



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

CORRELACIÓN GENOTIPO- FENOTIPO EN PACIENTE
CON SOSPECHA DIAGNOSTICA DE INSENSIBILIDAD A
LOS ANDRÓGENOS Y DÉFICIT DE 5 ALFA REDUCTASA

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO EN
ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA
PRESENTA
DRA. LUZ MARY LÓPEZ MONTENEGRO



DIRECTORAS DE TESIS
DRA. NAYELI GARIBAY NIETO
Departamento de Endocrinología
Hospital infantil de México Federico Gómez

DRA. GLORIA QUEIPO
Departamento de Genética, Hospital General de México-
Facultad de Medicina UNAM

MEXICO, D.F.

MARZO

2009





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

**CORRELACIÓN GENOTIPO- FENOTIPO EN PACIENTES CON
SOSPECHA DIAGNOSTICA DE INSENSIBILIDAD A LOS ANDRÓGENOS
Y DÉFICIT DE 5 ALFA REDUCTASA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO EN

ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA

DRA. LUZ MARY LÓPEZ MONTENEGRO

DIRECTORAS DE TESIS

DRA. NAYELI GARIBAY NIETO

Departamento de Endocrinología

Hospital infantil de México Federico Gómez

DRA. GLORIA QUEIPO

Departamento de Genética, Hospital General de México-

Facultad de Medicina UNAM

MÉXICO, D.F.

Marzo 2009

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

**CORRELACIÓN GENOTIPO- FENOTIPO EN PACIENTES CON
SOSPECHA DIAGNOSTICA DE INSENSIBILIDAD A LOS ANDRÓGENOS
Y DÉFICIT DE 5 ALFA REDUCTASA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TITULO EN
ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**PRESENTA
DRA. LUZ MARY LÓPEZ MONTENEGRO**

DIRECTORAS DE TESIS

DRA. DRA. NAYELI GARIBAY NIETO _____
Departamento de Endocrinología
Hospital Infantil de México Federico Gómez

DRA. GLORIA QUEIPO _____
Departamento de Genética del Hospital General de México
Facultad de Medicina UNAM

MÉXICO, D.F.

Marzo 2009

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios que supo guiar mi camino y me dio la oportunidad de alcanzar mis metas.

Gracias a mis Padres Rosa y Manuel por todo su amor, comprensión, apoyo incondicional y por cultivar e inculcar ese sabio don de la responsabilidad.

Gracias a mis hermanos, por que siempre he contado con ellos, por la confianza, el cariño y el hacerme sentir siempre acompañada.

Gracias a todos mis sobrinos y al resto de mi familia por ser una de mis motivaciones para seguir adelante.

Gracias a mis tutores por su tiempo, su apoyo y toda la sabiduría que me transmitieron, en especial a la Dra. Nayely Garibay Nieto por su amistad y el haberme guiado en este trabajo que significa la culminación de una etapa muy importante en el desarrollo de mi formación profesional.

Gracia a todos mis amigos, a los que me impulsaron a emprender este camino y a los que fueron mi sostén para no claudicar. Coterráneos y mexicanos que se convirtieron en mi segunda familia. Gracias por ser mis amigos.

ÍNDICE

1. Marco teórico	1
2. Planteamiento del problema	21
3. Justificación	23
4. Objetivos	24
5. Materiales y Métodos	25
a. Diseño del estudio	25
b. Población de estudio	25
c. Criterios de inclusión	25
d. Criterios de exclusión	25
e. Criterios de eliminación	26
f. Descripción del estudio	26
6. Resultados	30
7. Discusión	38
8. Referencias	42

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El nacimiento de un niño con genitales ambiguos es una urgencia médica y social, por lo tanto el diagnóstico oportuno es necesario para la asignación del sexo y el manejo específico de cada caso que conlleve a un desarrollo biopsicosocial adecuado.

En la mayoría de los casos de desórdenes del desarrollo sexual 46 XX (DSD: del inglés disorders of sex development) se identifica la causa, siendo la etiología más común la hiperplasia suprarrenal congénita en un 80- 85%.^{1-3, 6}. Sin embargo, no sucede lo mismo con los DSD 46 XY en los que únicamente en un 50% se determina la etiología²⁻⁵; de este porcentaje las causas más frecuentemente reportadas por la literatura son la insensibilidad a los andrógenos en un 28% y déficit de 5 α -reductasa en un 17 - 23%³⁻⁶.

Tradicionalmente hemos considerado que las exploraciones clínicas, radiológicas, bioquímicas y anatomopatológicas nos permiten establecer un diagnóstico bastante aproximado de estas dos patologías^{7, 8}, pero es el estudio molecular con demostración de la mutación o mutaciones a nivel de los genes implicados lo que nos da el diagnóstico de certeza. Sin embargo aun en la actualidad este tipo de estudios está bastante limitado por los costos, la accesibilidad y el control de calidad, por esta razón hasta el momento solo en alrededor del 20% de todos los DSD a nivel mundial se establece el diagnóstico por estudio molecular.

Desde hace más o menos 4 años tenemos la posibilidad de hacerles estudio molecular en los pacientes de la Clínica trastornos en la diferenciación sexual de HIMFG, con diagnóstico fenotípico de Síndrome de insensibilidad a los andrógenos y Déficit de 5 alfa reductasa. Por lo que nos preguntamos:

¿Existe correlación entre diagnóstico fenotípico y el diagnóstico de certeza establecido por el estudio molecular en pacientes con sospecha de Insensibilidad a los andrógenos y Déficit de 5 alfa reductasa?

¿Es semejante la frecuencia de insensibilidad a los andrógenos y deficiencia de 5 alfa reductasa evidenciados por estudio molecular en paciente con DSD que acuden al Hospital Infantil de México Federico Gómez con la frecuencia de estos trastornos referida en la literatura mundial?

1. MARCO TEÓRICO

El síndrome de resistencia ó insensibilidad a los andrógenos y el déficit de 5 α -reductasa forman parte de los Desordenes del desarrollo Sexual 46, XY (46,XY DSD: del ingles “Disorders of sex Development”) y se clasifican dentro de los desordenes en la biosíntesis ó acción de andrógenos, a este grupo también pertenecen La 17 β hidroxisteroide-deshidrogenasa, mutaciones en el sistema StAR, Déficit de 3 β -hidroxisteroide-deshidrogenasa, aplasia ó hipoplasia de células de Leydig, síndrome de persistencia de conductos Mülllerianos, mismos que deben considerarse en el diagnostico diferencial. Tabla 1 y 2.

Tabla 1. NOMENCLATURA PROPUESTA Y REVISADA DE LOS DESORDENES DEL DESARROLLO SEXUAL

PREVIO	ACTUAL
Intersexo	DSD
Pseudohermafroditismo masculino, sub virilización de un hombre XY y sub masculinización de un hombre XY.	46,XY DSD
Pseudohermaprodiismo femenino, sobre virilización de una mujer XX, y masculinización de una mujer XX	46,XX DSD
Hermafroditismo verdadero	Ovotesticular DSD
Hombre XX o reversión sexual XX	46,XX testicular DSD
Reversión sexual XY	46,XY disgenesia gonadal Completa

Tabla 2. CLASIFICACIÓN DE LOS DIFERENTES DESORDENES DEL DESARROLLO SEXUAL

DSD en cromosomas sexuales	46,XY DSD	46,XX DSD
45,X (Turner y variantes)	Desordenes del desarrollo gonadal 1. Disgenesia gonadal completa 2. Disgenesia gonadal parcial 3. Regresión gonadal 4. DSD ovotesticular	Desordenes del desarrollo gonadal 1. Ovotesticular DSD; 2. DSD testicular 3. Disgenesias gonadales
47,XXY (Klinefelter y variantes)	Desordenes en la síntesis o acción 1. Defecto en la biosíntesis 2. Defecto en la acción de los andrógenos 3. Defectos en el receptor de LH 4. Defectos en la hormona y en el receptor de la hormona anti-Mülleriana	Exceso de andrógenos 1. Fetal 2. Fetoplacentaria 3. Materna
45X/46,XY (Disgenesia gonadal mixta, DSD ovotesticular)		Otros: extrofia cloacal, atresia vaginal y otros síndromes.
46,XX/46XY (Quimera, DSD ovotesticular)		

Tabla 1 y 2. Lee PA, Houk CP, Ahmed SF, et al., in collaboration with the participants in the 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. *Pediatrics* 2006; 118:814–815.

Los andrógenos en la vida fetal son fundamentales para el desarrollo adecuado de los genitales en fetos masculinos, este proceso se lleva a cabo entre la 6.^a y 13.^a semanas de gestación y ocupan la última etapa en la secuencia de pasos para la diferenciación genital masculina. La presencia de testículos con la producción de altos niveles de testosterona (T) y la disponibilidad de receptores de andrógenos funcionales en los tejidos diana provoca la diferenciación de los genitales internos llevando a la estabilización de los conductos de Wolff que da origen al epidídimo, el conducto deferente y las vesículas seminales. Para la diferenciación de los genitales externos se requiere de la dihidrotestosterona (DHT) que se produce mediante reducción de la testosterona por la 5 α -reductasa tipo 2. La DHT es la responsable de la masculinización de seno urogenital y de los genitales externos así como de la diferenciación prostática. Fig. 1.

La alteración en la producción o acción de los andrógenos durante este período crítico interrumpe la secuencia de los acontecimientos y da como resultado un fracaso en la masculinización.

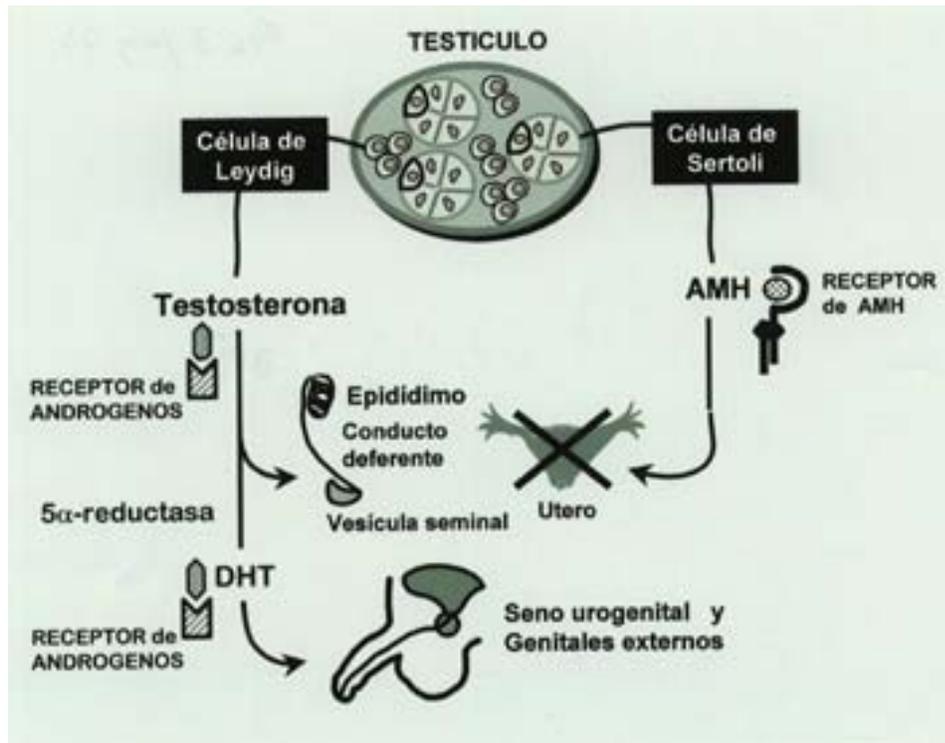


FIG. 1. Regulación hormonal de la diferenciación sexual fetal masculina. (Rey R, Copelli S. Diferenciación sexual embriofetal. in M. Pombo and col. *Tratado de Endocrinología Pediátrica*. 3ª ed. Madrid: España; McGraw- Hill. Interamericana. 2002:204-221).

Síndrome de Resistencia o Insensibilidad a los Andrógenos

Fue descrito por primera vez en 1940 por Schiller, pero fue John Morris, obstetra de la Universidad de Yale quien en 1953 realiza la revisión de 82 casos descritos en la literatura, y lo define como “testículo feminizante”, término que está en desuso en la actualidad.

Los individuos afectados clásicamente tienen cariotipo 46 XY, con un espectro fenotípico en sus genitales externos que va desde pacientes con

genitales externos femeninos normales, pasando por casos con diferentes grados de ambigüedad genital hasta sujetos con fenotipo masculino normal que tienen un falo pequeño y son infértiles.

El síndrome de insensibilidad a los andrógenos es un desorden que se hereda en forma recesiva ligada al cromosoma X. Básicamente se trata de la falta de respuesta de los tejidos diana a los andrógenos (T como DHT) por alguna anomalía en el gen que codifica el receptor para los andrógenos. Debido a esta anomalía, no se produce la activación de la transcripción de los distintos genes que intervienen en la respuesta a los andrógenos. Es probablemente la causa identificada más frecuente de los desordenes del desarrollo sexual 46XY.

Receptor de Andrógenos (RA)

Es un miembro de la superfamilia de receptores nucleares de la cual también forman parte otros receptores que funcionan de manera similar entre los cuales se encuentran: los receptores de los glucocorticoides, estrógenos, ácido retinoico, hormonas tiroideas, etc. El receptor forma un complejo hormona-receptor e interacciona directamente con los genes que regulan su transcripción. El receptor está conformado por una cadena polipeptídica de 919 aminoácidos y se caracteriza por presentar en su estructura cuatro dominios funcionales: Un dominio amino-Terminal o N-Terminal (NTD), un dominio de unión al ADN (DBD: DNA-binding domain), una región de unión o región bisagra y un dominio de unión al ligando (LBD: ligandbinding). Fig. 2.

El dominio NTD tiene una función reguladora de la transcripción, es codificado por el exón 1 y está localizado entre los aminoácidos 141 y 338. Este dominio contribuye a dar la estructura tridimensional al receptor de andrógenos.

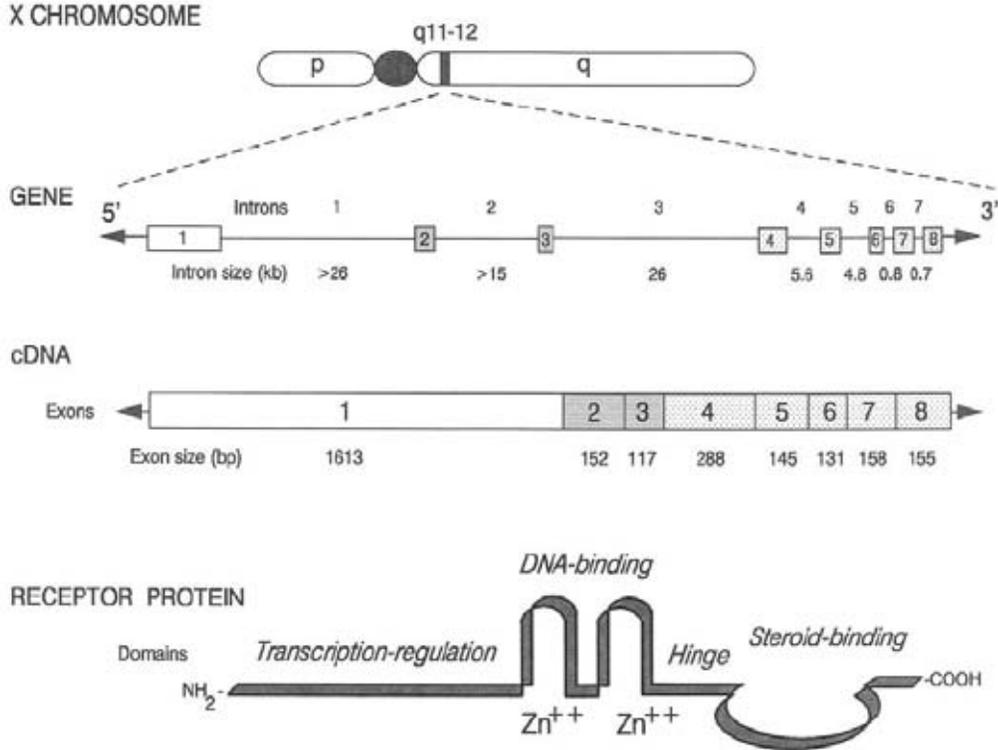


FIG. 2. El X-locus cromosómico del gen del receptor de andrógenos y organización estructural del gen y del receptor proteico. (Quigley CA, De Bellis A, Marschike KB, El – Awady MK, Wilson E, French FS. Androgen Receptor Defects: Historical, Clinical, and Molecular Perspectives. *Endocrine Reviews*; 1995 Jun; 16(3):271-321).

El DBD se encuentra en la región central rica en cisteína, este dominio está localizado entre los aminoácidos 559 -624, codificado por los exones 2 y 3. Esta es la región de unión del receptor a los elementos de respuesta de los genes regulados por los andrógenos y esta mediada por los 2 dedos de zinc. El primer dedo de zinc es codificado por el exón 2 y se localiza entre los aminoácidos 559-579, el segundo dedo de zinc es codificado por el exón 3 y se encuentra entre los residuos 595-619. Este dominio determina la especificidad en la interacción del RA con el ADN.

La región bisagra: se encuentra entre el dominio de unión al ADN y el dominio de unión al ligando. Esta región está codificada por el extremo 5'-del exón 4 y contiene la mayor parte del señalador nuclear del RA y esta conformado por un grupo básico de residuos en las posiciones 629-633.

Este dominio regula la transferencia del RA desde el citoplasma hasta su sitio de acción en el núcleo.

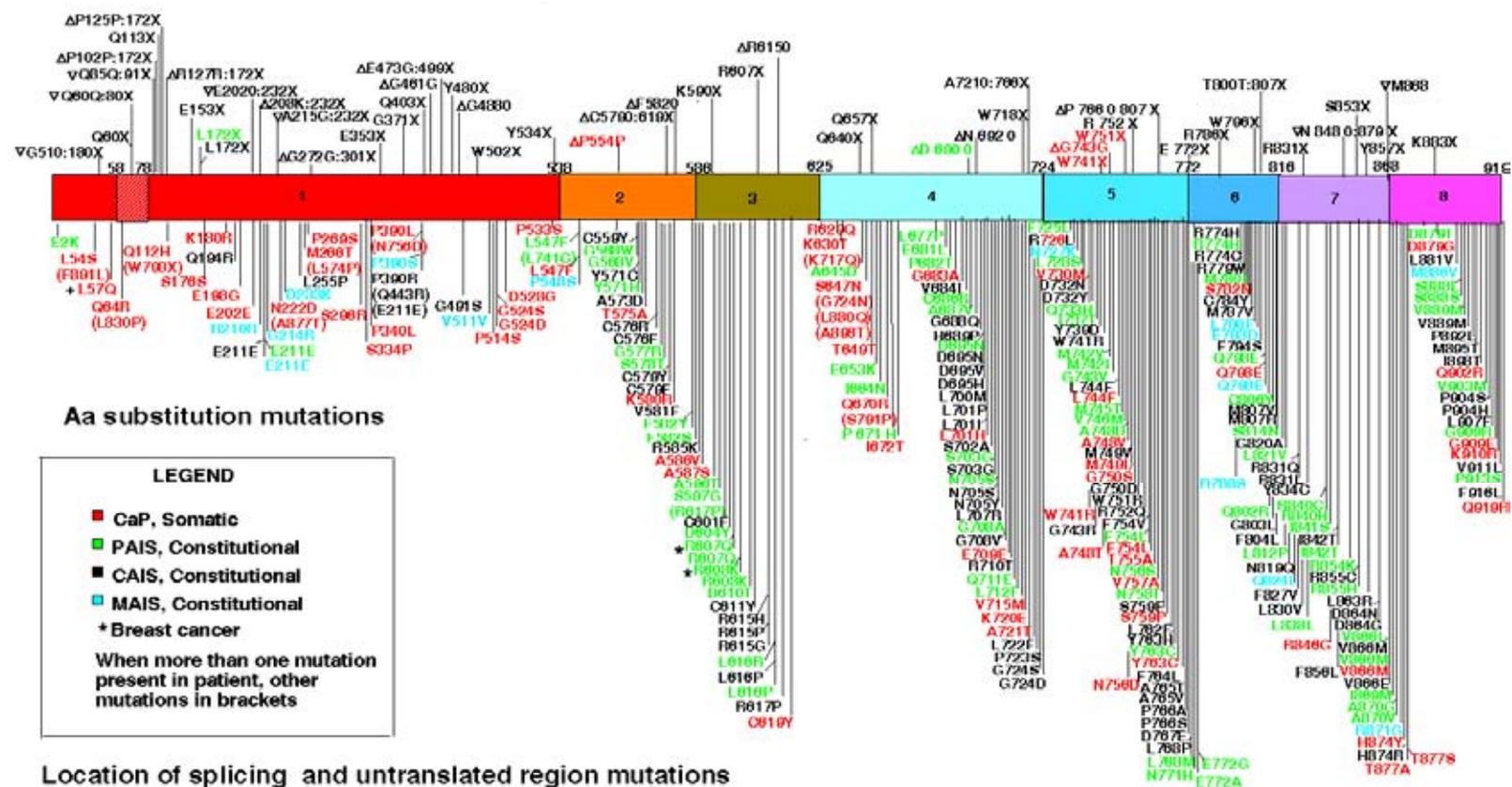
El dominio de unión al ligando corresponde a otro dominio que es la región carboxy-terminal y que está codificado por la porción 3' de exón 4 y por los exones 5 al 8. Comprende la región del receptor que se une al andrógeno y abarca aproximadamente los residuos 670-919²²⁻²⁴.

El gen del receptor de andrógenos se decodificó en 1988 por Lubahn y col, se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma X, región 11-12 (Xq11-12). Consta de 75-90 kilobases que codifican una proteína (RA) de 110 a 114 kd, con una longitud variable entre 910 y 919 aminoácidos. Constituido por 8 exones designados de la A-1 o 1-8 y 7 intrones³¹.

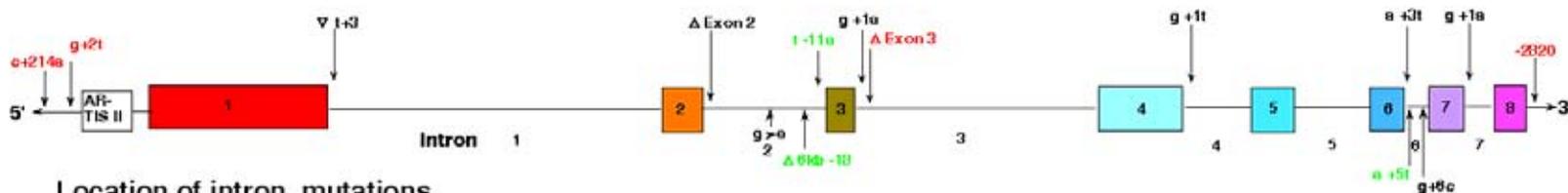
Las alteraciones más frecuentemente encontradas en el gen del receptor de andrógenos corresponden a mutaciones puntuales hasta en un 92% de los casos, con cambio de una base que puede provocar un codón de terminación, un corte y sitio de empalme anómalo o la sustitución de un aminoácido por otro. Las deleciones son las menos frecuentes. Se han detectado hasta el momento más de 750 mutaciones distintas de las cuales unas 300 causan Síndrome de insensibilidad a los andrógenos³². Las mutaciones de novo pueden ser la causa en un 30%³³.

En la base de datos internacional de La Universidad de McGill cuya dirección electrónica es <http://www.androgendb.mcgill.ca> podemos consultar el listado de todas las mutaciones descritas hasta el momento en el gen del receptor de andrógenos, que están implicadas tanto en el síndrome de resistencia a los andrógenos como patologías como cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de laringe y enfermedad de Kennedy. Esta base de datos se está actualizando regularmente. Fig. 3

Premature termination mutations or 1-6 bp Δ or ∇



Location of splicing and untranslated region mutations



Location of intron mutations

FIG. 3. Esquema del receptor de andrógenos que muestra las mutaciones de las que se ha demostrado son causa de las diferentes formas de insensibilidad a los andrógenos. (From the McGill Androgen Receptor Gene Mutation Database)

Las mutaciones puntuales se localizan por orden de frecuencia, primero en los exones del dominio de unión al andrógeno (exones 4-8), seguido por los exones del dominio de unión al ADN (exones 2 y 3) y finalmente en el exón 1. El 90% de las alteraciones génicas se localizan en los exones del 2-8. Las mutaciones a nivel de los dominios de unión al ADN y de unión al andrógeno (esteroides) pueden dar lugar tanto a formas completas como incompletas de resistencia a los andrógenos, mientras que las mutaciones del exón 1 dan lugar a formas completas en la mayor parte de los casos publicados.

Existen casos de insensibilidad a los andrógenos tanto en la forma completa como en la parcial en las que no se detecta ninguna anomalía molecular en el gen del receptor de andrógenos. En los últimos años se han descrito alteraciones en algunos co-reguladores que intervienen en la transcripción génica que pueden ser la causa de esta patología.

Co-reguladores del Receptor de Andrógenos

Para que los andrógenos puedan llevar a cabo sus funciones tanto en la diferenciación sexual durante la embriogénesis, como el mantenimiento de la función reproductiva y otras, no solo es necesaria la integridad del receptor de andrógenos, sino también debe existir una interacción funcional y estructural con sus co-reguladores.

Los co-reguladores son proteínas que son reclutadas por el receptor para aumentar (co-activadores) o reducir (co-represores) su transactivación. Pero ellos no tienen la capacidad de alterar la transcripción basal o la unión del receptor con el ADN.

Hasta el momento se han identificado más de 200 co-reguladores de este receptor nuclear, el primer co-activador descrito fue el SRC-1 en 1995.

Fig. 4

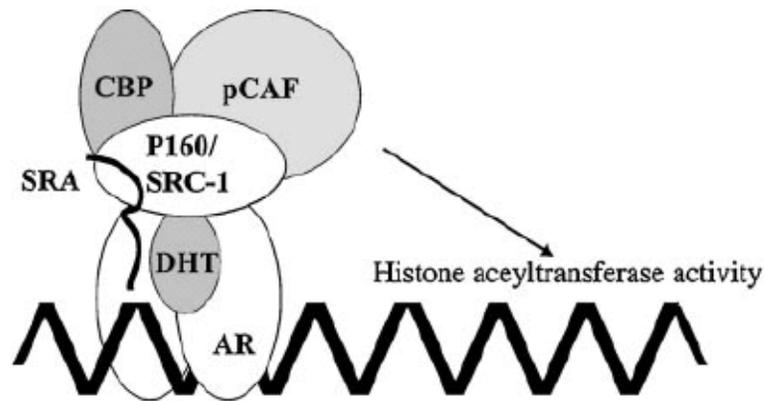


FIG. 4. El esquema muestra la unión del ligando con el receptor de andrógenos y su interacción con las proteínas co-reguladoras. p160/SRC-1 (steroid receptor coactivator 1), CBP (CREB-binding protein), pCAF (CBP-associated factor), SRA (steroid receptor RNA activator) (Hughes IA. Minireview: Sex Differentiation. *Endocrinology* 2001 Aug; 142(8):3281-7).

Estos co-reguladores realizan varias funciones involucrándose en múltiples vías de señalización y además se ha evidenciado que muestran especificidad o selectividad en su expresión por determinados tejidos. Por ejemplo FHL2 es selectivamente impulsado en las células epiteliales de la próstata, mientras que ARA55/Hic-5 se expresa preferencialmente en el estroma prostático. Se ha encontrado además en modelos con ratones que las deficiencias de algunos co-receptores en el período embrionario pueden ser letales y que la pérdida de otros da lugar a diferentes fenotipos de ambigüedad genital relacionados con hormono-resistencia algunos ejemplos se pueden ver la tabla 3.

Pero es tal vez es en el cáncer de próstata, donde más se ha estudiado y demostrado una implicación directa de estos co-activadores en su etiopatología²³.

Tabla 3. Co-reguladores deficientes en modelos de ratones que presentaron diversos grados de resistencia a los andrógenos.

COREGULADOR	FENOTIPO
BRM^{-/-}	Testículos pequeños.
E6-AP^{-/-}	Testículos pequeños, infertilidad mínima, defecto en la Producción y función del esperma, alteración en el Crecimiento y desarrollo de la próstata.
FKBP52^{-/-}	hipospadias de leve a severo, genitales externos ambiguos Malformaciones en la vesícula seminal. Reducción anterior de la próstata, pequeña disgenesia dorsolateral y ventral de la próstata.
SRC-1^{-/-}	Testículos pequeño, disminución del crecimiento y desarrollo de la prostata.
SR-2^{-/-}	Hipofertilidad, defecto en la espermatogenesis, degeneración testicular.

Heemers HV, Tindall DJ. Androgen Receptor (AR) Coregulators: A Diversity of Functions Converging on and Regulating the AR Transcriptional Complex. *Endocrine Reviews*, December 2007, 28(7):778–808.

Características clínicas

Los síndromes de insensibilidad a los andrógenos han sido tradicionalmente clasificados en subgrupos clínicos basados en el fenotipo genital: Síndrome de insensibilidad completo a los andrógenos, Síndrome de insensibilidad parcial a los andrógenos y sus variantes y síndrome de insensibilidad mínima a los andrógenos conocida anteriormente como síndrome de infertilidad masculina ³⁵. Así pues, podemos hallar un abanico de la patología, desde un fenotipo genital externo totalmente femenino hasta fenotipo masculino con una leve ginecomastia o infertilidad. Se ha propuesto una clasificación con gradación similar pero inversa a la de Prader que se utiliza para hiperplasia suprarrenal congénita como se muestra en la figura 5.

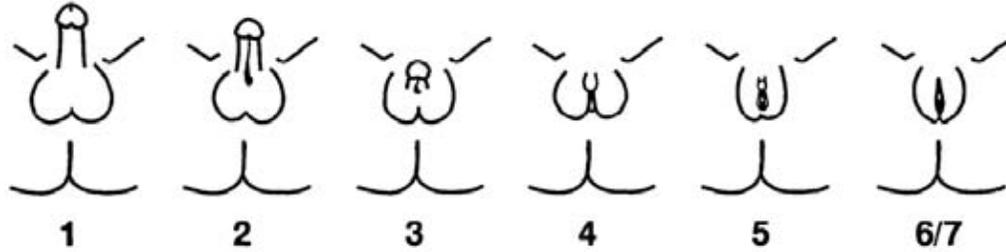


FIG. 5. Clasificación clínica de los grados de virilización en insensibilidad a andrógenos. Los grados se numeran del 1 al 7 en orden de severidad. Siendo el grado uno masculino normal, pasado por los diferentes grados de ambigüedad, hasta el grado 6/7: fenotipo completamente femenino (Grado 6 vello con púbico, grado 7 sin vello púbico en el adulto). (Quigley CA, De Bellis A, Marschike KB, El – Awady MK, Wilson E, French FS. Androgen Receptor Defects: Historical, Clinical, and Molecular Perspectives. *Endocrine Reviews*; 1995 Jun; 16(3):271-321)

Insensibilidad Completa a los Andrógenos.

La prevalencia clínica se estima en 1: 20,400 de nacimientos masculinos ²⁸, pero se reporta en la literatura que por diagnóstico molecular incidencia estaría entre 1:40,800 y 1:99,000 ³⁰. Los síndromes de insensibilidad a los andrógenos representan la causa identificable más frecuente de los desordenes del desarrollo sexual 46 XY. Fenotípicamente estos pacientes tienen genitales externos completamente femeninos (no ambiguos), labios mayores hipoplásicos, bolsa vaginal ciega, testículos localizados en pliegues labio-escrotales, canal inguinal o en abdomen. Los derivados de Wolff están ausentes o vestigiales y las estructuras Müllerianas están habitualmente ausentes, sin embargo, hasta en un 30% de los pacientes pueden observarse restos de estructuras de Müller . Fig 5.

Desde el punto de vista histológico, los testículos tienen aspecto normal antes de la pubertad; posteriormente se encuentran células de Leydig hiperplásicas, que tienden a formar grupos adenomatosos. En los tubos seminíferos se observan solo células de Sertoli dentro de nódulos y la cantidad de espermatogonias así como la espermatogénesis son escasas. Estos testículos tienen tendencia a malignizarse y las patologías más frecuentemente descritas son los tumores germinales dentro de los cuales

están el carcinoma in situ y el seminoma; otros también descritos son los adenomas de células de Sertoli y de Leydig. Se ha sugerido que el riesgo de neoplasia es más evidente en los pacientes con insensibilidad parcial. El riesgo de malignización aumenta con la edad y se considera mayor luego de los 30 años de edad, aunque se han reportado casos en pacientes incluso preescolares. El riesgo de desarrollar tumores germinales en todos los tipos de Insensibilidad a los andrógenos es de 0.8-5.5% y se han reportado cifras de hasta un 30% en adultos. ^{36, 37}.

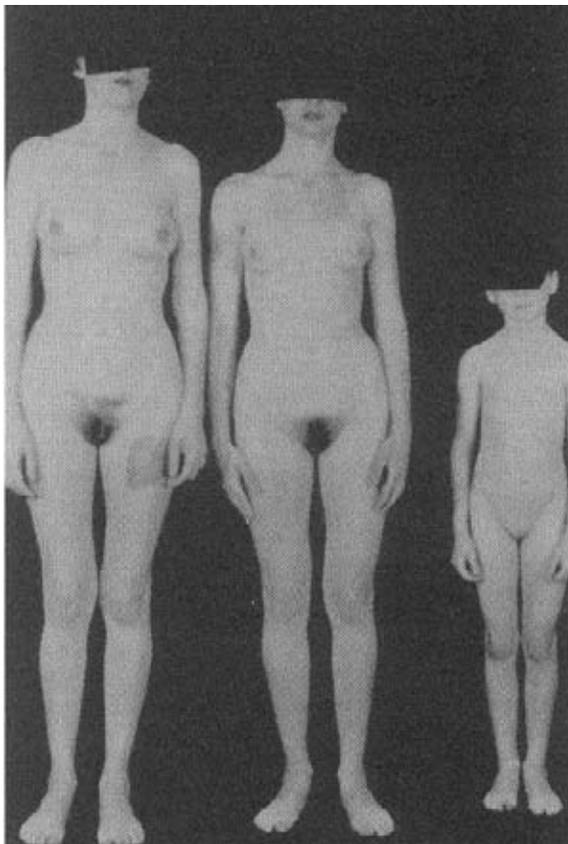


Fig 5. Insensibilidad completa a los andrógenos.
Hermanos que comparten esta patología.
(Quigley CA, De Bellis A, Marschike KB, El – Awady MK, Wilson E,
French FS. *Endocrine Reviews*; 1995 Jun; 16(3):271-321).

El diagnóstico se debe sospechar al nacimiento o en la niñez, en niñas con hernia inguinal (sobre todo si es bilateral) y presencia de alguna gónada en la región inguinal o en el labio mayor. Asimismo, debe descartarse en

adolescentes con caracteres sexuales femeninos y amenorrea primaria. El vello púbico y axilar es escaso o ausente. El desarrollo de las mamas es normal, secundario a aromatización periférica en particular de testosterona a estradiol en el contexto de un paciente con sensibilidad normal a los estrógenos. Habitualmente manifiestan también talla alta.

Insensibilidad Parcial a los andrógenos

Su prevalencia es desconocida, sin embargo puede ser aun más común que la insensibilidad completa. Fenotípicamente los genitales externos oscilan desde hipospadias perineoescrotal con criptorquidia y micropene hasta clítoromegalia con fusión parcial de labios ²⁴. Al llegar a la pubertad, se presenta cierto grado de virilización, con desarrollo de ginecomastia. Los testículos suelen ser pequeños con azoospermia. Los distintos grados de intersexualidad son conocidos por los epónimos de los autores que los describieron como se aprecian en la Tabla 4.

Tabla 4. Síndromes clínicos de resistencia periférica parcial a los andrógenos.

Síndrome de Lubs	Virilización mínima, escroto bífido, vello púbico de tipo masculino
Síndrome de Gilbert-Dreyfus	Pene pequeño e hipospádico con ginecomastia.
Síndrome de Reifenstein	Escroto bífido, hipospadias y ginecomastia.
Síndrome de Rosewater	Ginecomastia y esterilidad

Perfil Hormonal

El perfil hormonal es similar en todas las variantes de la insensibilidad a los andrógenos pero se ha caracterizado mejor en la forma completa. El perfil

hormonal típico en el paciente postpuberal y con gónadas intactas son niveles de testosterona normales o por encima del rango de un adulto masculino. Las gonadotropinas están habitualmente incrementadas en respuesta al deficiente mecanismo de retroalimentación negativa que ejercen los andrógenos sobre el hipotálamo y la hipófisis dada la resistencia también a nivel central. El estradiol sérico también está aumentado, tanto por aromatización de los andrógenos en testículo y en tejidos periféricos. Las concentraciones de globulina transportadora de hormonas sexuales, son similares a las que se encuentran en mujeres sin esta patología. La falta de respuesta de la globulina transportadora de hormonas sexuales al aumento de las concentraciones de testosterona después de la estimulación con gonadotropina coriónica humana ha sido propuesta como una prueba bioquímica útil para detectar la insensibilidad a andrógenos antes de la pubertad ³⁸.

Fisiológicamente los niveles de testosterona (T) basal en los primeros meses de vida suelen encontrarse elevados en respuesta a la secreción transitoria de las gonadotropinas que se presenta en el periodo postnatal mediato. Por lo tanto el estímulo exógeno de administración de gonadotropina coriónica Humana (hCG) puede condicionar respuesta exageradas de secreción de testosterona que eventualmente pudieran interpretarse como falsos diagnósticos de insensibilidad a los andrógenos. Es recomendable por lo tanto diferir la prueba de estimulación a una edad mayor a los dos años con la finalidad de obtener resultados más confiables ³⁹.

Otra prueba bioquímica que es útil en la investigación de la resistencia androgénica, pero sólo está disponible en los laboratorios de investigación, es la medición de andrógenos en fibroblastos de piel genital y el estudio de los receptores para DHT en cultivo de fibroblastos ²⁶. Se ha detectado anomalías tales como: ausencia de unión específica de la DHT, disminución del número de receptores, anomalías cualitativas del receptor tales como disminución de la afinidad de la hormona por el receptor, termolabilidad,

disociación acelerada, disminución de autorregulación y disminución o ausencia de la unión al ADN. Por otro lado se describen también el aumento en el número de receptores no funcionales. En cierto número de casos no llega a detectarse ninguna anomalía bioquímica.

Deficiencia de 5 alfa reductasa tipo 2

Nowakowski y Lenz, describieron en 1961 un desorden en el desarrollo sexual masculino que lo denominaron “hipospadias perineroescrotal pseudovaginal”, posteriormente en 1974 Wals y cols. e Imperato-McGinley y cols relacionaron este desorden con un defecto en la transformación de testosterona en DHT ocasionado por una alteración de la 5 α reductasa, enzima que cataliza este proceso; Además Imperato-McGinley y cols en este mismo año describieron por un grupo de pacientes con este síndrome en una población con alto grado de consanguinidad en República Dominicana ³⁴.

La deficiencia de 5 α reductasa es una patología autosómica recesiva producida por un defecto en el gen que codifica la enzima 5 α –reductasa tipo 2 lo que ocasiona la ausencia o deficiencia de la enzima y por consiguiente niveles bajos de DHT, metabolito de vital importancia en la de diferenciación de los genitales externos y la próstata. Fig. 6

Existen dos tipos de enzimas 5 α – reductasa, estas enzimas son NADPH dependientes, están localizadas en la membrana microsomal de las células y son tejidos específicos.

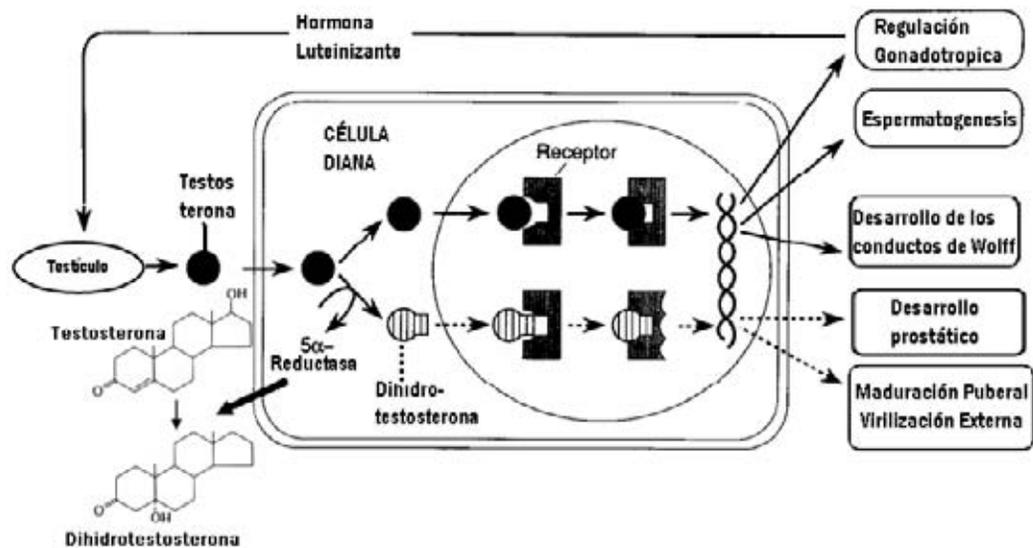


FIG. 6. Esquema gráfico del mecanismo de acción de los andrógenos, estructura molecular de la testosterona y la dihidrotestosterona. (Adaptado de Wilson J, Griffin J, Russell D. Steroid 5 α -Reductase 2 Deficiency. *Endocrine Reviews*, 1993 Oct; 14(5): 577-593).

La esteroide 5 α -reductasa tipo 1 es codificada el gen *SRD5A1* que se localiza en el brazo corto del cromosoma 5 (5p15) y se expresa en hígado y piel, incluyendo en los fibroblastos de piel genital. Se ha postulado que esta isoenzima (5 α -reductasa tipo 1) puede contribuir a la virilización que ocurre en estos pacientes al llegar la pubertad ²⁷.

La esteroide 5 α -reductasa tipo 2 es codificada por el gen *SRD5A2*, esta localizado en brazo corto del cromosoma 2 (2p23). Este gen esta conformado por 5 exones y 4 intrones y codifica una proteína de 254 aminoácidos. Se expresa en próstata y genitales externos antes y después de su diferenciación ⁴⁰.

La deficiencia de 5 α -reductasa es genéticamente heterogénea y hasta el momento se ha detectado más de 40 mutaciones en el gen *SRD5A2*. Las mutaciones se distribuyen en los cinco exones, la mayoría son mutaciones con error de sentido, solo en una población Nueva Guinea se encontró una deleción completa del gen. Fig. 6. Hay poca correlación entre la severidad

del fenotipo clínico y la naturaleza de la mutación. Un número significativo de casos son heterocigotos compuestos, además la consanguinidad también es común. Los varones heterocigotos son normales.

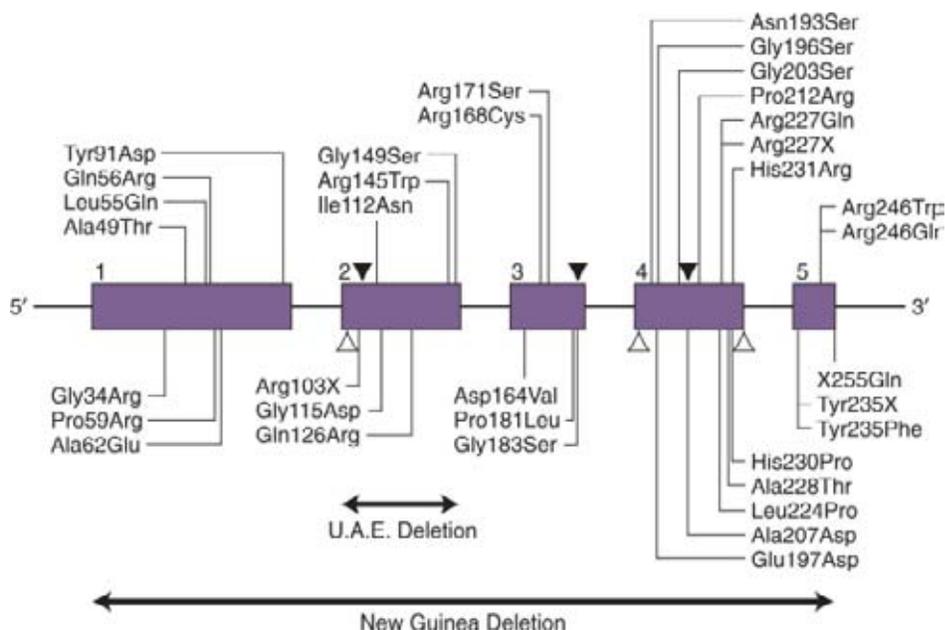


FIG. 6. Esquema del gen codificador de la 5 α -reductasa tipo 2 (*SRD5A2*). (Achermann JC, Hughes IA. Disorders of Sex Development. In Kronenberg H, Melmed S, Kenneth S, Polonsky K, Larsen P. *Williams Textbook of Endocrinology, 11th ed.*; Philadelphia, USA Saunders, Elsevier. 2008: 783-848).

Las alteraciones genéticas que conllevan a una disfunción de la 5 α -reductasa tipo 2 pueden provocar a nivel molecular:

1. Afinidad disminuida de la enzima para el sustrato (testosterona),
2. Afinidad disminuida de la enzima para el cofactor (NADPH).
3. Afinidad disminuida tanto para el sustrato como para el cofactor.
4. Una enzima muy inestable incapaz de realizar los procesos catalíticos de manera adecuada.

Características Clínicas

El fenotipo de los pacientes con déficit de 5α -reductasa -1 depende de la edad a la que se estudien. El neonato presenta ambigüedad de genitales externos que se caracteriza por la presencia de un clítoris hipertrófico o un pene hipoplásico con hipospadias en diferentes grados, escroto bífido y seno urogenital. Puede encontrarse una bolsa vaginal ciega que se abre en el seno urogenital o en el periné. Los testículos están bien diferenciados y pueden estar localizados en canal inguinal o en los pliegues labioescrotales. No se observan restos Mülllerianos pero las estructuras de Wolff (epidídimo, conductos deferentes y vesículas seminales que dependen de testosterona) están bien diferenciadas con una próstata hipoplásica. Este fenotipo de genitales externos en prepúberes es muy similar también al que se pueden observar en la insensibilidad parcial a los andrógenos, déficit de 17β hidroxisteroide deshidrogenasa, disgenesia gonadal o hermafroditismo verdadero. En la pubertad, los niveles plasmáticos de testosterona aumentan hasta los niveles de un adulto masculino con un aumento del cociente T/DHT permitiendo una virilización importante en los genitales externos y un desarrollo muscular de tipo masculino, el cambio de voz varía según los casos, el pene aumenta de tamaño, aparece la libido y se producen erecciones. El escroto se arruga, pigmenta, los testículos aumentan de tamaño y descienden a los pliegues labio-escrotales. Sin embargo, otras acciones dependientes de DHT son deficitarias, como la cantidad y la distribución del vello facial y pubiano. Estos pacientes no presentan ginecomastia a diferencia de los pacientes con insensibilidad parcial a los andrógenos⁴⁰. Se ha reportado un cambio en el rol social (femenino-masculino) del 56 al 63% de los casos. Fig. 7.

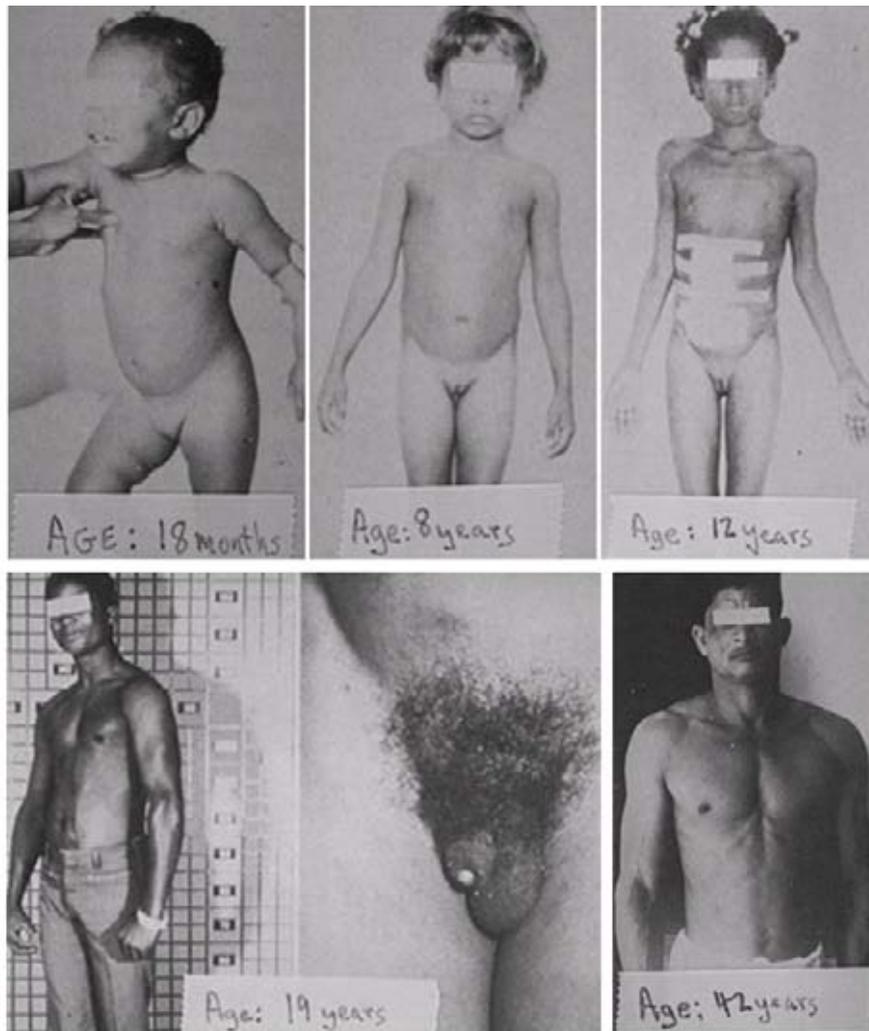


FIG. 7. Evolución natural de un paciente con Déficit de 5 alfa reductasa. (guevedoces) del grupo de Republica dominicana. (Imperato-McGinley J, Guerrero L, Gautier T, et al: Steroid 5 α -reductase deficiency in man: an inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science* 1974; 186:1213-1215)

Perfil Bioquímico

La principal característica bioquímica que esperamos encontrar en pacientes pospuberal es un cociente T/DHT elevado, resultado de niveles de testosterona normales y DHT bajos. Durante los primeros 60 días de vida, los lactantes experimentan un aumento de LH que es fisiológico (mini pubertad) que evita en algunos casos la necesidad de realizar estimulación con hCG ya que las concentraciones basales de testosterona y DHT suelen

ser elevadas. Posterior a esta edad es mandatorio realizar determinaciones hormonales basales y post estímulo con hCG. Se consideran patológicos o sospechoso cocientes T/DHT 3 o 4 veces por encima de lo referido como normal. En nuestro servicio y así como en algunas revisiones bibliográficas consideramos sospecho de Déficit de 5 alfa reductasa cocientes T/DHT mayores o iguales a 20 ¹³.

También la determinación urinaria de los metabolitos 5 α reducidos de la de los andrógenos y glucocorticoides se encontrarían bajos y se puede utilizar para establecer el diagnóstico. De manera similar se debe estudiar la actividad de la 5 α en cultivo de fibroblastos de piel de genitales ²⁷.

3. JUSTIFICACIÓN

La Clínica de Trastornos de la Diferenciación Sexual del Hospital Infantil de México Federico Gómez esta conformada como un grupo de atención multidisciplinaria en la que participan Endocrinólogos Pediatras, Uro-Ginecólogos Pediatras, Genetistas, Psicólogos y Cirujanos Plásticos y es una de las Clínicas de mayor referencia a nivel Nacional. En esta Clínica se atienden un promedio de 400 pacientes al año, con 39 pacientes nuevos por año; y recientemente hemos tenido la posibilidad de iniciar la realización de estudios genéticos para confirmar la presencia de alteraciones moleculares en los genes de la 5 alfa reductasa tipo 2 y del receptor de andrógenos.

Es muy importante hacer el diagnóstico de certeza en cualquier patología sobre todo en los DSD, para poder brindar a nuestros pacientes la mejor opción terapéutica. Pero no es posible ni está indicado realizar el estudio molecular (Insensibilidad a los Andrógenos y Déficit de 5 alfa reductasa) en todos los pacientes con trastornos de la diferenciación sexual, por lo que es necesario el diagnóstico fenotípico inicial. Por esta razón consideramos que es importante establecer si hay una correlación entre el diagnóstico molecular y el diagnóstico fenotípico de estas dos patologías, que nos servirá para conocer que tan confiables son los criterios que utilizamos hasta el momento sobre todo las respuestas a la prueba de estimulación con hCG; y así determinar, si se podrían seguir utilizando para hacer diagnóstico y tomar conductas en estas dos patologías, teniendo en cuenta que el acceso al estudio molecular está aun muy limitado en muchas regiones de México y del mundo.

Además es esencial que conozcamos en nuestra Clínica cual es la frecuencia real dada por el estudio molecular, tanto de Insensibilidad a los Andrógenos como de Déficit de 5 alfa Reductasa en nuestros pacientes que actualmente tienen diagnóstico fenotípico de estos dos 46, XY DSD.

4. OBJETIVOS

Determinar si hay correlación entre el diagnóstico fenotípico (clínico, hormonal radiológico y anatomopatológico) con el diagnóstico molecular, en la población pediátrica con sospecha diagnóstica de Insensibilidad a andrógenos ó déficit de 5 alfa- reductasa que se encuentran en seguimiento en la Clínica de Trastornos en la Diferenciación Sexual del Hospital infantil de México Federico Gómez.

Tratar de estandarizar parámetros clínicos confiables al establecer correlación entre el diagnóstico fenotípico y el estándar de oro que es el estudio genético.

Determinar la frecuencia de Insensibilidad a los Andrógenos y de Déficit de 5 alfa reductasa por diagnóstico molecular en nuestros pacientes que actualmente tienen diagnóstico fenotípico de estas dos patologías.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

a. Diseño del estudio

Se trata de un estudio descriptivo, retrospectivo.

b. Población de Estudio

Todos los pacientes con diagnóstico fenotípico de Insensibilidad a los andrógenos y Déficit de 5 alfa reductasa en control médico en La Clínica de Trastornos de la Diferenciación Sexual del Hospital Infantil de México Federico Gómez, quienes cuentan con estudio molecular de los genes del receptor de andrógenos y la 5 alfa reductasa tipo 2 entre marzo de 2005, (fecha en la que empezó a realizar la secuenciación de estos genes) y junio de 2008.

c. Criterios de Inclusión

1. Pacientes con diagnóstico fenotípico de Insensibilidad a los Andrógenos y Déficit de 5 Alfa Reductasa. Fenotipo dado por las características a la exploración clínica, bioquímicas, radiológicas, y los hallazgos laparoscópicos e histopatológicos en aquellos pacientes que contaban con estos dos tipos de estudios.
2. Pacientes con estudio molecular de los genes que codifican para receptor de los andrógenos y la 5 alfa reductasa tipo 2.

d. Criterios de Exclusión

Pacientes que no cumplan con los criterios anteriormente descritos

e. Criterios de eliminación

Pacientes con sospecha diagnóstica inicial de Insensibilidad a los Andrógenos y Déficit de 5 Alfa Reductasa con pruebas moleculares para estas patologías, pero que durante el tiempo del estudio se corroboró otro tipo de 46, XY DSD (disgenesia gonadal, ovotesticular DSD, déficit de 17 β HSD3, ... etc.).

f. Descripción del estudio

Investigación clínica, radiológica y hormonal.

Se hizo revisión detallada de historia clínica de cada uno de estos pacientes; haciendo énfasis en: la edad a la primera consulta, antecedentes familiares de ambigüedad de genitales, consanguinidad, exposición a disruptores endocrinos en la madre antes o durante la gestación, características fenotípicas al ingreso, tamaño de tubérculo genital, palpación o no de gónadas y localización de las mismas, ubicación del meato uretral, características de pliegues labio escrotales y presencia o no de seno urogenital.

Se recabó resultados de cariotipo, las determinaciones hormonales, los hallazgos descritos en el ultrasonido pélvico y los hallazgos laparoscópicos e histopatológicos en los pacientes que contaban con estos 2 últimos estudios.

Todos estos pacientes contaban con determinaciones de testosterona (T) y dihidrotestosterona (DHT) basales y post estímulo con gonadotropina coriónica humana (hCG). Esta prueba en nuestro hospital es muy importante para hacer diagnóstico diferencial entre los 46, XY DSD. Esta estandarizado por el servicio de endocrinología hacerla con 1660 unidades im /día de hCG por 3 días. Se realizan determinaciones basales y post estímulo a las 24, 48 y 72 horas de T y DHT. Las determinaciones de testosterona se hacen por

quimioluminiscencia y se utiliza kit immulite de Siemens Medical Solutions y la DHT por Radioinmunoanálisis y se utiliza el kit Diagnostic Systems Laboratories Inc.

En nuestro servicio de endocrinología los niveles de T y DHT y otras determinaciones hormonales se comparan con los valores reportados con los índices internacionales para edad y tanner. Además se ha estandarizado como valor normal el cociente T/DHT < de 20; una relación igual o mayor a 20 se considera sospechoso de Déficit de 5 alfa reductasa. Para clasificar el grado de ambigüedad de genitales en los diferentes DSD se utiliza la escala de Prader. Va desde genitales femeninos normales, pasa por los diferentes grados de ambigüedad (I a V) hasta completamente femenino. Como se puede ver en figura 5.

Los pacientes con 46, XY DSD que tenían diagnóstico fenotípico de Insensibilidad a los Andrógenos se caracterizaban por presentar diferentes grados de ambigüedad de genitales y bioquímicamente por niveles elevados o normales de testosterona y cociente T/DHT < 20. Se clasificaron como Insensibilidad Completa a Andrógenos (ICA) los pacientes con genitales externos completamente femeninos e Insensibilidad Parcial a Andrógenos (IPA) los pacientes con diversos grados de subvirilización.

En los pacientes con 46, XY DSD con diagnóstico fenotípico de Déficit de 5 alfa reductasa clínicamente se clasificaron así por presentar genitales externos con diferentes grados de hipospadias y ambigüedad y además conciente T/DHT mayor de 20.

Gen del Receptor de Andrógenos y Gen de la 5 α -Reductasa tipo 2

El estudio molecular de DNA lo hace el Departamento de Genética y Biología Molecular del Hospital General de México. El ADN se extrae de los linfocitos en sangre periférica usando estándares internacionales. Para la

extracción del DNA de los linfocitos se usa el Kit DNA- Perfect Pure DNA Blood kit-up to 3ml Mat #2900320. Posteriormente se realiza la amplificación del ADN por PCR. Los productos ampliados por PCR del gen del Receptor de Andrógenos y del gen de de 5 alfa reductasa tipo 2 se muestran en las tablas 5 y 6. La secuenciación final se hace utilizando el biosecuenciador automático AB Applied Biosystem 3130 Genetic Analyzer.

Tabla 5. Productos amplificados por PCR del gen RA

Exón	Oligonucleótido	Fragmento amplificado
Exón 2	5'-TTCAGTGACATGTGTTGCATTGG-3' 5'-GGTTAGTGTCTCTCTCTGGAAG-3'	262 pb
Exón 3	5'-GTTTGGTGCCATACTCTGTCCAC-3' 5'-TCTGGTCTAAAGAGAGACTAG-3'	300 pb
Exón 4	5'-CCACTGATGTAAATTCAAGTCTCTC-3' 5'-CTAAATATGATCCCCCTTATC-3'	376 pb
Exón 5	5'-CCAACAGGGAGTCAGACTTAGC-3' 5'-AGGTCTGGCCAAGCTGCCTG-3'	277pb
Exón 6	5'-CCCTCATTCCCTTTTTCTCTG-3' 5'-GGCATTCCCTGCACTTCTAG-3'	195 pb
Exón 7	5'-TCTAATGCTCCTTCGTGGGC-3 5'-CAGGGAGAACAGCCTGATAGAG-3'	265 pb
Exón 8	5'-GAGGCCACCTCCTCTTGTCAAC-3' 5'-CAGATGTCTTCTGCCTGTTATAACT-3'	277 pb

Tabla 6. Productos amplificados por PCR del gen 5 alfa reductasa tipo 2

Exón	Oligonucleótido	Fragmento amplificado
Exón 1	5'-GCCGCGCTCTTCTGGGAG-3' 5'-AGTGCGCTGCACTGGGCGCC-3'	371 pb
Exón 2	5'-AACAGTGAATCCAACCTTTCCTCCC-3' 5'-TTGTTAGCTGGGAAGTAGGTGAGAAG-3'	245 pb
Exón 3	5'-TGTGAAAAAAGCACCACAATCTGGA-3' 5'-GCTCCAGGGAAGAGTGAGAGTCTGG-3'	212 pb
Exón 4	5'-TGCAATGATTGACCTTCCGATTCTTC-3' 5'-TGTTTGGAGAAGAAGAAAGCTACGTG-3'	241 pb
Exón 5	5'-TCAGCCACTGCTCCATTATATTTAC-3' 5'-TTGACAGTTTTTCATCAGATTGTGG-3'	170 pb

Para el gen del RA Inicialmente se hace la secuenciación de los exones 2-8, teniendo en cuenta como se había expresado anteriormente que el 90% de los defectos se encuentran localizados en estos exones ¹¹; y solo en los casos de sospecha muy alta de Insensibilidad a Andrógenos y que no se han encontrado mutaciones en los otros exones se realiza la secuenciación del exón 1 ¹². Para el gen SRD5A2 se hace la secuenciación de los 5 exones.

6. RESULTADOS

Se incluyeron en total 17 pacientes que cumplían con los criterios preestablecidos. Nueve casos con diagnóstico fenotípico de Insensibilidad a los Andrógenos y ocho con sospecha diagnóstica de Déficit de 5 α -Reductasa. Salieron del estudio 2 pacientes en los cuales se les confirmó diagnóstico por estudio histopatológico de Disgenesia gonadal mixta y Desorden en el Desarrollo Sexual ovotesticular (en la clasificación previa Hermafroditismo verdadero), un paciente de cada grupo.

Pacientes con Insensibilidad a los Andrógenos.

En los ocho pacientes con sospecha diagnóstica de Insensibilidad a los Andrógenos, el rango de edad vario entre 2 a 32 meses, con un promedio de 14 meses, el 50% de estos son menores de un año. Clínicamente estos menores se caracterizaron por un Prader I hasta III, niveles elevados ó normales de testosterona y relación T/DHT < 20, menos en uno de los ellos. Se clasificaron 2 de estos pacientes como Síndrome de Insensibilidad completa a los andrógenos (SICA), por fenotipo completamente femenino; y los otros 6 pacientes como Síndrome de Insensibilidad Parcial a Andrógenos (SIPA) por presentar diversos grados de sub- virilización. De esta serie se confirmó el diagnostico por estudio molecular en dos pacientes.

El paciente número 5 que por característica fenotípicas se clasifico como SICA. En este paciente se encontró una mutación puntual a nivel del exón 7 del gen del RA. La mutación encontrada fue A855H, reportada en la literatura como implicada en la etiología de esta patología.^{13, 14, 15} Este paciente fue valorado por primera vez a los 31 meses de edad, su cariotipo es 46 XY, tenia antecedentes familiares de ambigüedad de genitales en primas y tía en primer grado de consanguinidad (Tabla 8). A la exploración clínica se encontró fenotipo completamente femenino, tubérculo genital de 0.5 cm. de longitud, presencia de introito vaginal; se palparon gónadas en

ambos canales inguinales. En la prueba de estimulación con gonadotropina coriónica humana se observó una respuesta con niveles altos de testosterona, encontrándose en pico más alto a las 72 horas que fue de 619 ng/dl; todas las relaciones T/DHT en este paciente fueron <20. El Ultrasonido pélvico no mostró presencia de útero, anexos o restos Müllarianos (Tabla 7).

El otro paciente con diagnóstico molecular de Insensibilidad a los Andrógenos es el número 8; lo vimos por primera vez a la edad de 2 meses, sin antecedentes familiares de ambigüedad de genitales, con gestación fue normal evolutiva, sin exposición a disruptores endocrinos. La madre tiene antecedente de un mortinato. Este paciente se clasificó en el grupo de SIPA por las características de los genitales externos y niveles altos de testosterona. En su primera consulta el menor presentó un Prader III, con un falo de 1,2 cm, hipospadias perineo-escrotal y gónadas que se palpan en un escroto bifido. La prueba de estimulación con hCG que se le realizó a los 2 meses de vida, el nivel más alto de testosterona fue de 175 ng/dl a las 72 horas post estímulo, con un cociente T/DHT > 20, esta relación está en contra de lo que usualmente se ve en pacientes con SIPA. En el ultrasonido pélvico se observó imágenes sugestivas de testículos en canales inguinales y no se aprecian útero o anexos. La mutación reportada en el exón 8 fue la S888S, en esta se presenta la sustitución de una Serina por otra Serina que es codificada por una tripleta diferente (AGC-AGT). Esta mutación se reporta en la Base de Datos McGill de Mutaciones del gen del Receptor de Andrógenos, como responsable de Síndrome de Insensibilidad Parcial a los Andrógenos³².

Dos de estos pacientes, presentaron polimorfismos en su cariotipo (46XY 16qh+ y 46XY 9qh+16qh+22sat++) los cuales son considerados como variantes normales (ver tabla 8). El caso 3 de esta serie presentó simultáneamente elevación de testosterona y relaciones T/DHT > 20 en la primera prueba de estimulación con gonadotropina coriónica humana. Se realizó una nueva prueba luego de los dos años de edad en la que se

observa una respuesta testicular con nivel exacerbado de testosterona y relación T/DHT <20 por lo que se catalogó como insensibilidad a andrógenos. En este paciente se encontró una mutación puntual en el exón 1 de gen de 5- α reductasa tipo 2, (Glu57Gln) pero en uno solo de los alelos, por lo que no se considera responsable de la ambigüedad genital de este paciente. (Tabla 8)

Tabla 7. Hallazgos en ultrasonido y laparoscopia en pacientes con sospecha de Insensibilidad a los Andrógenos.

PACIENTE	USP	LAPAROSCOPIA
1	Testículo en canal inguinal izquierdo	NR
2	Útero, no testículos	NR
3	Testículo en pliegue labio escrotal izquierdo	Utrículo amplio
4	Testículos en canal inguinal Bilateral	NR
5	Testículos en canales inguinales	NR
6	No útero o anexos	NR
7	No útero	NR
8	Testículos en canales Inguinales	NR

*NR: NO SE REALIZO

Tabla 8. Características clínicas, hormonales y moleculares en los pacientes con sospecha de Insensibilidad a los Andrógenos.

PACIENTE No	EDAD meses	CARIOTIPO	ANTECEDENTES FAMILIARES DE AMBIGÜEDAD GENITAL	FENOTIPO	TIPO	PRADER	TESTOSTERONA Pos hCG PLASMA ng/dl	T/DHT	DEFECTO RA	DEFECTO SRD5A2
1	16	*46XY 16qh+	NO	ambiguo	SIPA	III	181	<20	NO	NO
2	4	46XY	NO	ambiguo	SIPA	II	364	<20	NO	NO
3	5	46XY	NO	ambiguo	SIPA	II	1075	>20	NO	Glu57Gln *
4	21	46XY	NO	ambiguo	SIPA	II	102	<20	NO	NO
5	31	46XY	PRIMAS, TIA (PGC)	femenino	SICA	femenino	619	<20	Exón 7 A855H	NO
6	32	46XY	NO	femenino	SICA	femenino	217	<20	NO	NO
7	2	*46XY 9qh+16qh+22sat++	NO	ambiguo	SIPA	II	165	<20	NO	NO
8	2	46XY	NO	ambiguo	SIPA	III	175	>20	Exón 8 S888S	NO

T: testosterona

DHT: dihidrotestosterona.

RA: gen del Receptor de Andrógenos

SICA: Síndrome de Insensibilidad Completa a los Andrógenos

SIPA: Síndrome de Insensibilidad Parcial los Andrógenos

*46XY 16qh+ y 46XY 9qh+16qh+22sat++ son polimorfismos normales

* Glu57Gln solo en uno de los alelos

SRD5A2: gen de la 5 α reductasa tipo 2.

hCG: hormona Gonadotropina Coriónica Humana

Pacientes con Déficit de 5 α - Reductasa

Clínicamente estos pacientes se presentaron con ambigüedad de genitales externos, con hipospadias en diferentes grados, con Prader I-IV y todos con un cociente T/DHT mayor de 20. El rango de edad para estos pacientes vario entre 4 días y 7 años con un promedio de 26 meses, Cabe destacar en este grupo los altos niveles de testosterona post estimulo encontrados tras la en los menores de 3 meses. De esta serie, coincidentalmente también se confirmó el diagnóstico de Déficit de 5 alfa Reductasa por estudio molecular en 2 pacientes.

El paciente número 6 consultó por primera vez a la edad de 84 meses (7 años). Se encuentra en rol social femenino. Tiene antecedente de hermana con ambigüedad de genitales e historia clínica a los 5 años de edad de herniorrafía inguinal izquierda con gonadectomía ipsilateral cuya biopsia reportó túbulos seminíferos (Este procedimiento se le realizó en otro centro hospitalario). Fenotípicamente con Prader II, falo de 2 cm de longitud, gónada palpable en pliegue labio-escrotal derecho de 1,5 cm³ de volumen, presencia de seno urogenital con hipospadias perineo escrotal. Su prueba de estimulación con gonadotropina coriónica humana muestra producción de testosterona, cuyo nivel más alto fue a las 72 horas (136), pero se observó escasa producción de DHT, la relación T/DHT a las 72 horas fue de 32 (tabla 9). El ultrasonido mostró presencia de gónada compatible con testículo a nivel de canal inguinal derecho, no se observó presencia de útero o anexos. En la secuenciación del gen para 5 α Reductasa tipo 2 (SDRA2) se encontró una delección completa del exón 4. Alteración reportada como infrecuente en las mutaciones del SDRA2. (Tabla 10)

El paciente 7, fue valorado por primera vez a la edad de 9 días, en su primera consulta se describe con genitales externos en Prader I-II. Con falo de 1 cm de longitud, gónadas en “labios mayores hipertróficos”, con seno urogenital en el cual desemboca el meato uretral. En este momento el paciente tiene 6 años de edad, esta asignando en rol masculino. Se le han

realizado 2 cirugías para corregir su hipospadias, con un falo de 3,5 cm de longitud y testículos en escroto bífido. La prueba se estimulación con hCG que se le hizo aproximadamente a los 15 días de vida muestra niveles de testosterona basal y post estímulo elevados para la edad, el pico más alto fue de 783 ng/dl y se encontró a las 48 horas post estímulo con hCG. Sin embargo los niveles de DHT resultaron bajos comparados con los valores de T, por lo que todas las relaciones T/DHT se encontraron por encima de 20, la determinación más alta fue de 27. El ultrasonido pélvico muestra gónadas en bolsas escrotales y no se evidenció la presencia de útero. El estudio molecular se le realizó a la edad de 6 años, y resulto ser un heterocigoto compuesto, uno de los alelos es portador de una transversión G por T en el exón 4, esta modificación cambia el aminoácido ácido glutámico por un ácido aspártico en el aminoácido 197 (E197D). En el otro alelo se identificó una transición de C por T en el exón 4, esta origina un codón de paro en el aminoácido 227 (R227stop) adicionalmente se identifico el polimorfismo V89L en el exón 1 que se ha demostrado que disminuye la actividad de la enzima. Figura 8.

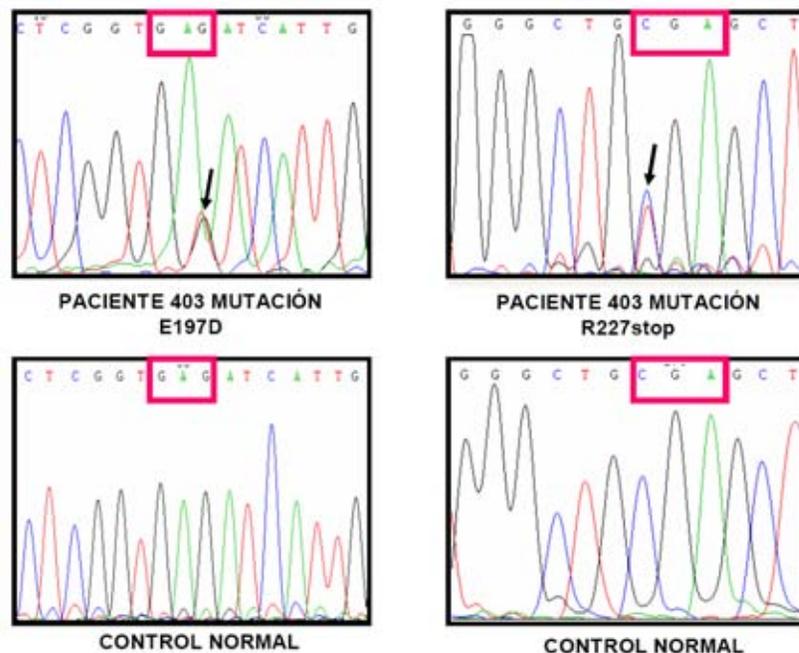


FIG. 8. Muestra las mutaciones encontrada a nivel del Exón 4 del gen *SDRA2* en el paciente Número 6. Servicio de Genética Hospital General de México.

Tabla 9. Características clínicas, hormonales y moleculares de pacientes con sospecha de 5 alfa reductasa

PACIENTE	EDAD	ANTECEDENTES FAMILIARES DE AMIGUEDAD	CARIOTIPO	FENOTIPO	PRADER	TESTOSTERONA POST ESTIMULO hCG PLASMA ng/dl	T/DHT	DEFECTO SDR5A2	DEFECTO RA
1	20 días	NO	46XY	ambiguo	III	431	>20	NO	NO
2	4 días	NO	46XY	ambiguo	II	345	>20	NO	NO
3	3 meses	NO	46XY	ambiguo	III	743	>20	NO	NO
4	51 meses	NO	46XY	Femenino	II	122	>20	NO	NO
5	26 días	NO	46XY	Masculino	IV	194	>20	NO	NO
6	84 meses	HERMANA	46XY	ambiguo	II	136	>20	Exón 4	NO
7	9 días	NO	46XY	Femenino	I-II	783	>20	Exón 4 - E197D - R227stop Exón1 - V89L	NO

T: testosterona

DHT: dihidrotestosterona.

RA: gen del Receptor de Andrógenos

SRD5A2: gen de la 5_α reductasa tipo 2.

SICA: Síndrome de Insensibilidad Completa a los Andrógenos

SIPA: Síndrome de Insensibilidad Parcial los Andrógenos

hCG: hormona Gonadotropina Coriónica Humana

Tabla 10. Hallazgos en ultrasonido y laparoscopia en pacientes con sospecha de Déficit de 5 a reductasa.

PACIENTE	ULTRASONIDO PÉLVICO	LAPAROSCOPIA
1	Testículos en pliegues labio escrotales	NR
2	Testículos en regiones inguinales	NR
3	No se detectan genitales internos	NR
4	útero y ovarios normales para la edad	utrículo prominente, ambos conductos deferentes, testículos en canales inguinales
5	No se observan testículos	Testículos intrabdominales, con epidídimos.
6	Testículo canal inguinal derecho no se observan útero u ovarios	NR
7	Gónadas en bolsas escrotales, no se observa útero	NR

*NR: NO SE REALIZO

Del total de nuestra serie de 15 pacientes con desorden del desarrollo sexual 46XY, con diagnóstico fenotípico de Insensibilidad a andrógenos y Déficit de 5 alfa reductasa, en 4 de ellos pudimos corroborar el diagnóstico por estudio molecular. De acuerdo a esto podemos decir que en general confirmamos el diagnóstico por estudio molecular en el 26.6% de nuestros pacientes estudiados, este resultado es compatible con los reportes a nivel mundial ¹. En los pacientes con Insensibilidad a los Andrógenos confirmamos el diagnóstico en el 25% y en el 28,5% del total de pacientes con diagnóstico fenotípico de 5 alfa Reductasa.

Dos de los pacientes con diagnóstico comprobado, compartieron algunas características comunes tales como, antecedentes familiares de ambigüedad de genitales, primera consulta y por ende diagnóstico posterior a los dos años de edad esto que implica que todos los estudios diagnósticos y sobre todo las pruebas de estimulación se realizaron posterior a esta edad, esto puede estar a favor de un diagnóstico fenotípico más confiable.

7. DISCUSIÓN

En los Desordenes del Desarrollo Sexual, Sobre todo en los 46, XY DSD, no solo el aspecto de los genitales externos es importante para la asignación del sexo del recién nacido, muy frecuentemente se deben agotar todos los recurso clínicos disponibles para llegar a un diagnóstico preciso, oportuno y así poder asignar género al recién nacido. Idealmente esto debe realizarse antes de que el paciente defina el género desde el punto de vista psicológico, dadas las implicaciones sociales y legales que esto conlleva. Además un diagnóstico preciso nos permite predecir la respuesta a un posible tratamiento médico y quirúrgico ^{16, 17}.

Los recursos clínicos incluyen los hallazgos a la exploración física, cariotipo, hallazgos en ultrasonido y en caso necesario las características de los genitales internos por la laparoscopia exploratoria así como los resultados histopatológicos. De suma importancia en el diagnóstico son los resultados de las determinaciones bioquímicas en especial la respuesta de las gónadas a la producción de testosterona y su posterior transformación a DHT previa estimulación con gonadotropina coriónica humana. Prueba con gran relevancia clínica hasta el momento para hacer diagnóstico diferencial en este tipo de patologías ^{18, 19,20, 21}.

Sin embargo, es el estudio molecular con demostración de la mutación o mutaciones el que establece el diagnóstico etiológico definitivo. Desafortunadamente hasta momento solo en alrededor del 20% de todos los DSD a nivel mundial se corrobora el diagnóstico por estudio molecular ². Se ha descrito mayor dificultad para diagnosticar los 46,XY DSD ya que en la actualidad aun con la disposición de los adelantos científicos y tecnológicos, más del 50% de estos casos se quedan sin diagnóstico ^{4, 7}.

En este estudio pudimos confirmar el diagnóstico de certeza en solo 4 del total nuestros pacientes, llegado a la conclusión que en la mayoría de los

casos el diagnóstico fenotípico que hasta el momento realizamos no se correlaciona con el diagnóstico por estudio molecular. Pero a pesar de esto y aunque esta sea una serie pequeña, los resultados son representativos y coinciden con la estadística reportada a nivel mundial, ya que corroboramos el diagnóstico por estudio molecular en el 26.6% del total de nuestros pacientes.

Específicamente de cada serie, en el 25% de los pacientes con diagnóstico fenotípico de Insensibilidad a los Andrógenos y en el 28,5% de los pacientes con Déficit de 5 alfa reductasa se hizo diagnóstico molecular de estas patologías. Estos datos no corresponden con los reportados en la literatura donde se hacen más diagnósticos moleculares de Insensibilidad a los Andrógenos que de Déficit de 5 alfa reductasa.

Las posibles explicaciones de todos estos hallazgos se deban, a que tal vez algunos de nuestros pacientes correspondan a otra patología no sospechada con características fenotípicas similares a la Insensibilidad a los Andrógenos o al Déficit de 5 alfa Reductasa y que para su diagnóstico igualmente requeriríamos el estudio molecular específico (el cual no es posible hacerlo en nuestro hospital en este momento), o la confirmación histopatológica que tampoco está indicado hacerla en todos los pacientes. Entre esas patologías a descartar estarían: Déficit de 17β -HSD, el Déficit de 3β -HSD, disgenesia gonadal completa 46 XY, ovotesticular DSD Figura 9. Pero también debe considerarse la posibilidad que estos pacientes (sin diagnóstico molecular) presenten mutaciones Intrónicas no detectadas, o anomalías en alguno de los genes que codifican la síntesis de factores co-reguladores (co-activadores, co-represores) que intervienen en la transcripción génica que no han sido descritas, esta hipótesis ha sido explicada sobre todo en Insensibilidad a los andrógenos. Otra posible explicación de la falta de correlación fenotipo-genotipo, puede ser explicada por el fenómeno de Epistasia que hace alusión a la interacción biológica entre 2 o más genes para determinar las características fenotípicas de los individuos ⁴¹.

RECIEN NACIDO CON GENITALES AMBIGUOS

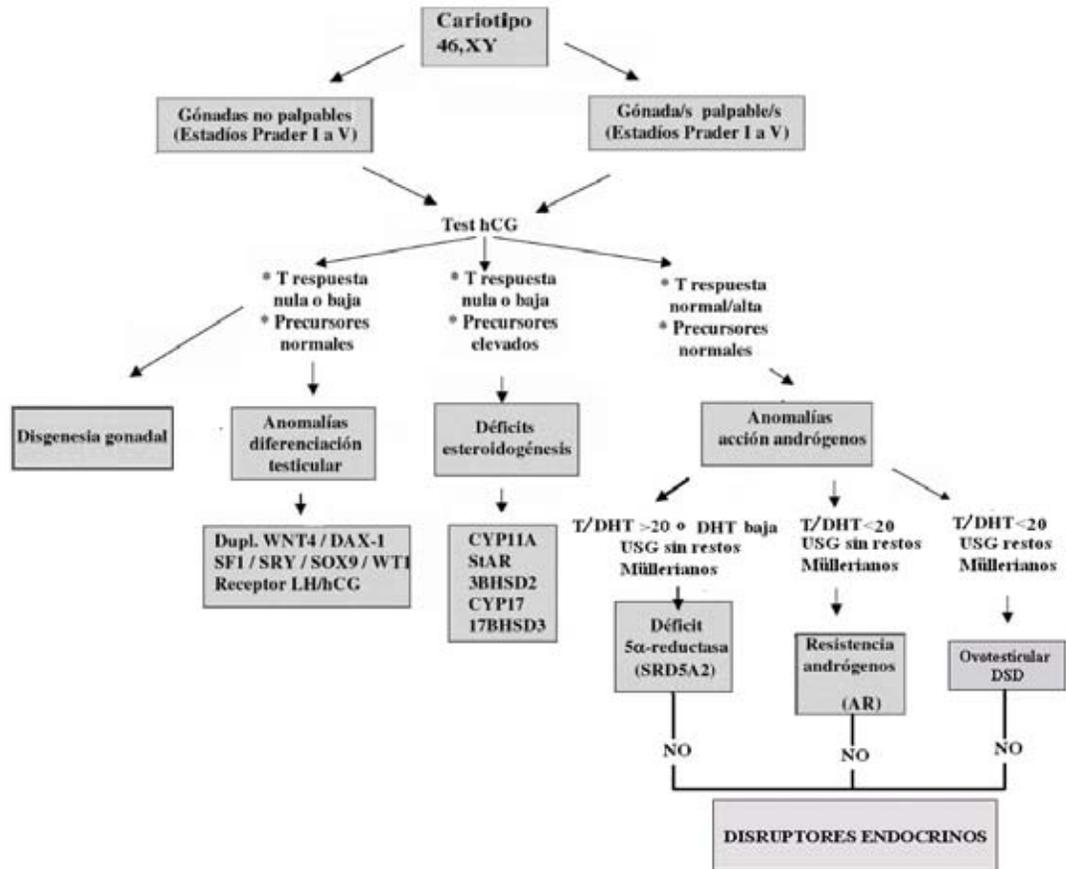


FIG. 9. Algoritmo para hacer el diagnóstico de los 46, XY DSD.

También, debemos tener en cuenta que el proceso embrionario de la diferenciación sexual es dinámico e influenciado por muchos factores. Se han asociado disruptores endocrinos responsables de ambigüedad de genitales, tal como la exposición a productos que contienen estrógenos como la genisteína que es un fitoestrógeno presente en dietas ricas en soja; o bien productos que imitan a los estrógenos como el DDT que se ha comprobado ser responsables de alteraciones genitourinarias como criptorquidia, hipospadias, cáncer de testículo e infertilidad ⁴². Así como también productos que contengan andrógenos, progestágenos que son de

uso cotidiano como cosméticos, filtros solares, espermicidas (preservativos), jabón, etc.

Adicionalmente y aun cuando no era el objetivo de este estudio, nos llamó la atención que algunos resultados de las pruebas de estimulación con hCG realizadas antes de los 2 años de edad pueden ser poco específicos y se modifican cuando se repiten posteriores a esta edad. Teniendo en cuenta esto y considerando que hasta el momento esta prueba continua siendo un elemento importante en el diagnóstico de estas patologías, sobre todo en lugares donde el estudio molecular no es un prueba de fácil acceso, nuestra recomendación sería que esta prueba se realice a una edad mayor a los 2 años ya que la incongruencia en los datos nos pueden orientar a diagnósticos erróneos. Consideramos que este será tema de un próximo estudio que pretenda explicar las posibles causas de este hallazgo.

8. REFERENCIAS

1. Dessens AB, Slijper FM, Drop SL. Gender dysphoria and gender change in chromosomal females with congenital adrenal hyperplasia. *Arch Sex Behav.* 2005; 32:389-397
2. Lee PA, Houk CP, Ahmed SF, et al., in collaboration with the participants in the 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. *Pediatrics* 2006; 118:814–815.
3. Nabhan Z, Lee P. Disorders of sex development. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology.* 2007; 19: 440- 445.
4. Morel Y, Rey R, Teinturier C, et al. Aetiological diagnosis of male sex ambiguity: a collaborative study. *Eur J Pediatr.* 2002;161: 49–59.
5. Ahmed SF, Cheng A, Dovey L, et al. Phenotypic features, androgen receptor binding, and mutational analysis in 278 clinical cases reported as androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85:658 – 665.
6. Rajesh R. Joshi, Sudha Rao and Meena Desai. Etiology and Clinical Profile of Ambiguous Genitalia - An Overview of 10 Years Experience. *Indian Pediatrics* Volume 43- November 17, 2006.
7. Ogilvy-Stuart AL, Brain LE. Early assessment of ambiguous genitalia. *Arch Dis Child* 2004; 89: 401-407.
8. Committee on Genetics, Section on Endocrinology and Section on Urology. Evaluation of the Newborn With Developmental Anomalies of the External Genitalia. *Pediatrics* 2000; 106; 138-142.
9. Hughes IA. Intersex. *BJU International.* 2002, 90; 769–776
10. Quillin JM, Jackson-Cook C, Bodurtha J. The link between providers and patients: how laboratories can ensure quality results with genetic testing. *Clin Leadersh Manag Rev.* 2003; 17: 351-357.
11. Gottlieb B, Beitel LK, Wu JH, Trifiro MA. The Androgen Receptor Gene Mutations Database (ARDB): 2004 Update. *Human Mutation* 2004; 23:527-533.
12. Gottlieb B, Vasiliou DM, Lumbroso R, Beitel LK, Pinsky L, Trifiro MA. The Androgen Receptor gene mutations database. *Nucleic Acids Res* 1998 26: 234-238

13. Garry LW, Jeffrey DZ. Evaluation of a child with ambiguous genitalia: A practical guide to diagnosis and management. *In: Pediatric Endocrine Disorders*. Meena PD, Vijayalaxmi B, Menon PSN, Eds. Orient Longman Ltd., 2001; 257-276.
14. Pagon RA, Tarczy-Hornoch P, Baskin PK, et al. GeneTests-Gene Clinics: genetic testing information for a growing audience. *Hum Mut*. 2002; 19:501–509
15. Boehmer et al; *Am J Hum Genetics* 60: 1003-6, 1997; *Clin Endocrinology* 45: 733-739, 1996.
16. Warne GL, Grover S, Zaac JD. Hormonal therapies for individuals with intersex conditions: protocol for use. *Treat Endocrinol*. 2005; 4:19-29.
17. Piro C, Audi L, Fernández M, Martín JA, Toran N, Asensio M, Lezcano A, Carrascosa A. Diagnóstico y tratamiento quirúrgico del pseudohermafroditismo masculino en una unidad multidisciplinaria de estados intersexuales. *Cirugía Pediátrica* 2004; 17: 70-75.
18. Grant DB, Laurance BM, Atherden SM and Ryness J. HCG stimulation test in children with abnormal sexual development. *Archives of Disease in Childhood*, 1976. Vol 51, 596-601.
19. Davenport M, Brain C, Vandenberg C, et al. The use of the hCG stimulation test in the endocrine evaluation of cryptorchidism. *Br J Urol* 1995; 76:790–4.
20. Kolon T, Millar O. Comparison of Single Versus Multiples Dose Regimenes for the Human Chorionic Gonadotroic stimulatory Test. *The Journal of Journal of Urology*L. 2001. Vol. 166, 1451–1454,
21. Pang S, Levine LS, Chow D, Sagian F, Saenger P, New MI. Dihydrotestosterone and its relationship to testosterone in infancy and childhood. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 48:821–6.
22. Heinlein CA, Chang C. Androgen Receptor (AR) Coregulators: An Overview. *Endocrine Reviews*. 2002; 23(2):175–200.
23. Heemers HV, Tindall DJ. Androgen Receptor (AR) Coregulators: A Diversity of Functions Converging on and Regulating the AR Transcriptional Complex. *Endocrine Reviews*, December 2007, 28(7):778–808.
24. Quigley CA, De Bellis A, Marschike KB, El – Awady MK, Wilson E, French FS. Androgen Receptor Defects: Historical, Clinical, and Molecular Perspectives. *Endocrine Reviews*; 1995 Jun; 16(3):271-321.

25. Yong EL, Loy CJ, Sim KS: Androgen receptor gene and male infertility. *Hum Reprod Update* 2003; 9:1-7.
26. Hughes IA, Evans BAJ: The fibroblast as a model for androgen resistant stages. *Clin Endocrinol* 1988; 28:565-579.
27. Thiele S, Hoppe U, Holterhus P-M, et al: Isoenzyme type 1 of 5alpha-reductase is abundantly transcribed in normal human genital skin fibroblasts and may play an important role in masculinisation of 5alpha-reductase type 2 deficient males. *Eur J Endocrinol* 2005; 152:875-880
28. Audí L, Tóran N, Martínez J. Anomalías de la diferenciación sexual. in Pombo M. and col. *Tratado de Endocrinología Pediátrica*. 3ª ed. Madrid: España; McGraw- Hill. Interamericana 2002:836-879.
29. Regadera j, Martinez f, Paniagua R, Nistal M. Androgen insensitivity syndrome: An immunohistochemical, ultraestructura, and Morphometric study. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*; Mar 1999; 123, 3;225-234.
30. Boehmer AL, Brinkmann AO, Bruggenwirth H, et al: Genotype versus phenotype in families with androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4151-4160
31. Brown TR. Human androgen insensitivity syndrome. *J andro*1995; 16:299-303
32. The McGill Androgen Receptor Gene Mutation Database. The Androgen Receptor Gene Mutations Database World Wide Web Server. <http://www.androgen.mcgill.ca>.
33. Hiort O, Sinnecker GH, Holterhus PM, Nitsche EM, Kruse K. Inherited and de novo androgen receptor gene mutations: investigation of single-case families. *J Pediatr* 1998; 132: 939-943.
34. Imperato-McGinley J, Guerrero L, Gautier T, et al: Steroid 5α-reductase deficiency in man: an inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science* 1974; 186:1213-1215
35. Achermann JC, Hughes IA. Disorders of Sex Development. In Kronenberg H, Melmed S, Kenneth S. Polonsky K, Larsen P. *Williams Textbook of Endocrinology, 11th ed*. Saunders, Elsevier ; Philadelphia, USA Saunders, Elsevier. 2008: 783-848.
36. Cools M, Drop SL, Wolffenbuttel KP, et al: Germ cell tumors in the intersex gonad: old paths, new directions, moving frontiers. *Endocr Rev* 2006; 27:468-484.

37. Cassio A, Cacciari E, D'Errico A, et al: Incidence of intratubular germ cell neoplasia in androgen insensitivity syndrome. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1990; 123:416-422.
38. Sinnecker GH, Hiort O, Nitsche EM, et al: Functional assessment and clinical classification of androgen sensitivity in patients with mutations of the androgen receptor gene. German Collaborative Intersex Study Group. *Eur J Pediatr* 1997; 1:7-14.
39. Ahmed SF, Cheng A, Hughes IA: Assessment of the gonadotropin-gonadal axis in androgen insensitivity syndrome. *Arch Dis Child* 1999; 80:324-329.
40. Wilson JD, Griffin JE, Russell DW: Steroid 5 α -reductase 2 deficiency. *Endocr Rev* 2003; 14:577-593.
41. Wilson SR. Epitasis and its possible effects on transmission disequilibrium test. *Annals of Human Genetics* 65: 565-575.
42. Kim KS, Torres CRJr, Yucel S, Raimondo K, Cunha GR, Baskin LS. Induction of hypospadias in a murine model by maternal exposure to synthetic estrogens. *Environ Res* 2004; 94: 267-275.