy Soc. Lond. 190: 187.*
- FORD L. E., K. W. Jones, P. E. Polani, J. C. de Almeida y J. H. Bridges (1959). A Sex Chromosome Anomaly in a Case of Gonadal Dysgenesis (Turner's Syndrome). *Lancet i: 711.*
- FREDGA, K., A. Gropp. H. Winking y F. Frank (1976). Fertile XX and XY- Type Females in the Wood Lemming *Myopus schisticolor* *Nature 261: 225.*

- GOLDBERG, E. H., E. A. Boyse, D. Bennett, M. Scheid and E. A. Carswell, (1971). Serological Demonstration of H-Y Antigen on Mouse Sperm. *Nature* 232: 478.
- GROPP, A., H. Winking and F. Frank. (1976). Sex - Chromosome Aberrations in Wood Lemmings. *Cytogenet. Cell Genet.* 17: 343.
- HAMERTON, J. L., J. M. Dickson y C. E., Pollard. (1969). Genetic Intersexuality in Goats. *J. Reprod. Fertil (Suppl 7):* 25.
- JACOBS, P. A., y A. Ross (1966). Structural Abnormalities of the Y Chromosome in Man. *Nature* 210: 352.
- JACOBS, P. A. y J. A. Strong. (1959). A Case of Human Intersexuality Having a Possible XXY Sex - Determining Mechanism. *Nature* 183: 302.
- JIRASEK, J. E. (1977a). Morphogenesis of the Genital System of the Human. En: "Morphogenesis and Malformation of the Genital System". Birth Defects: Original Article Series, Blandau, R. J. y D. Bergsma (Eds.) vol 13: 13 - 39. The National Foundation, White Plains.
- JIRASEK, J. E. (1977b). Principles of Reproductive Embryology. En: "Disorders of Sexual Differentiation". Simpson, J. E. (Ed.) pp 51 -110. Academic Press, New York.
- JOSSO, N., J. y Picard y D. Tran. (1977). The Antimullerian Hormone. En: "Morphogenesis and Malformation of the Genital System". Birth Defects Original Article Series, Blandau, R. J. y D. Bergsma (Eds.) vol 13: 59 - 74. The National Foundation, White Plains.
- JOST, A. (1972). Hormonal Factors in the Sex Differentiation of the Mammalian Foetus. *Johns Hopkins Med. J.* 130: 38.
- KOO, G. G., C. W. Stackpole, E. A. Boyse, U. Hammerling y M. Lardis. (1973). Topographical Location of the H-Y Antigen on Mouse Spermatoza by Immunoelectronmicroscopy. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 70: 1502.
- KOO, G. C., S. S. Wachtel, K. Krupen-Brown, L. R. Mittl, W. R. Breg, M. M. Genel, I. M. Rosenthal, D. E. Borgeonkar, D. A. Miller, R. Trantravahi, R. Schrick, B. F. Erlanger, y O. J. Miller. (1977). Mapping the Locus of the H-Y Gene on the Human Y Chromosome. *Science* 198: 940.
- KOO, G. G., S. S. Wachtel, P. S. Saenger, M. I. New, H. Dosik, A. P. Amarose, H. Dorus, y V. Ventruoto. (1977b). H - Y Antigen. Expression in Human Subjects with the Testicular Feminization Syndrome. *Science* 196: 655.
- KOO, G. G., T. Nobuhiko, R. Chaganti y U. Hammerling. (1981). Application of Monoclonal Anti H - Y Antibody for Human H-Y Typing. *Hum. Genet.* 57: 64.
- KRICO, C. J. y E. H. Goldberg. (1976). Detection of H - Y (male) Antigen on 8 - Cell Mouse Embryos. *Science* 193: 1134.
- LONGBERG, N. C., J. Eriendsson, J. Nielsen, P. Saldaña-García y J. Phillip. (1977). Isochromosome Yp in a Woman with Atypical Turner's Syndrome. *Hum. Genet.* 38: 49.
- LYON, M.F. (1961). Gene Action in the Mammalian X Chromosome of the Mouse (*Mus musculus* L.) *Nature* 190: 372.
- MADAN, K. (1976). Chromosome Measurements on an XX^Y male. *Hum. Genet.* 32: 141.
- MC CLUNG, C. E. (1902). The Accessory Chromosome-Sex Determinant? *Biol. Bull.* 3: 42.
- MACLAREN, A. (1976) Mammalian Chimeras. Cambridge University Press. New York.
- MEISNER L. F. y S. L. Inhorn, (1972). Normal Male Development with Y Chromosome Long Arm Deletion (Yq). *J. Med. Genet.* 9: 373.
- MONESI, V. (1965). Differential Rates of Ribonucleic Acid Synthesis in the Autosomes and Sex Chromosomes in the Mouse. *Chromosome* 17: 11.
- MOSCONA, A. A. (1957). The Development *in vitro* of Chimeric Aggregates of Dissociated Embryonic Chick and Mouse Cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 43: 184.
- MOSCONA, A.A. (1974) Surface Specification of Embryonic Cells, Lectin Receptors, Cell Recognition, and Specific Cell Ligands, En: "The Cell Surface in Development". A.A. Moscona (Ed.) pp. 67-99 J. Wiley and Sons. New York.
- MULLER, U.I. Aschmoneit, M. T. Zenzes, y U. Wolf. (1978). Binding Studies of H-Y Antigen in Rat Tissues. Indications for a Gonad-Specific Receptor. *Hum Genet.* 43: 151.
- NAGAI, Y., S. Ciccarese y S. Ohno. (1979). The Identification of Human H-Y Antigen and Testicular Transformation Induced by its Interaction with the Receptor Site of Bovine Fetal Ovarian Cells. *Differentiation* 13: 155.
- NAGAI, Y., H. Iwata, D.D. Stapleton., R. C. Smith, S. Ohno. (1980). Testis Organizing H-Y Antigen of Man May Lose its Receptor Binding Activity While Retaining Antigenic Determinants In: "Testicular Development, Structure, and Function". Steinberger, A. y E. Steinberger (Eds.) pp 41-47. Raven Press, New York.
- NAGAI, Y., y S. Ohno. (1977). Testis-Determining H-Y Antigen in XO Males of the Mole-Vole (*Ellobius lutescens*). *Cell* 10: 729.
- NEW, M. I. (1970). Male Pseudohermaphroditism Due to 17 α -Hydroxylase Deficiency. *J. Clin. Invest.* 49: 1930.
- OHNO, S. (1977). The Original Function of MHC Antigens as the General Plasma Membrane Anchorage Site of Organogenesis-Directing Proteins. *Immunol. Rev.* 33: 59.
- OHNO, S. (1979). Mayor Sex-Determining Genes. Springer-Verlag, Berlin.
- OHNO, S., Y NAGAI, S. Ciccarese. (1978). Testicular Cells Lysostriped of H-Y Antigen Organize Ovarian Follicle-like Aggregates. *Cytogenet Cell, Genet.* 20: 351.
- ROSENFELD, R. G. L. Luzzati y R. L. Hintz, (1979). Sexual and Somatic Determinant of the Human Y Chromosome. Studies in a 46, XYP Phenotypic Female. *Am. J. Hum. Genet.* 31: 458.
- RUSSELL, W. L. L. B. Russell and J. S. Gower. (1959). Exceptional Inheritance of a Sex-Linked in the Mouse Explained on the Basis that the X/O Sex-Chromosome Constitution is Female. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 45: 554.
- SAENGER, P., L. S. Levine y S.S. Wachtel. (1976). Presence of H-Y Antigen and Testis in 46, XX True Hermaphroditism: Evidence For Y-Chromosomal Function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43: 1234.
- SCHEID, M., E. A. Boyse, E. A. Carswell y L. J. Old, (1972). Serologically Demonstrable Alloantigens of Mouse Epidermal Cell. *J. Exp. Med.* 135: 938.
- SELDEN, J. R. y S. S. Wachtel. (1977). H-Y Antigen in the Dog. *Transplantation*, 24: 298.
- SHAPIRO, M., y R. P. Erickson. (1981). Evidence That the Serological Determinant of H-Y Antigen is Carbohydrate. *Nature* 290: 503.
- SHORT, R. V. (1970). The Bovine Freemartin: A New Look at an Old Problem. *Philos. Trans R. Soc. B.* 259: 141.
- SHORT, R. V. (1978). Sex Determination and Differentiation of the Mammalian Gonad. *Int. J. Androl. (Suppl 2):* 21.
- SIEBERS, J. W. Vogel, H. Hepp, H. Bolze, A. Ditrich. (1973). Structural Aberrations of the Y Chromosome and the Corresponding Phenotype. Report of a Case with Karyotype 45,X/46,X₁(Yp). *Humangenetik* 19: 57.
- SILVERS, W. K., y R. E. Billingham. (1967). Genetic Background and Expressivity of Histocompatibility Genes. *Science.* 158: 118.
- SILVERS, W. K., y S. L. Yang. (1973). Male-Specific Antigen: Homology in Mice and Rats. *Science* 181: 570.

- SIMPSON, J. L. (1976). Disorders of Sexual Differentiation. Etiology and Clinical Delineation. Academic Press. New York.
- SOLLER, M., B. Padeh. M. Wysoky, (1969). Cytogenetics of the Saanen Goats Showing Abnormal Development of the Reproductive Tract Associated with the Dominant Gene for Polledness. Cytogenetics 8: 51.
- SUMMIT, R. L. (1979). Genetic Forms of Hypogonadism in the Male. Prog. Med. Genet. 3: 1.
- VAN NIEKERK, W. A. (1974). True Hermaphroditism: Clinical, Morphologic and Cytogenetic Aspects. Harper and Row, Hagerstown.
- WACHTEL, S. S. (1979). The Genetics of Intersexuality: Clinical and Theoretic Perspectives. J. Am. Coll. Obst. Gynecol. 54: 671.
- WACHTEL, S. S., P. Basur y G. C. Koo. (1978). Recessive Male Determining Genes. Cell 15: 279.
- WACHTEL, S. S., G. C. Koo, W. R. Breg, S. Elias, E. A. Boyse, y O. J. Miller. (1975a). Expression of H-Y Antigen in Human Males with Two Y Chromosomes, New. Eng. J. Med. 293: 1070.
- WACHTEL, S. S., G. C. Koo, W. R. Breg, T. H. Thaler, G. M. Dillard, I. M. Rosenthal, H. Dosik, (1976b). Serological Detection of a Y-Liked Gene in XX Males and XX True Hermaphrodites. New. Eng. J. Med. 295: 750.
- WACHTEL, S. S., G. C. Koo, y E. A. Boyse. (1975b). Evolutionary Conservation of H-Y ("Male") Antigen. Nature 254: 270.
- WACHTEL, S. S., G. C. Koo, E. E. Zuckerman, U. Hammerling, M. P. Scheid, y E. A. Boyse, (1974). Serological Cross-Reactivity Between H-Y (Male) Antigens of Mouse and Man. Proc. Nat. Acad. Sci. 71: 1215.
- WACHTEL, S. E. y S. Ohno. (1979). The Immunogenetics of Sex Development Prog. Med. Genet. 3: 109.
- WACHTEL, S. S. G. C. Koo, y S. Ohno. (1976). H-Y Antigen and the Origin of XY-Female Wood Lemmings (*Myopus schisticolor*). Nature 264: 638.
- WACHTEL, S. S., G. C. Koo, A. de la Chapelle, H. Kallio, J. M. Heyman y O. J. Miller. (1980a). H-Y Antigen in 46, XY Gonadal Dysgenesis, Hum. Genet. 54: 25.
- WACHTEL, S. S., G. C. Koo, W. R. Breg y M. Genel. (1980b). H-Y Antigen in X_i(Xq) Gonadal Dysgenesis: Evidence of X-Linked genes in Testicular Differentiation, Hum. Genet. 56: 183.
- WACHTEL, S. S., J. L. Hall, U. Muller y R. S. K. Chaganti. (1980c). Serum Borne H-Y Antigen in the Fetal Bovine Freemartin Cell 21: 917.
- WELSHONS, W. J., L. B. Russell. (1959). The Y-Chromosome as the Bearer of Male-Determining Factors in the Mouse. Proc. Nat. Acad. Sci. 45: 560.
- WILSON, J. D. F. W. George, y J. E. Griffin. (1981). The Hormonal Control of Sexual Development. Science 211: 1278.
- WILSON, J. D., P. C. McDonald. (1978). Male Pseudohermaphroditism Due to Androgen Resistance: Testicular Feminization and Related Syndromes, En: "The Metabolic Basis of Inherited Disease". Fourth Edition. Stanbury J. B., J. B. Wyngaarden y D. S. Frederickson (Eds.) Mac Graw-Hill, New York.
- WINTERS, S. J., S. S. Wachtel, B. J. White. (1979). H-Y Antigen Mosaicism in the Gonad of a 46,XX True Hermaphrodite, N. Eng. J. Med. 300: 745.
- WOLF, U. (1979). XY Gonadal Dysgenesis an the H-Y Antigen, Hum. Genet. 47: 269.
- WOLF, U., M. Fraccaro, A. Mayerova, T. Hecht, P. Maraschio, H. Hameister, (1980a). A Gene Controlling H-Y Antigen on the X Chromosome, Tentative Assignment by Deletion Mapping to Xp223, Hum. genet. 54: 149.
- WOLF, U., M. Fraccaro, A. Mayerova, T. Hect. O. Zuffardi, H. Hameister. (1980b). Turner Syndrome Patients Are H-Y Positive. Hum. Genet. 54: 315.
- WOLMAN, S.R., L.E. McMorro, S. Roy G. C. Koo, S.S. Wachtel, R. David, (1980). Aberrant Testicular Differentiation in 46, XY Gonadal Dysgenesis: Morphology, Endocrinology, Serology. Hum. Genet. 55: 321.
- YUNIS, E., F. L. Garcia-Conti, O.M.T. de Caballero, A. Giraldo, (1977b). Yq Deletion, Aspermia and Short Stature. Hum. Genet. 39: 117.
- YUNIS, E., R. Silva, E. Ramirez, M. A. Nossa (1977a) X XYq-Mosaicism and Mixed Gonadal Dysgenesis, J. Med. Genet. 14: 262.
- ZENZEZ, M. T., U. Wolf, E. Gunther, W. Engel. (1978). Studies on the Function of H-Y Antigen: Dissociated and Reorganization Experiments on Rat Gonadal Tissue, Cytogenet. Cell Genet. 20: 365.