

ANALES

Suplemento 79 • MAYO 1996

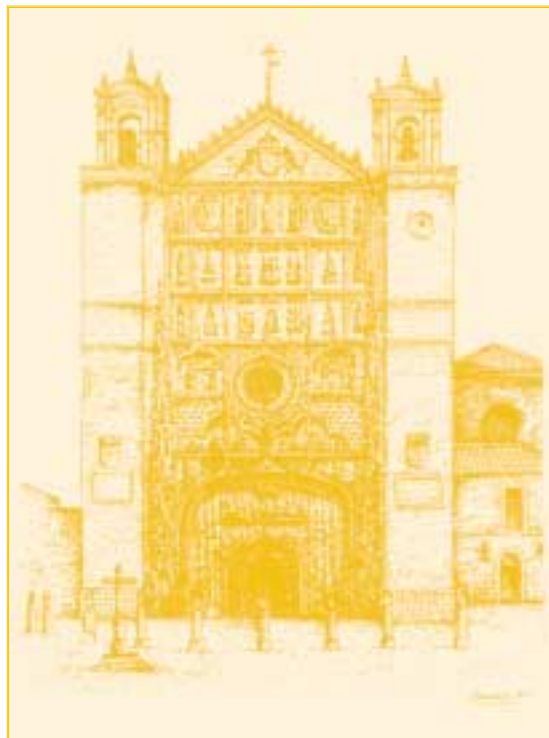
ESPAÑÓLES DE PEDIATRÍA



Publicación Oficial de la Asociación Española de Pediatría (A.E.P.)
Miembro de la Asociación Internacional de Pediatría (I.P.A.)

79

XVIII CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ENDOCRINOLOGIA PEDIATRICA



VALLADOLID, 16 AL 18 DE MAYO DE 1996

ERGON

ANALES ESPAÑOLES DE PEDIATRÍA

Suplemento 79

Mayo 1996

Publicación Oficial de la Asociación Española de Pediatría (A.E.P.)
Miembro de la Asociación Internacional de Pediatría (I.P.A.)
Reseñada periódicamente en Excerpta Médica, Index Medicus e Índice Médico Español

Directores honorarios: E SANCHEZ VILLARES†
M BUENO SANCHEZ

Director	Secretarios de Redacción	Consejo Asesor	Comité Ejecutivo
J RODRIGUEZ SORIANO	G BUENO LOZANO SANTOS GARCIA G. M SANCHEZ LUNA (Medicina Fetal y Neonatología)	JUNTA DIRECTIVA DE LA AEP	PRESIDENTES DE LAS SECCIONES DE ESPECIALIDADES

Consejo de Redacción

J ALBA LOSADA	E DOMENECH MARTINEZ	M MOYA BENAVENT
F J ALVAREZ GUIASOLA	J DONAT COLOMER	M T MUÑOZ CALVO
A ARBELO LOPEZ DE LETONA	R ESCORIHUELA ESTEBAN	J NAVARRO GONZALEZ
J L ARCE GARCIA	A FERRANDEZ LONGAS	A NOGALES ESPERT
J ARDURA FERNANDEZ	G FONTAN CASARIEGO	J A OJEDA CASAS
J ARGEMI RENOM	J M FRAGA BERMUDEZ	JL OLIVARES LOPEZ
J ARGENTE OLIVER	J M GARAGORRI OTERO	I PASCUAL CASTROVIEJO
A BALLABRIGA AGUADO	A GALLART	JM PEREZ GONZALEZ
A BLANCO QUIROS	A GARCIA CATALA	I PLAZA MONTERO
E BLESAS SANCHEZ	C GARCIA CABALLERO	I POLANCO ALLUE
J BOIX OCHOA	M GARCIA FUENTES	M POMBO ARIAS
L BONE SANDOVAL	J GONZALEZ HACHERO	J POZO ROMANS
E BORRAJO GUADARRAMA	M HERNANDEZ RODRIGUEZ	J PRATS VIÑA
J BRINES SOLANES	R JIMENEZ GONZALEZ	J QUERO JIMENEZ
L M CALLIS BRACONS	A LEGIDO CAMEO	M QUERO JIMENEZ
C A CANOSA MARTINEZ	M LOPEZ-LINARES	F J RAMOS FUENTES
J J CARDESA GARCIA	G LOPEZ PEREZ	J RODRIGUEZ SORIANO
J CASADO FLORES	J P LOPEZ SAMBLAS	A ROMANOS LEZCANO
E CASADO DE FRIAS	J LLORENS I TEROL	V SALAZAR ALONSO-VILLALOBOS
M CASANOVA BELLIDO	F LORENTE TOLEDANO	J I SANCHEZ DIAZ
M CASTRO GAGO	J LUCAYA LAYRET	A SARRIA CHUECA
J COLOMER SALA	L MADERO LOPEZ	R TOJO SIERRA
M CRESPO HERNANDEZ	A MARTINEZ VALVERDE	J A TOVAR LARRUCEA
M CRUZ HERNANDEZ	J MATOS AGUILAR	A VALLS I SOLER
J CUBELLS RIERO	J A MOLINA FONT	F VALVERDE MORENO
A DELGADO RUBIO	M MORO SERRANO	C VAZQUEZ GONZALEZ
J DIEZ PARDO	J MORENO MARTIN	I VILLA ELIZAGA

Edición y Publicidad



**EDICIONES
ERGON, SA**

Antonio López, 236 - 28026 Madrid
Tel. (91) 500 01 14 - Fax (91) 792 40 13

Berruguete, 50 - 08035 Barcelona
Tel. (93) 428 55 00 - Fax (93) 428 56 60

Secretaría de Redacción

P González Gómez
ANALES ESPAÑOLES DE PEDIATRÍA
Antonio López, 236 - 3º. 28026 Madrid

Depósito Legal: M-19-240-1968

ISSN: 0302-4342



Difusión controlada por OJD
Soporte válido Ref. SVR nº 9

Impreso en papel libre de ácido



Printed on acid free paper

ANALES ESPAÑOLES DE PEDIATRÍA

Suplemento 79

Mayo 1996



JUNTA DIRECTIVA DE LA A.E.P.

Presidente

M MOYA BENAVENT

Vicepresidente

J DEL POZO MACHUCA

Secretario General

L MADERO LOPEZ

Tesorero

M GARCIA-ONIEVA ARTAZCOZ

Vocales de las secciones

F BALLESTA MARTINEZ

A FERRANDEZ LONGAS

MG GARCIA HERNANDEZ

A MARTIN MATEOS

Director de Anales Españoles de Pediatria

J RODRIGUEZ SORIANO

Presidente XX Congreso Español de Pediatría

A MARTINEZ VALVERDE

Vocales

A BALDELLOU VAZQUEZ

JM CASASA I CARBO

M CUESTA GIMENO

MC GAGO GARCIA

J GONZALEZ HACHERO

B JIMENEZ COBO

S MALAGA GUERRERO

C MARINA LOPEZ

JM MARTINON SANCHEZ

L ORTEGA MARTOS

M PAJARON DE AHUMADA

JC VITORIA CORMENZANA

A ZURITA MOLINA

COMITE EJECUTIVO

Presidentes de las Sociedades y Secciones de Especialidades de la A.E.P.

G MERINO BATRES

Cardiología Pediátrica

A MARQUES GUBERN

Cirugía Pediátrica

JM MARTINON SANCHEZ

Cuidados Intensivos Pediátricos

J BRINES SOLANES

Educación Pediátrica

M OYARZABAL IRIGOYEN

Endocrinología Pediátrica

C SIERRA SALINAS

Gastroenterología y Nutrición Pediátrica

A PEREZ AYLES

Genética y Dismorfología

R FERNANDEZ-DELGADO CERDA

Hematología Pediátrica

MT LASO BORREGO

Inmunología y Alergia Pediátrica

P BRAÑAS FERNANDEZ

Medicina del Adolescente

A VALLO BOADO

Nefrología Pediátrica

E DOMENECH MARTINEZ

Neonatología

M PAJARON DE AHUMADA

Neumología Pediátrica

J CAMPISTOL PLANA

Neurología Pediátrica

A MUÑOZ VILLA

Oncología Pediátrica

J DEL POZO MACHUCA

Pediatria Extrahospitalaria

JA MOLINA FONT

Pediatria Social

JL PEDREIRA MASSA

Psiquiatría Infantil

H CORTINA ORTS

Radiología Pediátrica

ANALES ESPAÑOLES DE PEDIATRÍA

Suplemento 79

Mayo 1996



XVIII CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ENDOCRINOLOGIA PEDIATRICA DE LA A.E.P.

VALLADOLID, 16-18 DE MAYO DE 1996

JUNTA DIRECTIVA DE LA SOCIEDAD DE ENDOCRINOLOGIA PEDIATRICA DE LA A.E.P.

Presidenta
M. OYARZABAL IRIGOYEN

Secretaria
M. RODRIGUEZ RIGUAL

Vocales
L. AUDI PARERA
J.M. FERNANDEZ GARCIA
E. MAYAYO DEHESA
E. ALVAREZ APARICIO

COMITE ORGANIZADOR DEL XVIII CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ENDOCRINOLOGIA PEDIATRICA DE LA A.E.P.

Presidenta
M. JOSE MARTINEZ SOPENA

Vicepresidenta
FLORINDA HERMOSO LOPEZ

Vocales
JESUS PRIETO VEIGA
EDUARDO ALVAREZ APARICIO
JESUS CEDEÑO MONTAÑO
ANA BLANCO QUIROS
ELENA BURON MARTINEZ
CARMEN CALVO ROMERO
PILAR SOLIS SANCHEZ



XVIII CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ENDOCRINOLOGIA PEDIATRICA DE LA A.E.P.

VALLADOLID, 16-18 DE MAYO DE 1996

SUMARIO

MESA REDONDA

- 1 **La détermination du sexe chez l'home: Un puzzle dont on commence a identifier les pieces**
M. Desclozeaux, F. Poulat, S. Soullier, B. Boizet, P.H. Berta
- 7 **Ontogenesis de la secreción y acción de la hormona Anti-Mülleriana**
R. Rey, N. Josso
- 12 **Pseudohermafroditismo masculino interno: Síndrome de persistencia de conductos de Müller**
S. Imbeaud, C. Belville, R. Rey, N. Josso, J-Y. Picard
- 14 **Génétique des pseudo-hermaphrodismes masculins par anomalies de la synthèse de la testostérone**
Y. Morel, L. Caemard-Michel, S. Portrat-Doyen, F. Mebarki
- 27 **Androgenes et différenciation sexuelle**
S. Lombroso, J.M. Lobaccaro, C. Sultan
- 33 **Anomalies de la différenciation sexuelle masculine: Déficit en 5 α reductase et insensibilités aux androgènes**
S. Lombroso, J.M. Lobaccaro, C. Sultan

I CONFERENCIA EXTRAORDINARIA

- 39 **Fundamentos genético-hormonales en la regulación del crecimiento humano**
J. Argente Oliver

II CONFERENCIA EXTRAORDINARIA

- 44 **Hypoglycemia unawareness in IDDM**
C.G. Fanelli

46 COMUNICACIONES

56 POSTERS

La Détermination du Sexe chez l'homme: Un Puzzle dont on Commence à Identifier les Pièces

M. Desclozeaux, F. Poulat, S. Soullier, B. Boizet, P.H. Berta

Introduction

Pour expliquer les différences entre les sexes, et la proportion de l'un par rapport à l'autre, il est nécessaire de proposer l'existence de cascades de gènes conduisant à la mise en place soit de caractéristiques sexuelles mâles soit de caractéristiques femelles. Le choix de l'une ou l'autre voie sera quand à lui sous le contrôle d'une sorte d'interrupteur, ce que les Anglo-saxons appellent un «switch mechanism». L'existence de deux sexes étant une donnée quasi générale dans la nature, on pourrait s'attendre à ce que les mécanismes génétiques interrupteurs conduisant au développement d'un individu en mâle ou en femelle soient conservés au cours de l'évolution. La comparaison de ces mêmes mécanismes chez des espèces parfaitement bien étudiées comme *Drosophila melanogaster* et *Caenorhabditis elegans* avec les premières données que nous possédons chez les mammifères nous font en première analyse repousser cette attente. En effet, si *C. elegans* tout comme *Drosophila* utilisent bien des cascades de détermination du sexe reposant chacune sur des groupes de gènes fort différents, toutes deux dépendent comme facteur déterminant du rapport du nombre de chromosomes X sur le nombre d'autosomes (X:A ratio).

Pendant de très nombreuses années, on imagina un schéma comparable pour l'homme et les autres mammifères dont la détermination du sexe pourrait être sous la seule dépendance du nombre de chromosomes X. L'étude cytogénétique de patients porteurs d'anomalies constitutionnelles en terme de nombre de chromosomes sexuels permit au début des années 60 de rejeter cette hypothèse. La femme de constitution chromosomique normale a deux chromosomes X, l'homme un chromosome X et un chromosome Y. Cependant, tout individu avec un seul chromosome X en absence de chromosome Y (Turner 45, X0) sera féminin, alors que tout individu porteur de plusieurs chromosomes X en présence du chromosome Y sera masculin (par exemple Klinefelter 47, XXY).

L'homme et l'ensemble des mammifères possèdent donc un chromosome Y dominant nécessaire à la détermination du sexe mâle. Les trente dernières années ont vu une recherche acharnée pour délimiter la portion de chromosome Y, puis le gène porté par le chromosome Y responsable de cette action dominante.

La détermination du sexe chez les mammifères: premières règles

Comment ne pas citer ici les expériences pionnières d'Alfred Jost réalisées sur des embryons de lapin *in utero*? Ces dernières permirent de démontrer très tôt la production par le testicule de facteurs induisant le développement mâle (Jost, 1953). De la castration d'un embryon mâle résultera la mise en place d'un tractus génital et d'organes génitaux externes femelles. Par contre, cette même castration réalisée chez un embryon femelle ne modifiera pas son phénotype, ce qui implique que les ovaires ne sont pas nécessaires à la différenciation femelle. Les effets masculinisants du testicule sont le résultat d'une double émission hormonale par ce dernier: production de testostérone émise par les cellules de Leydig, et émission d'hormone anti-Müllérienne (AMH ou MIS) par les cellules de Sertoli (Jost et al., 1973). Le sexe de la troisième grande catégorie de cellules du testicule, les cellules germinales, sera quand à lui parfaitement indépendant de leur constitution chromosomique.

C'est donc bien la différenciation gonadique qui ultérieurement pilotera la différenciation sexuelle de l'embryon. Ce choix au cours de la vie embryonnaire (aux alentours de la 6^{ème} semaine de développement chez l'homme) entre la formation d'un testicule et celle d'un ovaire correspond au processus de *détermination* du sexe alors que les étapes ultérieures sous le contrôle hormonal de ces mêmes gonades après leur formation correspond au processus de *différenciation* du sexe.

Comme nous l'avons déjà mentionné en introduction, la base de la détermination du sexe chez les mammifères est de type chromosomique:

- absence de chromosome Y: individus féminins (Ford et al., 1959);
- présence d'un chromosome Y quelque soit le nombre de chromosomes X associés: individus masculins (Jacobs et Strong, 1959).

Si le chromosome Y exerce donc une action dominante nécessaire à la formation des testicules, il n'en reste pas moins que l'on peut se questionner sur la localisation de tous les gènes nécessaires à la formation du testicule sur le chromosome Y, ou sur la seule localisation sur l'Y d'un gène régulateur («master gene») contrôlant d'autres gènes localisés ailleurs sur le génome. Comme nous le verrons, c'est bien cette dernière possibilité qu'il faudra retenir, d'où l'introduction de la notion de TDF («Testis Determining Factor») chez l'homme, et de Tdy («Testis determining Y-gene») chez la souris.

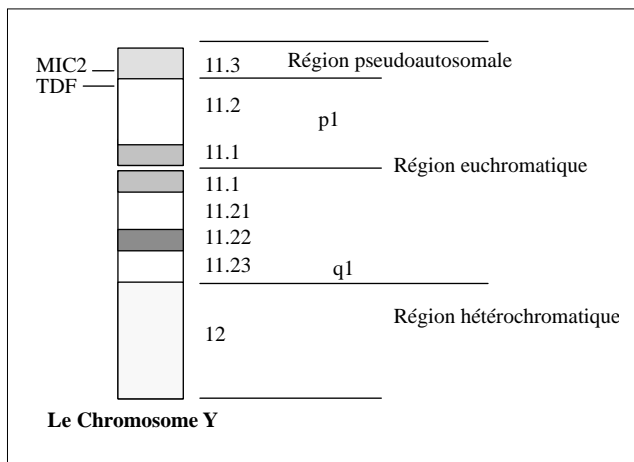


Figure 1. Le chromosome Y humain.

Le chromosome y humain

Ce petit chromosome (environ 60 mégabases, soit moins d'un tiers du chromosome X) est hautement spécialisé pour sa fonction de détermination du sexe. On peut ainsi le subdiviser en trois domaines d'importance physique très inégale (Fig. 1):

- *La région pseudo-autosomique (PAR)* à l'extrémité du bras court du chromosome Y et commune à une région en même position sur le bras court du chromosome X. Cette région permettra l'association des deux chromosomes sexuels au cours de la méiose (Chandley, 1988), association nécessaire à leur parfaite ségrégation et assurant ainsi la génération d'un rapport homme/femme égal. Au cœur de cette région, au cours de la méiose, une recombinaison très particulière a été décrite: recombinaison unique mais obligatoire entraînant l'échange de matériel génomique entre les chromosomes sexuels (Simmler et al., 1985; Cooke et al., 1985). Les séquences ou les gènes localisés dans ce domaine ne seront plus que partiellement liés au sexe, ce qui a permis la construction d'une carte méiotique de cette région pseudo-autosomique (Weissenbach et al., 1987).
- *La région euchromatique* du chromosome comprenant le reste du bras court, la région centromérique et la portion proximale du bras long. C'est bien dans cette région spécifique du chromosome Y que doit se localiser la fonction TDF.
- *La région hétérochromatique* du bras long, de longueur variable, et où par définition aucun gène ne se trouve localisé.

Une recombinaison anormale dans ces deux dernières régions avec le chromosome X interromprait bien sur la base chromosomique de la détermination du sexe.

Localisation primaire de TDF sur le chromosome Y

L'analyse cytogénétique d'individus stériles porteurs de délétions du chromosome Y permet très rapidement de circonscrire le champ d'investigation pour la recherche de TDF au bras court du chromosome Y (Fig. 2). La localisation plus fine du locus TDF résulta elle de

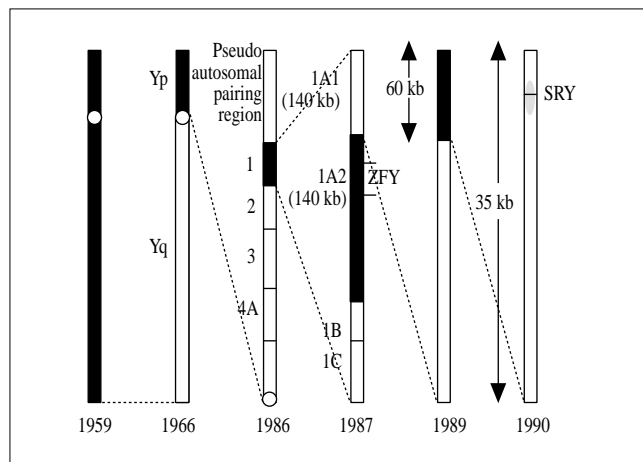


Figure 2. Localisation du locus TDF au cours de ces dernières décennies.

l'analyse d'une forme particulière de réversions sexuelles, les hommes à caryotype 46,XX. Ces derniers résultent, enfin pour environ 80% d'entre eux, d'un échange X-Y anormal lors de la méiose paternelle, celui-ci mettant en cause des séquences ADN spécifiques de l'Y et donc de l'homme (Guellaën et al., 1985). L'analyse de la taille des fragments d'ADN ainsi transférés permit outre la construction d'une carte de délétion du bras court du chromosome Y (Vergnaud et al., 1986), la cartographie du facteur TDF dans la partie télomérique de ce dernier, en position adjacente à la région pseudoautosomique. En 1987, un homme XX fut décrit avec ce qui apparaissait à ce moment là comme le plus petit fragment de chromosome Y porté par le chromosome X d'origine paternelle soit environ 280 kilobases accolées à la frontière pseudo-autosomique. La présence d'un îlot CpG dans ce fragment conduisit D. Page à postuler pour la présence de TDF dans cet intervalle (Page et al., 1987). De plus, une partie de cette région se trouvait être déléetée du chromosome Y d'une femme XY à la suite d'une translocation Y;22. Du clonage de cette région et de la recherche de séquences conservées sur l'Y de divers mammifères euthériens résultèrent la caractérisation du gène ZFY («Zinc Finger, Y chromosome») qui fut proposé comme candidat pour jouer le rôle de TDF (Page et al., 1987), l'espace de quelques mois.

Très vite de nombreuses observations conduisirent à repousser cette hypothèse. Ainsi en fut-il de l'existence d'un gène homologue ou ZFX sur le chromosome X (Schneider-Gädicke et al., 1988) ou de l'existence de séquences homologues à ZFY en position autosomique chez les marsupiaux, chez lesquels pourtant le chromosome Y détermine le sexe (Sinclair et al., 1988). La meilleure évidence séparant les loci ZFY et TDF vint de l'analyse des génomes d'hommes 46,XX négatifs pour ZFY. Quatre d'entre eux avec développement testiculaire furent démontrés avoir hérité la frontière pseudo-autosomique de l'Y plus un fragment de séquences ADN spécifiques de l'Y de moins de 60 kilobases (Palmer et al., 1989). Cette observation permit de redéfinir la localisation de TDF à proximité de la frontière pseudo-autosomique mais également fournit la preuve génétique de la dissociation des loci ZFY et TDF, ZFY n'apparaissant pas essentiel à la détermination testiculaire.

```

hu SRY: DRVKKRPMNAFHVWSRDQRKMALENPRMRNSESKQLGYQWKMTEAEKWPFFQEAQKLQAMHREKYPNYKYRPRRKAAM
Mc: RTRPRPNAFHLRKEKHATLLKSNPSNNSQVSKLYGEMWRNESKEVRMRYFKMSEFYKAQHOKMYPGYKYQPRKNKVK
ABF2: QGPKRPTSAFLYLQDHRSQVFNENPLRPAEISKJAGEKWQNLADIKKEYISERKKLYSEYQKAKKEFDEKLPPKPKAG
mt A-1: KIPRPPNAVILYRKDHHREIREQNLPLHNEISVVGCMWRDEQPHIREKYNSNEIKTRLLLENPDYRYNPRRSQDI
Nhp6A: NAPKRALSAFMAFNENDIVRSENPDTFGQVGGKLGKWKALZPEEKQVYAKAQADKKRYESEKELYNATLA
hUBF: DFPKPLPTFRFMEKRAKYAKLHPMSNLDLTKLKSQKYLPEKMKYQDFQREKQEFERNLARFREDHPDQJQNA
HMG1: GDFKPRGKMSYAFVYQTCREHDSVNSFSESKCSERKWTMSAKKGGKPFEDMAKADKRYEREMKTYIP-PKGETTK
LG-1: APPKPLSAFLFKQHNVEQVKENPNAKITELISMAE-KWKAVGEKEKKYVEILQSEAKAKYKEDMDQVYKQYKPK
HMG2: KDPNPKGKTSYAFVATSREHGAKVNGSESSKACGKSRWRIMGAKKVKFEDMAKGDVRYDKMDKTYIP-PKGENKAA
mtTF1: SCPKPVSSYLRFSEKQLPFAQNDPAKTTELIRRIAQ-RWRLEPDSKSKKTYQDAYRAEWQVYKEESRF-KEQLTQSQJM
hUBF: DIFKPKTPQQLWYTHEKKVYLKVRPDAITKEVKDSLQKQWSQSLDKKRLKWIHKALEQRKEYEIMRDYUQKHPENISE

```

Figure 3. La protéine SRY appartient à la famille des protéines à motif de liaison à l'ADN de type HMG.

Identification du gène SRY

La région du chromosome Y héritée chez ces quatre patients se révéla limitée à 35 kilobases au sein desquels un seul fragment était tout à la fois spécifique du chromosome Y et conservé sur l'Y des différents mammifères testés (Sinclair et al., 1990). Cette séquence localisée à 5 kilobases de la frontière pseudo-autosomique définit le gène SRY («Sex determining Region, Y gene»). Les séquences nucléotidiques des régions conservées chez l'homme, la souris ou le lapin indiquèrent la présence d'une phase de lecture ouverte avec la particularité d'être localisée dans les trois cas dans un même et unique exon. Cette caractéristique s'est trouvée confirmée par l'analyse des séquences 5' non traduites des produits de transcription de SRY (Vilain et al., 1992; Su and Lau, 1993; Behlke et al., 1993; Clepet et al., 1993). La séquence complète du transcrit humain révèle une protéine de 204 acides aminés dont un motif basique de 80 acides aminés est analogue au domaine de liaison à l'ADN des protéines de haute mobilité ou protéines HMG (Fig. 3). Ce type de motif a été retrouvé dans nombre de protéines dont certaines ont clairement une activité de facteur de transcription (Jantzen et al., 1990). Aujourd'hui le gène SRY a été cloné chez de nombreux mammifères, mais seul ce domaine de liaison à l'ADN ou boîte HMG apparait conservé d'un gène SRY à l'autre (Whitfield et al., 1993). La super famille des gènes codant pour un tel motif est déjà très grande (Laudet et al., 1993), et elle inclut des gènes clonables avec la sonde SRY utilisée dans les conditions de faible stringence ou à l'aide d'une PCR utilisant des oligonucléotides dégénérés. Ces protéines dont la boîte présente une conservation de plus de 60% avec la protéine SRY ont été dénommées protéines SOX («SRY box proteins») et participent comme nous le verrons plus particulièrement pour l'une d'entre elles à la détermination d'autres types cellulaires.

Les preuves de l'égalité SRY = TDF

Trois types d'arguments ont permis de constituer des preuves directes de cette égalité.

1. Expression du gène Sry

Ces études d'expression n'ont été réalisées à ce jour que chez la souris. Chez la souris, les cordons génitaux se développent entre le 9.5 et le 10.5 jours post coït et apparaissent identiques dans les embryons XX ou XY. Au 12.5 ième jour, les cordons génitaux mâles sont caractérisés par la présence de cordons testiculaires qui font

Position	Base change	AA change
*4	GTG to CTG	Val to Leu
6	CGA to GGA	Arg to Gly
8	ATG to ATA	Met to Ile
12	ATC to ACC	Ile to Thr
14	TGG to TAG	Trp to stop
22	ATG to ACG	Met to Thr
*34	ATC to ATG	Ile to Met
36	AAG to TAG	Lys to stop
37	CAG to TAG	Gln to stop
39	GGA to CGA	Gly to Arg
50	AAA to ATA	Lys to Ile
52	CCA to CC	frameshift
*53	TTC to TCC	Phe to Ser
65-66	AGAG deletion	frameshift
71	ATA to TAA	Tyr to stop
71	TAT to TGT	Tyr to Cys
77	CGG to TGG	Arg to TRP

Figure 4. Exemples de mutations de gène SRY chez des femmes à dys-génésie gonadique pure 46, XY.

suite à la différenciation et à l'alignement des cellules de Sertoli. Les études réalisées aussi bien par PCR que par hybridation in situ sur des embryons ont permis de mettre en évidence le transcrit Sry au bon endroit (au coeur des cordons génitaux) et au bon moment (entre 10.5 et 12.5 jours) (Koopman et al., 1990). Les gènes SRY/Sry humain et murin sont également exprimés dans le testicule adulte sous la forme d'un transcrit d'environ 1.2 kb, taille estimée en northern blots, expression probablement liée au processus spermatogénique.

2. Mutations du gène SRY

Les individus avec un chromosome Y mais dépourvus de testicules doivent présenter des anomalies dans les cascades moléculaires de la détermination ou de la différenciation du sexe.

Dès 1990, l'étude par SSCP puis séquençage de 11 femmes 46XY ou dysgénésies gonadiques pures révéla la présence de deux mutations chez deux d'entre elles (Berta et al., 1990). L'une de ces mutations remplaçait une méthionine pour une isoleucine dans la boîte HMG de SRY, mutation spontanée absent chez le père. A la même époque, une mutation de type décalage du cadre de lecture fut également décrite (Jäger et al., 1990). Il est intéressant de noter, qu'à ce jour, toutes les mutations décrites (voir Figure 4) sont localisées dans le domaine de liaison à l'ADN de SRY et ne rendent compte que d'environ 20% des reversions sexuelles 46XY. Enfin, comme le montre la figure 4, un changement même mineur s'opérant dans la boîte HMG suffit pour entraîner ce complet changement phénotypique.

3. Production de souris transgéniques

Si les mutations de novo que nous venons de décrire prouvent de façon formelle l'implication du gène SRY dans la détermination

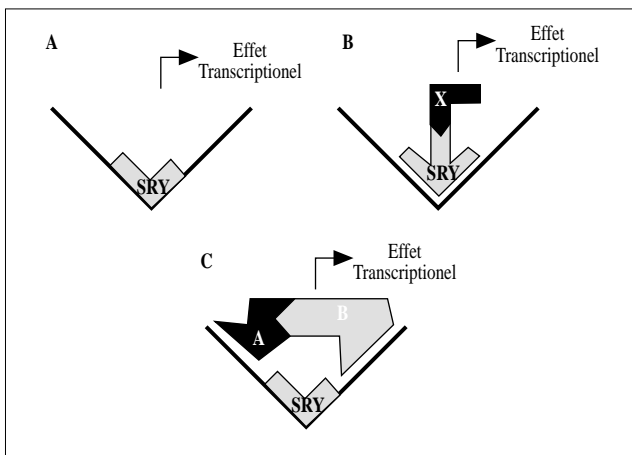


Figure 5. Trois modes d'action possibles pour la protéine SRY: A: en courbant l'ADN, SRY permet la liaison à d'autres sites d'autres facteurs transcriptionnels hypothétiques ou génère des blocs transcriptionnels; B: la protéine SRY s'associe directement à d'autres protéines pour former un réel complexe transcriptionnel; C: en courbant l'ADN, SRY permet la mise en contact de facteurs protéiques liés en des sites spécifiques à proximité du site SRY, ce qui permet la mise en route d'un mécanisme activateur ou encore inhibiteur (ou les deux).

du sexe, elles ne laissent en rien présager du nombre de gènes portés par le chromosome Y nécessaires à cette même détermination. A ce titre, l'approche par transgénèse est intéressante (Koopman et al., 1991). L'injection d'un fragment d'ADN de 14 kb contenant le seul gène *Sry* murin comme séquence codante dans des oeufs de souris 40XX entraîna pour un tiers d'entre eux le développement d'embryons mâles stériles. Si de ces expériences, on peut là encore conclure que la fonction TDF est bien à attribuer au gène *Sry*, *Sry* apparaît de plus comme le seul gène du chromosome Y nécessaire à l'initiation du développement testiculaire.

La protéine SRY: Premières propriétés

Liaison à l'ADN

La séquence de la protéine SRY suggère sa capacité à lier l'ADN via le motif de type HMG de 80 acides aminés qui s'y trouve, et au-delà sa capacité à jouer un rôle de facteur de transcription. En effet, les protéines de la famille des HMG sont des protéines nucléaires non-histones qui participent à l'organisation spatiale de la chromatine et qui pour certaines ont évolué en facteur de transcription. La liaison de la protéine SRY fut confirmée par différents travaux (Nasrin et al., 1991; Harley et al., 1992; Denny et al., 1992). Cette liaison s'effectue sur de l'ADN linéaire double-brin au niveau de séquences courtes (6-7 nucléotides) riches en A-T. La spécificité de cette liaison à l'ADN est dévolue à la seule boîte HMG (Poulat et al., 1992). Quelques unes des mutations de novo: décrites chez les femmes XY dans le motif HMG, pour celles étudiées, annihilent effectivement la liaison à l'ADN de la protéine SRY (Harley et al., 1992; Poulat et al., 1993). La nature de la séquence nucléotidique reconnue par

SRY, de par sa taille et sa variabilité, ne permet en rien de spécifier le ou les gènes cibles de la protéine. De plus, cette association à l'ADN s'accompagne de l'induction d'une forte courbure de l'ADN cible (environ 85°) (Giese et al., 1992; Ferrari et al., 1992). Si la nature des acides aminés mis en jeu dans la liaison à l'ADN de la protéine reste à déterminer par biochimie structurale, ce contact apparaît impliquer au moins le petit sillon de l'ADN (Giese et al., 1992; Soullier et al., 1994), ce qui confère à SRY une particularité tout à fait originale pour un facteur de transcription.

Localisation nucléaire

La localisation subcellulaire de la protéine SRY a pu récemment être spécifiée (Poulat et al., 1995). Celle-ci s'effectue indépendamment de sa capacité de liaison à l'ADN, grâce à l'existence dans la séquence de la protéine, dans un segment protéique extrêmement bien conservé dans la super-famille des HMG d'un signal de localisation nucléaire. Cette localisation à l'aspect punctiforme a pu être observée aussi bien dans l'embryon humain que dans des lignées cellulaires modèles qui sont aujourd'hui un outil d'étude de la détermination du sexe.

Conclusion

La protéine SRY constitue bien un facteur de transcription très particulier. En effet, la structure bi-fonctionnelle classique observée dans de tels facteurs, à savoir domaine de liaison à l'ADN et domaine trans-activateur, n'est pas retrouvée. Les séquences situées de part et d'autre du motif HMG semblent avoir évoluées trop vite chez les primates pour que l'on puisse y associer une réelle fonction (Whitfield et al., 1993). Cette caractéristique est spécifique des primates, ces deux domaines étant présents chez la souris où des expériences classiques de trans-activation ont permis de conclure à un rôle activateur pour le *Sry* murin (Dubin and Ostrer, 1994).

A ce jour, seules des hypothèses peuvent être émises sur le fonctionnement de la protéine SRY humaine. Celles-ci sont schématisées sur la figure 5 et présentent trois alternatives possibles:

1. Toute la fonction de SRY, concentrée dans son seul motif HMG, serait d'induire en des sites spécifiques une torsion telle à l'ADN, que celle-ci en désorganisant localement la structure de l'ADN générerait soit des blocs à la transcription (SRY inhibiteur transcriptionnel), soit au contraire permettrait par la fusion locale de l'ADN la liaison d'autres facteurs transcriptionnels (SRY activateur transcriptionnel), ou encore une activité mixte utilisant ces deux possibilités.
2. Par sa liaison à l'ADN, la courbure qu'elle engendre, SRY entrerait en contact avec d'autres protéines qui pourrait ainsi lui procurer au sein de ce complexe multi-protéique, le domaine trans-régulateur perdu au cours de l'évolution.
3. Enfin, cette même courbure pourrait n'avoir comme seule fonction que la fixation et la mise en contact de protéines inconnues à ce jour, qui joueront alors un rôle complet de facteurs de transcription.

Ces trois alternatives sont en cours d'évaluation dans notre laboratoire.

Les autres TDF

Le titre de ce dernier paragraphe est volontairement quelque peu provocateur. En effet, il faut bien concevoir que SRY ne peut agir isolément et assurer à lui seul le développement testiculaire.

En amont de SRY

Comme mentionné en introduction, le rôle de SRY est celui d'un interrupteur, d'un aiguillage déroutant la gonade embryonnaire de la féminisation. L'activation de ce gène doit être régulée très précisément et ceci de façon spatio-temporelle. Cela suggère déjà l'existence de gènes assurant le contrôle du gène SRY, intervenant donc en amont dans cette cascade développementale. Ces gènes pourront être localisés sur tout chromosome hormis le chromosome Y. Rien ne les empêchera d'être aussi bien exprimés chez l'homme que chez la femme. Des altérations de ces gènes pourront elles aussi conduire à des dysgénésies gonadiques, et dans ce sens, ils constituent bien des gènes déterminants dans la mise en place du testicule. A ce jour, le peu d'informations révélées par les séquences promotrices du gène SRY, n'a pas permis l'identification de tels gènes.

En aval de SRY

Dans la mesure où SRY est capable de se lier à l'ADN avec une certaine spécificité de séquence, il devient évident de postuler l'existence de gènes cette fois-ci intervenant en aval de SRY dans la cascade de détermination du sexe. Là encore, des mutations dans ces gènes pourront rendre compte d'une fraction des dysgénésies gonadiques pures 46XY, voire de dysgénésies partielles, ceci en fonction de la hiérarchie de ces gènes et de leur proximité du gène SRY dans la cascade. Aucun de ces gènes n'a pu être caractérisé comme étant soumis directement au contrôle de SRY. Néanmoins, des évidences génétiques là encore résultantes de l'étude cytogénétique ou moléculaire de réversions sexuelles humaines, ont permis la localisation de gènes ou même le clonage de certains d'entre eux ainsi que la démonstration de leur implication dans la mise en place du testicule. Il reste aujourd'hui à préciser également leur niveau d'intervention exacte dans cette mise en place. On peut ainsi citer:

- La présence supposée de tels gènes sur les chromosomes 9 et 10. En effet, une monosomie du bras court du 9 (Bennett et al., 1993) ou celle du bras long du 10 (Wilkie et al., 1993) ont été toutes deux associées à une réversion du sexe XY.
- L'implication du gène de la tumeur de Wilms WT1, dont certaines mutations rendent compte de la triade dysgénésie gonadique partielle-néphropathie-tumeur de Wilms encore connue sous le nom de syndrome de Denys-Drash (Pelletier et al., 1991).
- Des translocations impliquant le bras long du chromosome 17 (q24-q25) ont été impliquées dans le syndrome campomélique qui parfois associe réversion du sexe 46XY. Très récemment, l'étude de telles translocations a permis le clonage positionnel du gène SOX9 et la démonstration de son implication à la fois dans la dysplasie campomélique proprement dite et dans la réversion (Foster et al., 1994). Il est intéressant de noter que ce gène appartient à la même famille que le gène SRY, une sous-famille des gènes HMG partageant une homologie de plus de 60% au niveau de leur domaine de liaison à l'ADN avec SRY

d'où leur dénomination de SOX pour «SRY box proteins» (Berta et al., 1994). Les quelques gènes de cette famille déjà bien documentés semblent tous responsables de la détermination au cours de l'embryogénèse de type cellulaire particulier. La recherche de mutations plus probantes est aujourd'hui en cours.

- Le gène SF-1 qui code pour un membre de la famille des récepteurs orphelins pourrait quand à lui contrôler directement l'expression de l'hormone anti-Müllérienne (Shen et al., 1994).
- Enfin, s'il était connu que la réversion du sexe pouvait être associée à une duplication du bras court du chromosome X, la description récente d'un patient avec une duplication limitée à 160 kilobases ou intervalle DSS («Dosage Sensitive Sex reversal») (Bardoni et al., 1994) devrait annoncer la publication rapide, si ce n'est déjà le cas avec DAX-1 (Zanaria et al., 1994), d'un gène aux propriétés tout à fait particulières. Si ce gène ne paraît pas indispensable au développement testiculaire, une double dose de ce même gène serait capable d'interférer avec sa mise en place. Il se pourrait donc que ce gène soit nécessaire au développement ovarien mais qu'il doit également être réprimé si l'option choisie est la masculinisation. Cette nouvelle donnée conduit à une double remarque:
- DSS réintroduit la notion d'effet de dose rencontré au cours de l'évolution dans des espèces inférieures (voir introduction);
- Former un testicule semble nécessiter outre l'activation de la cascade moléculaire qui lui correspond, l'inhibition de la mise en place de la gonade ovarienne. Ceci introduit la notion de «cross-talk» possible entre ces deux voies.

Conclusion

La découverte de nouveaux gènes candidats (SOX9, WT1, SF-1, DSS) alliée aux données sur la protéine SRY devrait permettre l'élucidation des étapes de la détermination du sexe chez l'homme, et au-delà, les mécanismes mis en jeu dans les pathologies de la détermination. Il restera, par exemple, à expliquer l'origine moléculaire de plus de 80% des femmes XY ou encore des quelques 20% d'hommes XX ainsi que de leur extraordinaire variabilité phénotypique. Si l'étude cytogénétique puis moléculaire des patients souffrants de telles réversions du sexe ont été le clés des différents succès scientifiques dans le domaine ces dernières années, gageons que cela restera le cas dans les prochaines années d'où la nécessité de collaborations toujours plus étroites entre clinique et recherche.

References

- 1 Bardoni B, Zanaria B, Guioli S, Florida G, Worley KC, Tonini G, Ferrante E, Chiumello G, McCabe ERB, Fraccaro M, Zuffardi O, Caremino G. A dosage sensitive locus at chromosome Xp21 is involved in male to female sex reversal. *Nature Genet* 1994;**7**:497-501.
- 2 Behlke MA, Bogan JS, Beer-Romero P, Page DC. Evidence that the SRY protein is encoded by a single exon on the human Y chromosome. *Genomics* 1993;**17**:736-739.
- 3 Bennett CP, Docherty Z, Robb SA, Ramani P, Hawkins JR, Grant D. Deletion 9p and sex reversal. *J Med Genet* 1993;**30**:518-520.

- 4 Berta P, Hawkins JR, Sinclair AH, Taylor A, Griffiths BL, Goodfellow PN, Fellous M. Genetic evidence equating SRY and the testis determining factor. *Nature* 1990;**348**:448-450.
- 5 Berta P, Goze C, Poulat F. Mais que sont les gènes SOX? *médecine/sciences* 1993;**11**:1247-1248.
- 6 Chandley AC. Meiosis in man. *Trends Genet* 1988;**4**:79-84.
- 7 Clepet C, Schafer AJ, Sinclair AH, Palmer MS, Lovell-Badge R, Goodfellow PN. The human SRY transcript. *Human Mol Genet* 1993;**2**:2007-2012.
- 8 Cooke HJ, Brown WRA, Rappold GA. Hypervariable telomeric sequences from the human sex chromosomes are pseudoautosomal. *Nature* 1985;**317**:687-692.
- 9 Denny P, Swift S, Connor F, Ashworth A. An SRY-related gene expressed during spermatogenesis in the mouse encodes a sequence-specific DNA-binding protein. *Embo J* 1992;**11**:3705-3712.
- 10 Dubin RA, Ostrer H. Sry is a transcriptional activator. *Mol Endocrinol* 1994;**8**:1182-1192.
- 11 Ferrari S, Harley VR, Pontiggia A, Goodfellow PN, Lovell-Badge R, Bianchi ME. SRY, like HMG 1, recognizes sharp angles in DNA. *Embo J* 1992;**11**:4497-4506.
- 12 Ford CE, Jones KW, Polani PE, De Almeida JC, Briggs JH. A sex chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's syndrome). *Lancet* 1959;**i**:711-713.
- 13 Foster JW, Dominguez-Steglich MA, Guioli S, Kwok C, Weller PA, Stevanovic M, Weissenbach J, Mansour S, Young ID, Goodfellow PN, Brook JD, Schafer AJ. Campomolio dysplasia and autosomal sex reversal caused by mutations in an SRY-related gene. *Nature* 1994; **372**:525-530.
- 14 Giese K, Cox J, Grosschedl R. The HMG domain of lymphoid enhancer factor 1 binds DNA and facilitates assembly of functional nucleoprotein structures. *Cell* 1992;**69**:185-195.
- 15 Guellaen G, Casanova M, Bishop C, Geldwerth D, Andre G, Fellous M, Weissenbach J. Human XX males with Y single copy DNA fragments. *Nature* 1984;**307**:172-173.
- 16 Harley VR, Jackson DI, Hextall PJ, Hawkins JR, Berkovitz GD, Sockanathan S, Lovell-Badge R, Goodfellow PN. DNA binding of recombinant SRY from normal males and XY females. *Science* 1992;**255**:453-456.
- 17 Jacobs PA, Stron JA. A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. *Nature* 1959;**183**:302-303.
- 18 Jäger RL, Anvret M, Hall K, Scherer G. A human XY female with a frame shift mutation in a candidate testis-determining gen SRY. *Nature* 1990;**348**:452-454.
- 19 Jantzen HM, Admon A, Bell SP, Tjian R. Nucleolar transcription factor hUBF contains a DNA-binding motif with homology to HMG proteins. *Nature* 1990;**344**:830-836.
- 20 Jost A. Problems of fetal endocrinology: the gonada, and hypophysial hormones. *Rec Prog Horm Res* 1953;**8**:379-418.
- 21 Jost A, Vigier B, Prepein J, Perchellet JP. Studies on sex differentiation in mammals. *Rec Prog Horm Res* 1973;**29**:1-41.
- 22 Koopman P, Gubbay J, Vivian N, Goodfellow PN, Lovell-Badge R. Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. *Nature* 1991;**351**:117-121.
- 23 Koopman P, Münsterberg A, Capel B, Vivian N, Lovell-Badge R. Expression of a candidate sex-determining gene during mouse testis differentiation. *Nature* 1990;**348**:450-452.
- 24 Laudet V, Stehelin D, Cieviers H. Ancestry and diversity of the HMG box superfamily. *Nucleic Acids Res* 1993;**21**:2493-2501.
- 25 Nasrin N, Buggs C, Kong XF, Carnazza J, Goebel M, Alexander-Bridges M. DNA-binding properties of the product of the testis-determining gen and a related protein. *Nature* 1991;**354**:317-320.
- 26 Page DC, Mocher R, Simeson EM, Fischer EMC, Mardon G, Pollack J, McGillivray B, De la Chapelle A, Brown LG. The sex determining region of the human Y chromosome encodes a finger protein. *Cell* 1987;**51**:1091-1104.
- 27 Palmer MS, Sinclair AH, Berta P, Ellis NA, Goodfellow PN, Abbas NE, Fellous M. Genetic evidence that ZFY is not the testis-determining factor. *Nature* 1989;**342**:937-939.
- 28 Pelletier J, Bruening W, Kashtan CE, Mauer SM, Manivel JC, Striegel JE, Houghton DC, Junien C, Habib R, Fouser L, Finer RN, Silverman BL, Haber DA, Housman D. Germline mutations in the Wilm's tumor suppressor gene are associated with abnormal urogenital development in Denys-Drash syndrome. *Cell* 1991;**67**:437-447.
- 29 Poulat F, Girard F, Goze C, Rebillard X, Heitz F, Calas B, Lamb N, Berta P. Nuclear localization of the testis determining gene product SRY. *J Cell Biol* 1995;128:in press.
- 30 Poulat F, Guichard G, Goze C, Heitz F, Calas B, Berta P. Synthesis of a large peptide mimicking the DNA binding properties of the sex determining protein, *SRY FEBS Lett* 1992;**309**:968-971.
- 31 Shen WH, Moore CCD, Ikeda Y, Parker KL, Ingraham HA. Nuclear receptor steroidogenic factor 1 regulates the Müllerian inhibiting substance gene: a link to the sex determination cascade. *Cell* 1994;**77**:651-661.
- 32 Schneider-Gädick A, Beer-Romero P, Brown LG, Nussbaum R, Page DC. ZFY has a gene structure similar to ZFY, the putative human sex determinant, and escapes X inactivation. *Cell* 1988;**57**:1247-1258.
- 33 Simmler MC, Rouyer F, Vergnaud G, Nyström-Lahti M, Ngo KY, de la Chapelle A, Weissenbach J. Pseudoautosomal DNA sequences in the pairing region of the human sex chromosomes. *Nature* 1985;**317**: 692-697.
- 34 Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, Hawkins JR, Griffiths BL, Smith MJ, Foster JW, Frischauf AM, Lovell-Badge R, Goodfellow PN. A gene from the human sex-determining region encoding a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 1990;**346**:240-244.
- 35 Sinclair AH, Foster JW, Spencer JA, Page DC, Palmer M, Goodfellow PN, Graves JAM. Sequences homologous to ZFY, a candidate human sex-determining gene, are autosomal in marsupials. *Nature* 1988;**336**: 780-783.
- 36 Soulier S, Poulat F, Calas B, Bennes R, Heitz F, Berta P. The testis determining factor SRY is a new member of the HMG box family. *Biochimie* 1994;**76**:1075-1081.
- 37 Su H, Lau YFC. Identification of the transcriptionnel unit structural organization, and promotion sequence of the human sex-determining region Y (SRY) gene, using a reverse genetic approach. *Am J Hum Genet* 1993;**52**:24-38.
- 38 Vergnaud G, Page DC, Simmler MC, Brown M, Rouyer F, Noel B, Botstein D, de la Chapelle a, Weissenbach J. A deletion map of the human chromosome based on DNA hybridization. *Am J Hum Genet* 1986;**38**:10-124.
- 39 Vilain E, Fellous M, McElreavey K. Characterization and sequence of the 5' flanking region of the human testis-determining factor SRY. *Meth Mol Cell Biol* 1992;**3**:128-134.
- 40 Weissenbach J, Levilliers J, Petit C, Rouyer F, Simmler M. Normal and abnormal interchanges between the human X and Y chromosomes. *Development* 1987;**101**(suppl.):67-74.
- 41 Whitfield LS, Lovell-Badge R, Goodfellow PN. Rapid sequence evolution of the mammalian sex-determining gene SRY. *Nature* 1993; **364**:713-715.
- 42 Wilkie AOM, Campbell FM, Daubeney P, Grant DB, Daniels RJ, Mullarkey M, Affara NA, Fitchett M, Huson SM. Complete and partial XY sex reversal associates with terminal deletion of 10q - report of 2 cases and literature-review. *Am Med Genet* 1993;**46**:597-600.
- 43 Zanaria E, Muscatelli F, Bardoni B, Strom TM, Guioli S, Worley KA, Lalli E, Moser C, Walker AP, McCabe ER, et al. An unusual member of the nuclear hormone receptor superfamily responsible for X-linked adrenal hypoplasia congenita. *Nature* 1994;**372**:635-641.

Ontogénesis de la Secreción y Acción de la Hormona Anti-Mülleriana

R. Rey, N. Josso

Introducción

En 1903, Bouin y Ancel⁽¹⁾ sugirieron que la diferenciación sexual estaba bajo control de secreciones internas (hoy llamadas «hormonas») del testículo. Casi medio siglo transcurrió sin que esta teoría pudiera ser comprobada fehacientemente de manera experimental. Haciendo uso de técnicas microquirúrgicas para extirpar las gónadas de fetos de conejo, Jost⁽²⁾ mostró que la ausencia de gónadas en las primeras etapas del desarrollo de fetos XX o XY resulta siempre en un fenotipo femenino, indicando que, efectivamente, secreciones testiculares son las responsables de la masculinización fetal. Posteriormente, Jost demostró que la diferenciación sexual masculina en el feto requiere de dos hormonas testiculares diferentes⁽³⁾. En fetos de conejo de sexo femenino, el implante de un cristal de testosterona cerca del ovario provocó el desarrollo de los conductos mesonéfricos de Wolff, pero no indujo la regresión de los conductos paramesonéfricos de Müller. En cambio, implantando tejido testicular fetal en las mismas condiciones, se lograba también la regresión mülleriana. Así, Jost demostró que los conductos de Müller eran insensibles a los andrógenos y que su regresión era debida a otro factor testicular diferente, hoy conocido como hormona anti-Mülleriana (AMH). Los andrógenos, por su parte, intervienen en el desarrollo de los gonoductos masculinos (derivados de los conductos de Wolf) y en la virilización de los órganos genitales externos (Fig. 1).

Diferenciación de los órganos genitales masculinos

En la cronología del desarrollo sexual fetal, el primer paso de la diferenciación de los órganos genitales en sentido masculino es la regresión de los conductos de Müller (esbozos uterinos). Dicha regresión, provocada por la AMH secretada por las células de Sertoli del testículo fetal, tendrá lugar sólo si los conductos de Müller han estado expuestos a la AMH antes de la 8ª semana de vida intrauterina⁽⁴⁾. Después de este «período crítico», la AMH no es capaz de producir una regresión de los conductos de Müller^(5, 6). La regresión de los conductos de Müller, que sigue un sentido cefalo-caudal, es histológicamente diferente de los patrones usuales de muerte celular programada. Muy pocas células mueren, pero en cambio, la mayor parte pierde su polaridad y deja de dividirse. La

membrana basal se disuelve y un anillo conectivo se forma alrededor de las células epiteliales⁽⁷⁾. En el feto humano, los conductos de Müller han regresado casi por completo hacia la 10ª semana. La AMH ejerce su efecto a través de su unión a un receptor de transmembrana que se expresa en las células mesenquimáticas que rodean a los conductos de Müller⁽⁸⁻¹⁰⁾.

La hormona anti-Mülleriana

Bioquímica y biología molecular

La hormona anti-Mülleriana (AMH), también denominada sustancia o factor inhibidor Mülleriano (Müllerian Inhibiting Substance, MIS, o Müllerian Inhibiting Factor, MIF) es un dímero glicoproteico de 140 kDa⁽¹¹⁾, que forma parte de la familia del TGF-13 (Transforming Growth Factor- β), junto con la inhibina, la activina y otros factores de crecimiento y diferenciación⁽¹²⁾. El gen humano de la AMH, de 2.8 kb, ha sido clonado⁽¹²⁾ y localizado en el cromosoma 19⁽¹³⁾. La AMH es sintetizada como una pre-proteína de 560 aminoácidos, que contiene un sitio de clivaje a 109 aminoácidos del extremo C-terminal⁽¹⁴⁾. Aunque circula como una molécula entera, la AMH debe ser clivada para ejercer su efecto a nivel del órgano blanco. La actividad biológica de la AMH reside en el fragmento C-terminal, pero el fragmento N-terminal interacciona aumentando la actividad biológica de aquel⁽¹⁵⁾.

Ontogénesis de la secreción de la AMH

La AMH es el marcador específico de célula de Sertoli que se expresa más tempranamente en el desarrollo fetal. La AMH es secretada apenas comienzan a formarse los cordones seminíferos, es decir hacia la 7ª semana de vida intrauterina⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Si bien la AMH ejerce su acción en etapas tempranas del desarrollo, las células de Sertoli testiculares siguen secretando AMH durante el resto de la vida fetal y durante toda la infancia, para disminuir significativamente o cesar su producción en la pubertad⁽¹⁹⁾ (Tabla I). El ovario fetal no produce AMH, pero las células de la granulosa de folículos en crecimiento sintetizan AMH en cantidades moderadas luego del nacimiento, por lo cual es posible detectar niveles séricos de AMH en mujeres. Sin embargo, la AMH sérica es sólo detectable en menos de la mitad de las mujeres premenopáusicas, mostrando siempre valores muy bajos; después de la menopausia, la AMH es indetectable^(20, 21). Elevaciones de la AMH sérica en mujeres son indicio de la presencia de un tumor de la granulosa o de tumores de los cordones sexuales^(20, 22).

Unité de Recherches sur l'Endocrinologie du Développement (INSERM), Ecole Normale Supérieure, Département de Biologie, 1 rue Maurice Arnaud, 92120 Montrouge, Francia.

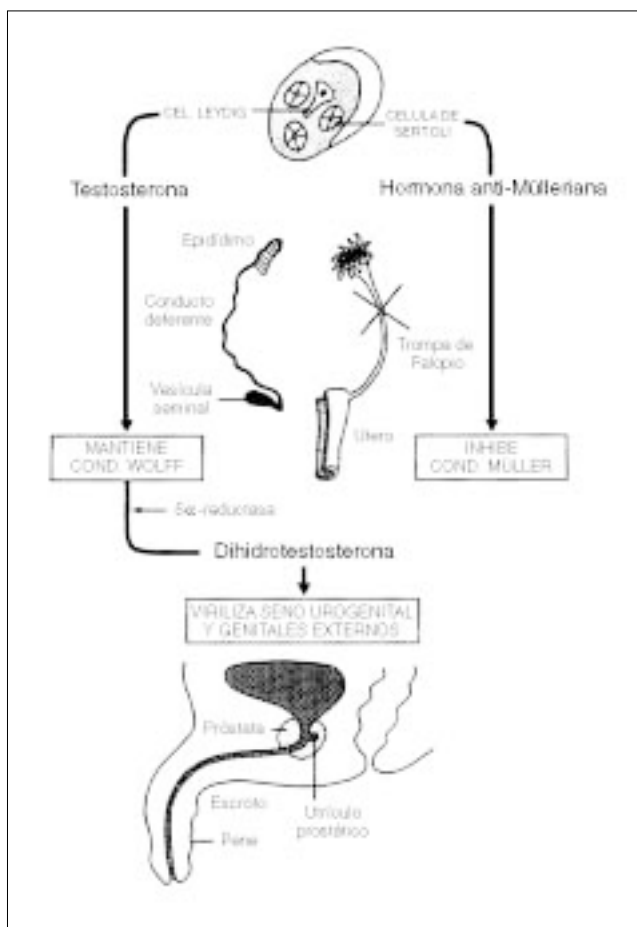


Figura 1. Mecanismo dual de la diferenciación sexual en el sexo masculino. La testosterona mantiene los conductos de Wolff, dando origen al epidídimo, conducto deferente y vesícula seminal; su metabolito, la dihidrotestosterona (DHT) viriliza los genitales externos. La AMH provoca la regresión de los conductos de Müller, esbozos del útero y trompas de

3. Regulación de la secreción de la AMH

Puesto que la AMH tiene una «ventana» de acción limitada durante el desarrollo sexual fetal, es muy probable que el gen de la AMH esté sujeto a un control transcripcional muy preciso. Como la AMH se expresa en el testículo fetal, pero no en el ovario, el gen determinante testicular SRY ha sido considerado como un candidato en la regulación de la expresión de la AMH en la gónada fetal. Los resultados son hasta ahora de interpretación variada⁽²⁶⁻²⁸⁾, y lo más probable es que SRY juegue un rol indirecto en el control de la transcripción de la AMH. Un factor importante en la regulación de la expresión de la AMH es el receptor nuclear «huérfano» SF-1 (Steroidogenic Factor 1). SF-1 es necesario para el inicio de la expresión de la AMH en la célula de Sertoli fetal. Sin embargo, SF-1 sólo, no es suficiente para mantener la expresión de la AMH, por lo cual es probable que otros factores aún desconocidos interactúen con SF-1, en el control transcripcional del gen de la AMH⁽²⁸⁾.

En la vida postnatal, los niveles séricos de AMH muestran una ligera disminución durante los primeros días de vida, pero luego se

Tabla I Concentración sérica de AMH durante el desarrollo sexual

Estadio del desarrollo	n	AMH (ng/ml)	ES	Referencias
19-30 semanas*	13	40,5	3,9	(18)
31 semanas-término*	29	28,4	6,1	(18)
2 meses-2 años	15	43,1	3,7	(18)
2-6 años	16	38,6	3,6	(23)
6-10 años	10	33,7	7,5	(23)
P1	32	27,2	2,6	(19)
P2	23	28,5	5,7	(19)
P3	12	13,8	2,6	(19)
P4, P5	14	6,4	1,2	(19)
18-29 años	11	7,8	2,2	(24)
30-39 años	8	4,9	1,0	(24)
40-49 años	10	3,9	0,8	(24)
50-62 años	6	4,5	1,3	(24)

* Edad fetal, computada desde el último período menstrual. P1-P5, estadios del desarrollo puberal, según Marshall and Tanner⁽²⁵⁾. n: número de muestras determinadas. ES: error standard.

mantienen elevados en el niño prepúber^(18, 21, 23). Durante la pubertad, los niveles de AMH disminuyen significativamente a partir del estadio P3 (Tabla I), en relación inversa con los niveles séricos de testosterona: la AMH sérica media es inferior a 10 ng/ml - pudiendo ser indetectable - cuando la testosterona sérica es superior a 6.7 nmol/l⁽²³⁾. Las gonadotrofinas parecen no jugar un rol preponderante en la inhibición de la secreción de AMH durante la pubertad: los valores de AMH séricos son igualmente bajos en pacientes con una pubertad precoz central, es decir niños con gonadotrofinas y testosterona elevadas, que en pacientes con una testotoxicosis, que presentan valores elevados de testosterona pero gonadotrofinas indetectables⁽²³⁾. Cuando los pacientes son tratados y los niveles de testosterona son reprimidos, la AMH recupera lentamente sus valores normales prepuberales (Fig. 2). Creemos entonces que los valores séricos de AMH son un buen marcador de acción androgénica: una AMH alta indica ausencia de acción de los andrógenos a nivel testicular; por el contrario, una AMH baja indica una acción androgénica efectiva.

El estudio de pacientes con un déficit de producción esteroidea o con una insensibilidad a los andrógenos nos permitió reforzar la hipótesis anteriormente emitida. En pacientes con una ambigüedad sexual debida a un déficit de producción androgénica (aplasia de células de Leydig, déficits de 3β-HSD u otras enzimas de la esteroidogénesis) o una insensibilidad a los andrógenos, la AMH se muestra anormalmente elevada en los primeros meses de vida⁽²⁹⁾. Durante el resto de la infancia, la AMH vuelve a valores normales, pero se incrementa nuevamente en el curso de la pubertad (Fig. 3). A diferencia de estos casos, la AMH está disminuida en los casos de pseudohermafroditismo masculino debido a una disgenesia gonadal^(30, 31). Dada la persistencia de restos uterinos en pacientes con un pseudohermafroditismo masculino disgenético, varios autores

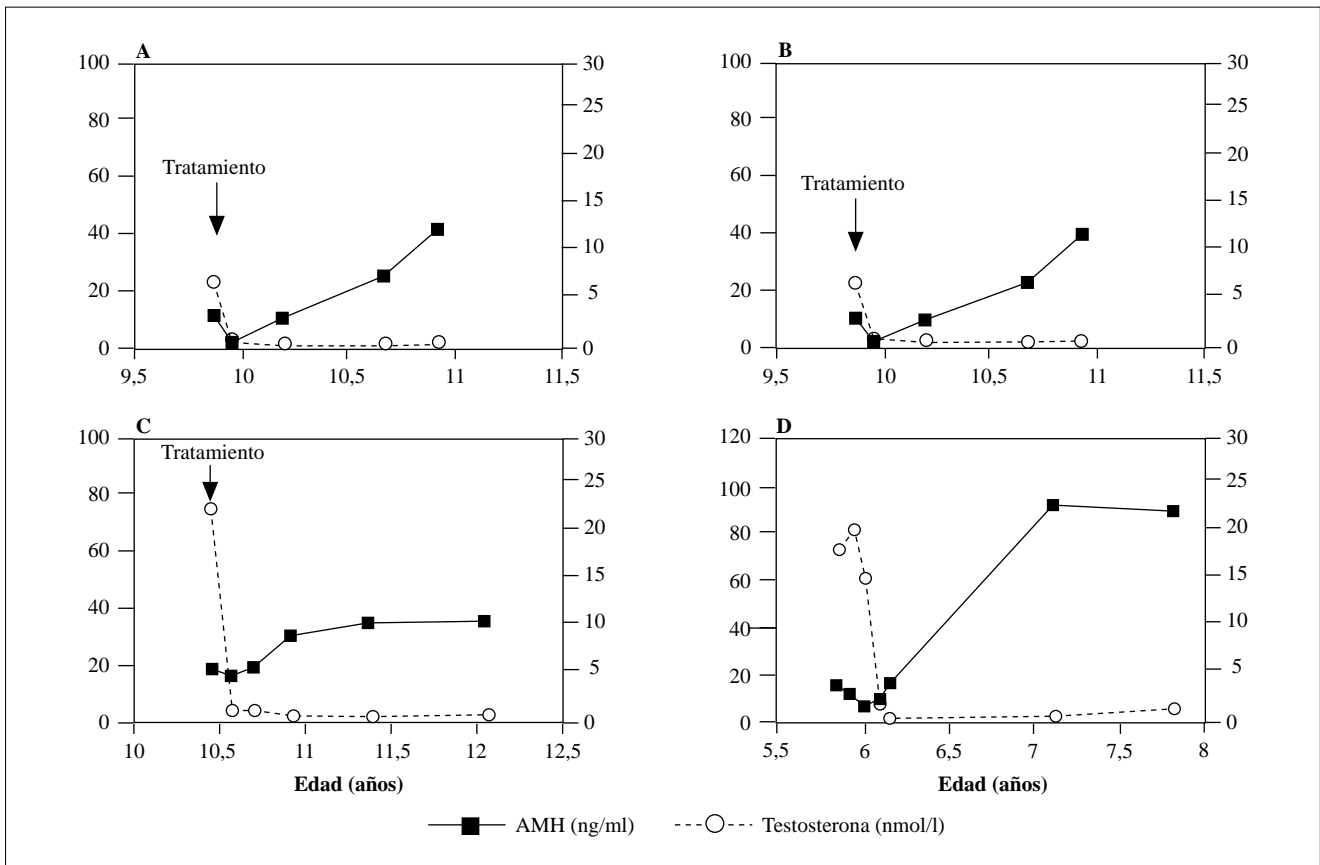


Figure 2. Valores séricos de AMH y testosterona en pacientes con pubertad precoz antes y después del tratamiento. A, B y C: pubertad precoz central tratada con agonistas de GnRH. D: Testotoxicosis tratada con inhibidores de la esteroidogénesis.

habían sugerido que la expresión del gen de la AMH podría estar afectada en dichos casos. En un estudio reciente, hemos demostrado que las células de Sertoli de testículos disgenéticos muestran una expresión normal de dicho gen, y que la presencia de un útero es el resultado de una producción global disminuida de AMH a nivel de la gónada, debido a la existencia de abundante tejido fibro-conjuntivo y de escaso parénquima funcional remanente. En otras palabras, la producción testicular total de AMH está en relación con el número de células de Sertoli de la gónada⁽³¹⁾.

El estudio inmunohistoquímico de testículos a diferentes edades nos ha permitido mostrar que la disminución progresiva de los valores séricos de AMH durante la pubertad es debida a una progresiva inhibición de la secreción de AMH en los tubos seminíferos con desarrollo máótico. Tubos vecinos pre-meióticos en la misma gónada continúan secretando AMH⁽³¹⁾. Esto nos lleva a preguntarnos sobre una posible interacción entre la AMH y la meiosis. La posibilidad de que la AMH inhiba la meiosis puede ser excluida, ya que en pacientes con una mutación del gen de la AMH, que resulta en una abolición completa de la síntesis de AMH testicular, no se observa un desarrollo meiótico antes de la pubertad⁽³¹⁾ y en ratones transgénicos que hiperexpresan la AMH aún luego de la pubertad, el desarrollo meiótico no se ve afectado⁽³²⁾. La hipótesis inversa, es decir si los espermatoцитos meióticos son res-

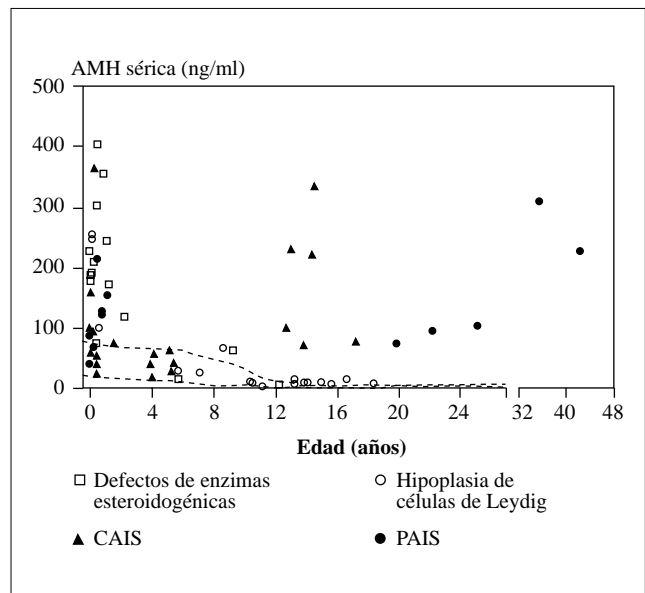


Figure 3. Valores de AMH sérica en pacientes con defectos en la síntesis o en la sensibilidad a los andrógenos. CAIS: síndrome de insensibilidad completa a los andrógenos. PAIS: síndrome de insensibilidad parcial a los andrógenos.

ponsables de la inhibición de la AMH, está en estudio actualmente en nuestro laboratorio.

Conclusiones. Aplicaciones clínicas de la AMH

La AMH debe ser secretada durante un período muy preciso del desarrollo fetal para cumplir eficazmente su función. SRY y SF-1 intervienen probablemente en la regulación de la expresión testicular de la AMH durante la vida fetal, pero más estudios serán necesarios para elucidar completamente los mecanismos de control que regulan la secreción de AMH en el feto. En la vida postnatal, el niño prepúber presenta valores importantes de AMH sérica, que disminuyen en la pubertad como resultado de una inhibición ejercida por la testosterona. En un niño sin testículos palpables, valores detectables de AMH, indican la existencia de testículos criptóquidos y eliminan el diagnóstico de anorquidia o de regresión testicular. En neonatos con una ambigüedad sexual, una AMH sérica elevada indica un déficit de síntesis o de receptividad androgénica, mientras que una AMH baja está en favor de una disgenesia gonadal. Durante la infancia y la edad puberal, una disminución de la AMH, juntamente con una elevación de la testosterona, es indicio del comienzo del desarrollo puberal, pudiendo ser de utilidad en el diagnóstico de la pubertad precoz y en el seguimiento terapéutico. Una elevación o una falta de inhibición de los niveles de AMH en conjunto con valores elevados de testosterona en un niño de edad puberal hipovirilizado puede apoyar el diagnóstico de insensibilidad parcial a los andrógenos.

Agradecimientos

Rodolfo Rey recibe aporte financiero (beca postdoctoral externa) del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina (CONICET).

Bibliografía

1. Bouin P, Ancel P. Sur la signification de la glande interstitielle du testicule embryonnaire. *CR Soc Biol Paris* 1903;**55**: 1632-1634.
2. Jost A. Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. III. Rôle des gonades foetales dans la différenciation sexuelle somatique. *Arch Anat Microsc Morphol Exp* 1947;**36**:271-315.
3. Jost A. Problems of fetal endocrinology: the gonadal and hypodhysal hormones. *Rec Progr Horm Res* 1953;**8**:379-418.
4. Josso N, Picard JY, Tran D. The anti-Müllerian hormone. *Rec Progr Horm Res* 1977;**33**:117-160.
5. Picon R. Action du testicule foetal sur le développement in vitro des canaux de Müller chez le rat. *Arch Anat Microsc Morphol Exp* 1969;**58**: 1-19.
6. Taguchi O, Cunha GR, Lawrence WD, Robboy SJ. Timing and irreversibility of Müllerian duct inhibition in the embryonic reproductive tract of the human male. *Dev Biol* 1984;**106**:394-398.
7. Trelstad RL, Hayashi A, Hayashi K, Donahoe PK. The epithelial mesenchymal interface of the male rat Müllerian duct: loss of basement membrane integrity and ductal regression. *Dev Biol* 1982;**92**: 27-40.
8. di Clemente N, Wilson CA, Faure E, et al. Cloning, expression and alternative splicing of the receptor for anti-Müllerian hormone. *Mol Endocrinol* 1994;**8**:1006-1020.
9. Baarends WM, van Helmond MJL, Post M, et al. A novel member of the transmembrane serine/threonine kinase receptor family is specifically expressed in the gonads and in mesenchymal cells adjacent to the müllerian duct. *Development* 1994;**120**: 189-197.
10. Imbeaud S, Faure E, Lamarre I, et al. Insensitivity to anti-Müllerian hormone due to a spontaneous mutation in the human anti-Müllerian hormone receptor. *Nat Genet* 1995;**11**:328-388.
11. Picard JY, Josso N. Purification of testicular anti-Müllerian hormone allowing direct visualization of the pure glycoprotein and determination of yield and purification factor. *Mol Cell Endocrinol* 1984;**34**:23-29.
12. Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C, et al. Isolation of the bovine and human genes for müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell* 1986;**45**: 685-698.
13. Coben-Haugenauer O, Picard JY, Mattei MG, et al. Mapping of the gene for anti-Müllerian hormone to the short arm of human chromosome 19. *Cytogenet Cell Genet* 1987;**44**: 2-6.
14. Pepinsky RB, Sinclair LK, Chow EP, et al. Proteolytic processing of Müllerian inhibiting substance produces a transforming growth factor β -like fragment. *J Biol Chem* 1988;**263**:18961-18965.
15. Wilson CA, di Clemente N, Ehrenfels C, et al. Müllerian inhibiting substance requires its N-terminal domain for maintenance of biological activity, a novel finding within the TGF-B superfamily. *Mol Endocrinol* 1993;**7**: 247-257.
16. Picon R. Modifications, chez le rat, au cours du développement du testicule, de son action inhibitrice sur les canaux de Müller in vitro. *CR Acad Sci série D Paris* 1970;**271**:2370-2372.
17. Josso N. Interspecific character of the müllerian-inhibiting substance: action of the human fetal testis, ovary and adrenal on the fetal rat müllerian duct in organ culture. *J Clin Endocrinol Metab* 1971;**32**:404-409.
18. Josso N, Lamarre I, Picard JY, et al. Anti-Müllerian hormone in early human development. *Early Hum Dev* 1993;**33**:91-99.
19. Josso N, Cate RL, Picard JY, et al. Anti-Müllerian hormone, the Jost factor. In: Bardin CW, ed. *Recent Progress in Hormone Research*. v. 48. San Diego: Academic Press; 1993, 1-59.
20. Rey R, Lhommé C, Marcillac I, et al. Anti-Müllerian hormone as a serum marker of granulosa-cell tumors of the ovary: comparative study with serum alpha-inhibin and estradiol. *Am J Obstet Gynecol* (in press), 1996.
21. Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T, et al. Müllerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;**81**:571-576.
22. Gustafson ML, Lee MM, Scully RE, et al. Müllerian inhibiting substance as a marker for ovarian sex-cord tumor. *N Engl J Med* 1992;**326**:466-471.
23. Rey R, Lordereau-Richard I, Carel JC, et al. Anti-Müllerian hormone and testosterone serum levels are inversely related during normal and precocious pubertal development. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;**77**: 1220-1226.
24. Rey R, Schleicher G, Josso N. Anti-Müllerian hormone during fetal and postnatal human testicular development. In: Bergadá C, Moguilevsky JA, eds. *Puberty: Basic and Clinical Aspects*. Rome: Ares-Serono Symposia, 1995, p.37-48.
25. Marshall WA, Tanner JM. Variation in pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* 1969; **44**: 291-303.
26. Haqq CM, King CY, Ukiyama E, et al. Molecular basis of mamma-

- lian sexual determination: Activation of mullerian inhibiting substance gene expression by SRY. *Science* 1994;**266**:1494-1500.
27. Lovell-Badge R, Hübner A. The molecular genetics of Sry and its role in mammalian sex determination. *Philos Trans R Soc Lond [Biol]* 1995;**350**:205-214.
 28. Shen WH, Moore CCD, Ikeda Y, Parker KL, Ingraham HA. Nuclear receptor steroidogenic factor 1 regulates the mullerian inhibiting substance gene: A link to the scx determination cascade. *Cell* 1994;**77**:651-661.
 29. Rey R, Mebarki F, Forest MG, et al. Anti-Müllerian hormone in children with androgen insensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;**79**:960-964.
 30. Josso N, Legeai L, Forest MG, Chaussain JL, Brauner R. An enzyme-linked immunoassay for anti-Müllerian hormone: a new tool for the evaluation of testicular function in infants and children. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;**70**: 23-27.
 31. Rey R, Al-Attar L, Louis F, et al. Testicular dysgenesis does not affect expression of anti-Müllerian hormone by Sertoli cells in pre-meiotic seminiferous tubules. *Am J Pathol* (in press), 1996.
 32. Behringer RR, Cate RL, Froelick GJ, Palmiter RD, Brinster RL. Abnormal sexual development in transgenic mice chronically expressing Müllerian inhibiting substance. *Nature* 1990;**345**:167-170.

Pseudohermafroditismo Masculino Interno: Síndrome de Persistencia de Conductos de Müller

S. Imbeaud, C. Belville, R. Rey, N. Josso, J-Y. Picard

Introducción

La diferenciación sexual se efectúa bajo el control de dos hormonas testiculares⁽¹⁾: la *testosterona*, secretada por las células de Leydig, responsable de la virilización de los órganos genitales externos y del desarrollo de los conductos de Wolff (que dan origen al epidídimo, el conducto deferente y las vesículas seminales), y la *hormona anti-Mülleriana (AMH)*, secretada por las células de Sertoli, responsable de la regresión de los conductos de Müller (que dan origen en el sexo femenino al útero, las trompas de Falopio y el tercio superior de la vagina). La mayoría de los pseudohermafroditismos masculinos son debidos a un defecto de virilización como resultado de un déficit en la síntesis de los andrógenos o de la insensibilidad a los mismos a nivel de los órganos blanco. Entre las formas menos frecuentes de pseudohermafroditismo masculino, encontramos un cuadro caracterizado por la persistencia de restos Müllerianos en varones normalmente virilizados⁽²⁻⁴⁾. Dicho cuadro de pseudohermafroditismo masculino interno ha sido denominado «Síndrome de Persistencia de Conductos de Müller» (en inglés PMDS, por Persistent Müllerian Duct Syndrome) y es debido a una falta de secreción o acción de la AMH.

Síndrome de persistencia de conductos de Müller: Cuadro clínico

El síndrome de persistencia de conductos de Müller (PMDS) es descubierto generalmente de manera fortuita, en el curso de una cirugía en niños, o más raramente en adolescentes o adultos, que consultan por criptorquidia y/o hernia inguinal. Puesto que en estos pacientes la función androgénica testicular permanece intacta, la virilización de los genitales externos es completamente normal. Dos formas anatómicas de PMDS han sido descritas: en la forma más frecuente (90% de los casos), llamada hernia uteri inguinalis, un testículo ha descendido al menos parcialmente, arrastrando consigo la trompa de Falopio ipsilateral, que penetra en el conducto inguinal, haciendo hernia y trayendo con ella la trompa y el testículo contralaterales. La forma menos frecuente de presentación anatómica se caracteriza por la permanencia del útero en la cavidad pelviana, con los testículos en posición ovárica, incluidos en los ligamentos anchos. En un estudio reciente, hemos encontrado una incidencia

de anorquia en pacientes PMDS⁽⁵⁾. En estos pacientes, la virilización normal de los órganos andrógeno-dependientes indica que los testículos estuvieron presentes y secretaron testosterona al menos en los dos primeros trimestres del desarrollo fetal. La situación anatómica anormal en la que se hallan los testículos en los pacientes PMDS podría ser indirectamente responsable de la incidencia aumentada de la anorquia. La falta de anclaje de los testículos al escroto y la situación laxa de los restos Müllerianos en la pelvis podrían predisponer a una torsión testicular, que resultaría finalmente en la degeneración de las gonadas.

Desde el punto de vista bioquímico, el PMDS es un síndrome heterogéneo (Fig. 1). Aproximadamente la mitad de los pacientes no presentan niveles detectables de AMH sérica, lo cual sugiere que el gen de la AMH se encuentra afectado. Sin embargo, en el otro 50% de los casos, la AMH sérica muestra valores normales para la edad, sugiriendo una insensibilidad a la AMH a nivel del órgano blanco.

Mutaciones del gen de la AMH

En los pacientes PMDS con valores séricos de AMH indetectables o anormalmente bajos, según dosaje ELISA, se encuentra una mutación del gen de la AMH. El síndrome PMDS resultante es transmitido de modo autosómico recesivo, es decir que ambos alelos del gen de la AMH deben estar afectados. Las mutaciones del gen de la AMH halladas hasta el presente son diversas y se hallan distribuidas a lo largo de todo el gen⁽⁶⁾. No existe un «hotspot» o región del gen donde las mutaciones ocurran con mayor frecuencia, lo cual determina que haya que estudiar la totalidad del gen en cada nuevo caso. El uso de la técnica de SSCP-PCR resulta de gran utilidad en el screening de la mutación. En nuestra experiencia, para el gen de la AMH, la SSCP-PCR tiene una sensibilidad de 100%. Ello nos permite dividir al gen de la AMH en 5 fragmentos y estudiar el patrón de movilidad electroforética de cada uno de ellos. Una vez detectado el fragmento con una migración anormal, sólo dicho fragmento será secuenciado en busca de la mutación.

PMDS con secreción normal de AMH: anomalías del receptor de la AMH

Durante el desarrollo fetal temprano, la AMH ejerce su efecto inhibitorio sobre las células mesenquimáticas que rodean a los conductos de Müller⁽⁷⁾. El receptor de la AMH ha sido localizado por

Unité de Recherches sur l'Endocrinologie du Développement (INSERM), Ecole Normale Supérieure, Département de Biologie, 1 rue Maurice Arnaud, 92120 Montrouge, Francia.

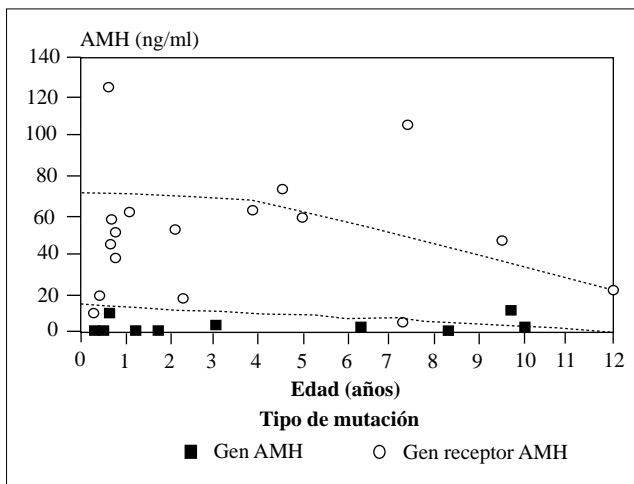


Figure 1. Valores séricos de AMH en pacientes PMDS.

hibridización in situ en el conejo de ambos sexos, alrededor de los conductos de Müller y también en el testículo y el ovario, con un perfil de expresión muy similar al de su ligando, la AMH^(8,9). Se trata de un receptor de membrana que forma parte de la familia de los receptores del tipo II del TGF- β , caracterizados por poseer un solo dominio de transmembrana y un dominio intracelular con actividad serín-treonín-kinasa. En el humano, el receptor de la AMH es codificado por un gen de 7.6 kb, formado por 11 exones y localizado en el cromosoma 12, más precisamente en 12q13⁽¹⁰⁾. La proteína comporta 573 aminoácidos. La secuencia señal y la región extracelular del receptor están formadas por 144 aminoácidos codificados por los primeros tres exones. El fragmento de transmembrana consiste en 26 aminoácidos y es codificado por el exon 4. Los restantes 403 aminoácidos, codificados por los exones 5 a 11, representan la porción intracelular del receptor, en la cual reside la actividad serín-treonín kinasa, presumiblemente importante en la transducción de la señal.

Aproximadamente la mitad de los pacientes con un PMDS presentan valores normales de AMH sérica (Fig. 1), lo cual indica que el gen de dicha hormona se encuentra indemne. En estos pacientes, el defecto debería entonces encontrarse a nivel del órgano blanco, presuntivamente debido a anomalías del receptor. Recientemente, Imbeaud y cols. reportaron el primer caso de PMDS debido a una mutación en el gen del receptor de la AMH⁽¹⁰⁾. Se trata de un niño de 3 meses, de padres no consanguíneos, llevado a la consulta debido a una criptorquidia derecha asociada a una hernia inguinal izquierda. Los valores séricos de AMH fueron normales para la edad al dosaje ELISA y la hormona mostró una actividad normal en test biológico. El gen de la AMH fue secuenciado y ninguna alteración fue puesta en evidencia. Finalmente, el estudio del gen del receptor de la AMH mostró un patrón anormal de migración por SSCP-PCR y, subsecuentemente, el secuenciado del gen permitió demostrar la existencia de una mutación que resulta en un «splicing» anormal. Como consecuencia de esta mutación, se genera un receptor al cual le falta el segundo exon, requerido para la unión a la hormona.

Conclusiones

El síndrome de persistencia de conductos de Müller es un tipo particular de pseudohermafroditismo masculino caracterizado por una sola anomalía del desarrollo sexual: la presencia de un útero y trompas en varones normalmente virilizados. Otros casos de ambigüedades sexuales con persistencia de restos uterinos asociada a defectos de virilización no deben ser incluidos en el síndrome PMDS. Existen dos tipos de PMDS: el PMDS AMH(-) es el resultado de una mutación del gen de la AMH: en dichos pacientes la secreción testicular de AMH está abolida. El PMDS AMH(+) se caracteriza por una secreción normal de AMH; el defecto es en estos casos una insensibilidad a dicha hormona, debido a mutaciones del receptor. La presentación clínica es similar en ambos casos. La posición criptórcida del testículo y su relación con los restos Müllerianos persistentes parecen predisponerlos a la torsión testicular, y una frecuencia aumentada de anorquia ha sido observada en pacientes PMDS.

Agradecimientos

Sandrine Imbeaud es becaria postdoctoral de la Association Française contre les Myopathies. Rodolfo Rey recibe aporte financiero (beca postdoctoral externa) del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina (CONICET).

Bibliografía

- Josso N, Cate RL, Picard JY, et al. Anti-Müllerian hormone, the Jost factor. In: Bardin CW, ed. *Recent Progress in Hormone Research*. v. 48. San Diego, 1993. Academic Press; 1-59.
- Guerrier D, Tran D, van der Winden JM, et al. The persistent Müllerian duct syndrome: a molecular approach. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;**68**:46-52.
- Knebelmann B, Boussin L, Guerrier D, et al. Anti-Müllerian hormone Bruxelles: a nonsense mutation associated with the persistent Müllerian duct syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;**88**:3767-3771.
- Zeller J, Imbeaud S, Rey R, et al. Le syndrome de persistance des dérivés müllériens (hommes à utérus) : un problème pédiatrique. *Arch Pédiatr* 1994;**1**:991-997.
- Imbeaud S, Rey R, Bertar et al. Progressive testicular degeneration in the persistent Müllerian duct syndrome. *Eur J Pediatr* 1995;**154**: 187-190.
- Imbeaud S, Carré-Eusèbe D, Rey R, Belville C, Josso N, Picard JY. Molecular genetics of the persistent Müllerian duct syndrome: a study of 19 families. *Hum Mol Genet* 1994;**3**:125-131.
- Tsuji M, Shima H, Yonemura CY, Brody J, Donahoe PK, Cunha GR. Effect of human recombinant müllerian inhibiting substance on isolated epithelial and mesenchymal cells during müllerian duct regression in the rat. *Endocrinology* 1992;**131**:1481-1488.
- di Clemente N, Wilson CA, Faure E, et al. Cloning, expression and alternative splicing of the receptor for anti-Müllerian hormone. *Mol Endocrinol* 1994;**8**:1006-1020.
- Baarends WM, van Helmond MJL, Post M, et al. A novel member of the transmembrane serine/threonine kinase receptor family is specifically expressed in the gonads and in mesenchymal cells adjacent to the müllerian duct. *Development* 1994;**120**:189-197.
- Imbeaud S, Faure E, Lamarre I, et al. Insensitivity to anti-Müllerian hormone due to a spontaneous mutation in the human anti-Müllerian hormone receptor. *Nat Genet* 1995;**11**:382-388.

Génétique des Pseudo-Hermaphroditismes Masculins par Anomalies de la Synthèse de la Testostérone

Y. Morel, L. Calemard-Michel, S. Portrat-Doyen, F. Mebarki

Nous n'étudierons dans ce chapitre que les ambiguïtés sexuelles dues à une anomalie de la biosynthèse de la testostérone chez l'homme 46, XY. Il s'agit de *pseudohermaphroditismes masculins* (PHM) car ils présentent des ambiguïtés sexuelles secondaires à une masculinisation insuffisante d'un fœtus de sexe masculin 46,XY avec un testicule bien différencié. Ceci est dû à une insuffisance de production androgénique secondaire à un déficit de la biosynthèse testiculaire des stéroïdes soit isolés (cas du déficit en 17 β -hydroxystéroïde-déshydrogénase) soit associés à une hyperplasie des surrénales (déficit en 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase, en 17-hydroxylase ou en enzyme coupant la chaîne latérale du cholestérol). Ce sont des maladies héréditaires à transmission autosomique récessive. Ces PHM représentent 10% des étiologies dans notre étude rétrospective de 170 cas étudiés dans notre département à Lyon⁽¹⁸⁾. Les autres dysgénésies gonadiques pures ou mosaïques, PHM associés à des malformations, PHM dues à des anomalies des cellules cibles, PHM idiopathiques sont abordés dans d'autres chapitres de ce livre:

On élimine par définition les *pseudohermaphroditismes féminins* (PHF) qui sont des ambiguïtés sexuelles résultant de la virilisation des OGE d'un fœtus de sexe féminin 46,XX, généralement due à une imprégnation androgénique secondaire à une hypersécrétion de précurseurs stéroïdiens due à une anomalie de la synthèse des stéroïdes⁽⁴⁶⁾, voir dans la même série⁽⁴⁸⁾. La cause la plus fréquente est l'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) par déficit en 21-hydroxylase^(47, 49).

I. Généralités sur la biosynthèse de la testostérone

A. Deux types d'enzymes: les cytochromes P450 et les hydroxystéroïdes-déshydrogénases

Chez l'homme, la biosynthèse de la testostérone à partir du cholestérol fait intervenir quatre enzymes (Fig. 1). Deux enzymes appartiennent au groupe des cytochromes-oxydases P450. Un cytochrome est une hémoprotéine en position terminale d'une chaîne de transport d'électrons qui part du NADPH, passe par différentes protéines intermédiaires, pour aboutir à l'hydroxylation du stéroïde via le transfert des électrons et d'ions H⁺ du cytochrome au stéroïde.

Le cytochrome P450c17 est cytosolique et lié à la membrane du réticulum endoplasmique, le cytochrome P450scc est situé dans la matrice de la mitochondrie, lié à la membrane interne. Cette disposition explique l'existence d'un va et vient des stéroïdes dans la cellule, comme le montre la première étape de la stéroïdogénèse: hydrolyse des esters du cholestérol, transport du cholestérol libre (C27) dans la mitochondrie et formation d'un stéroïde en C21, la prégnénolone sort dans le cytosol pour être le substrat soit du cytochrome P450c17, soit de la 3 β -HSD. Les deux autres enzymes appartiennent au groupe des hydroxystéroïdes-déshydrogénases (HSD) qui ont une activité catalytique double réversible, oxydative ou réductrice. L'une d'entre elles prédomine. La duplication de leurs gènes ou leur multiplicité confère une fonction et une expression tissulaire différentes.

B. Distribution tissulaire

Contrairement aux enzymes des étapes finales de la biosynthèse du cortisol et de l'aldostérone qui sont exprimées seulement dans la surrénale, l'expression des enzymes de la biosynthèse des androgènes (tableau I) est soit spécifique des tissus stéroïdogéniques comme la surrénale et les gonades (cytochromes P450scc et P450c17) soit plus ubiquitaire car englobant les tissus périphériques non stéroïdogéniques comme le foie et la peau (3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase (3 β -HSD) et 17 β -hydroxystéroïde déshydrogénase (17 β -HSD)). Ces enzymes sont aussi bien impliquées dans la synthèse des stéroïdes actifs que dans leur catabolisme, ce qui explique leur large distribution et la présence de différentes isoenzymes comme nous le verrons plus loin.

II. Points communs des anomalies de la synthèse de la testostérone

A. L'ambiguïté sexuelle est due à l'absence ou à la diminution de la sécrétion de testostérone, et n'est pas pathognomonique d'un déficit

Cliniquement, les testicules sont présents et bilatéraux, le plus souvent ectopiques ou situés dans les replis labio-scrotaux. Comme la sécrétion testiculaire est anormale, les organes génitaux masculins internes dérivant des canaux de Wolff sont incomplètement développés. Par contre comme la sécrétion de l'hormone anti-müllérienne n'est pas affectée, la régression des canaux de Müller se fait normalement (absence de trompes et d'utérus). Habituellement, il persiste une poche vaginale borgne provenant embryologiquement du sinus

Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, INSERM U329. Hôpital Debrousse 69322 LYON Cédex 05.

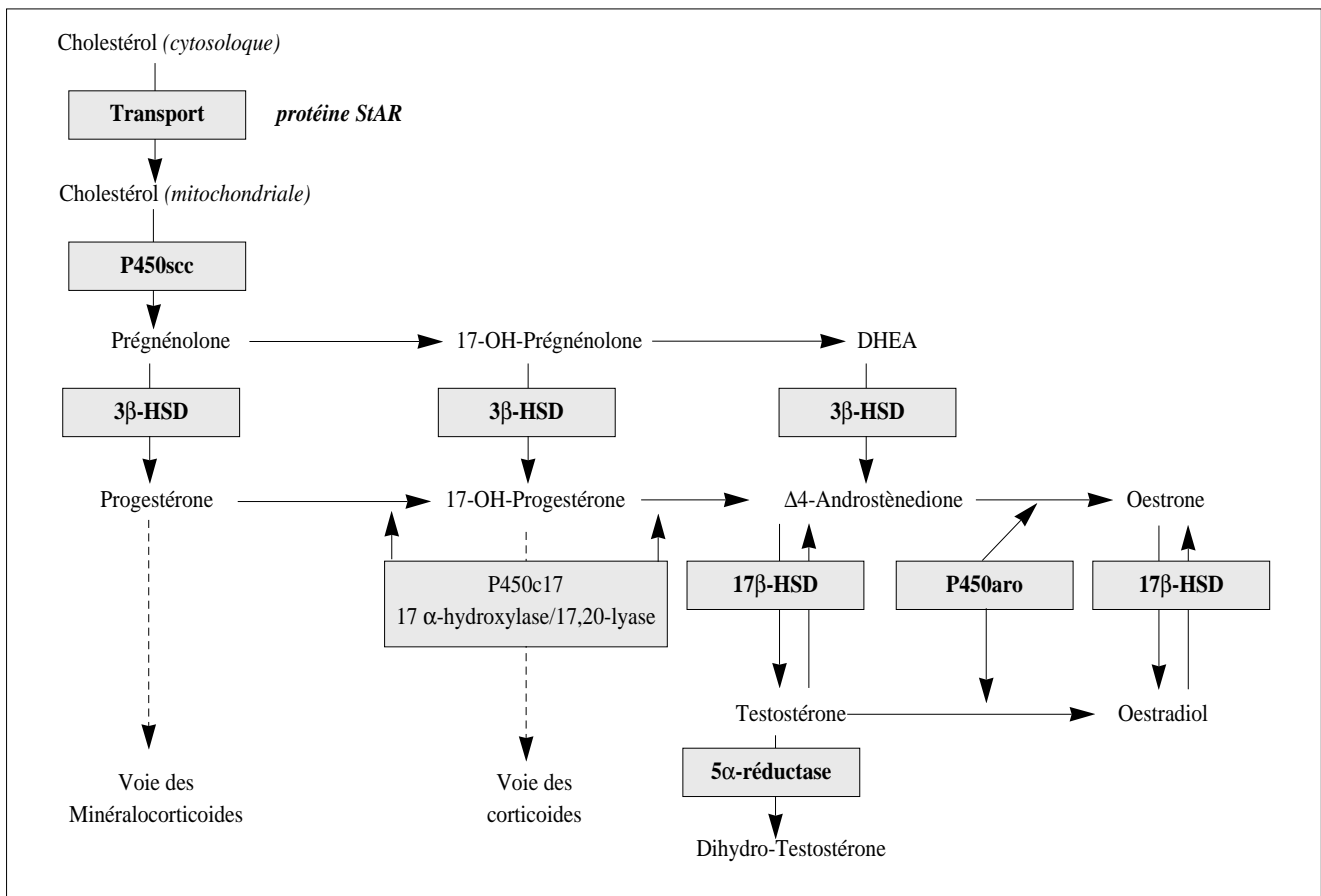


Figure 1. Biosynthèse de la testostérone.

urogénital qui forme normalement le tiers inférieur du vagin. Ce défaut de masculinisation des organes génitaux externes pendant la vie foetale est variable, soit complète donnant un phénotype féminin, soit modéré donnant un hypospade périnéo-scrotal.

B. Le diagnostic se fait donc sur des critères biologiques confirmés actuellement par l'étude moléculaire (tableau II)

C. Tous ces déficits sont des maladies génétiques à transmission autosomique récessive

Le diagnostic de déficit en une enzyme de la stéroïdogenèse implique un conseil génétique. Donc il est très important d'être sûr du diagnostic. Comme le montre la figure 2, un sujet atteint d'une maladie génétique à transmission autosomique récessive présente une anomalie du gène responsable sur ses deux chromosomes, l'une d'origine paternelle (chromosome a), l'autre d'origine maternelle (chromosome d). Donc ses parents sont des hétérozygotes obligatoires c'est-à-dire ayant un de leurs deux chromosomes qui porte une anomalie du gène responsable du déficit. Il faut bannir les termes comme «formes hétérozygotes» qui prêtent à confusion. En effet si une personne est hétérozygote, elle porte l'anomalie du gène seulement sur l'un de ses deux chromosomes (cas des parents et des enfants

2 et 3); elle n'est pas malade dans le cas d'une maladie génétique à transmission autosomique récessive car le gène sur son autre chromosome (b ou d dans la figure 2) n'est pas atteint. Un patient dit «double hétérozygote» ou «hétérozygote composite» est atteint car il présente par exemple sur son chromosome a une mutation X du gène responsable de cette maladie et une mutation différente Y sur son autre chromosome d.

Tous ces déficits sont rares, contrairement au déficit en 21-hydroxylase. Le plus souvent les patients sont homozygotes pour la même mutation confirmant une consanguinité très fréquente des parents.

III. Hyperplasie lipoïde des surrénales

Ce déficit très rare se retrouve surtout dans la population japonaise⁽²²⁾. La synthèse des trois classes de stéroïdes est affectée. Le plus souvent, il s'agit d'un tableau très grave avec perte de sel sévère et phénotype féminin dans les deux sexes génétiques. Le diagnostic est fait sur des critères biologiques : association de taux très élevés d'ACTH et de LH et de stéroïdes plasmatiques très bas voire indosables.

Pendant longtemps, l'anomalie génétique de cette maladie est

Tableau I Les enzymes de la biosynthèse du testostérone

Enzyme	Réaction enzymatique	Facteurs associés	Gène	Chromosome	Longueur (kilobases)	Protéine (aa)	Localisation cellulaire/tissulaire
P450scc	Coupage de la chaîne latérale hydroxylation en 20 hydroxylation en 22 20-22 lyase	NADPH adrénodoxine-réductase adrénodoxine	CYP11A	15	>20	482	mitochondriale surrénales gonades
P450c17	hydroxylation en 17 α 17-20 lyase	NADPH adrénodoxine	CYP17	10	6,6	508	cytosolique surrénales gonades
3 β -HSD-1	3 β -déshydrogénation Δ 5- Δ 4 isomérisation	NAD+	3 β -HSD-1	1p11-13	7,8	372	cytosolique tissus périphériques
3 β -HSD-2	3 β -déshydrogénation Δ 5- Δ 4 isomérisation	NAD+	3 β -HSD-2	1p11-13	7,8	371	liée au RE gonades
17 β -HSD-1	oxydation > réduction (substrat : E2)	NADPH / NAD+	17 β -HSD-1	17q11-12	3,2	327	soluble placenta, ovaire glande mammaire
17 β -HSD-2	oxydation (substrat : E2)	NAD+	17 β -HSD-2	16q24		387	liée au RE placenta, endomètre en phase lutéale
17 β -HSD-3	réduction (substrat : Δ 4)	NADPH	17 β -HSD-3	9q22	60	310	liée au RE testicule
17 β -HSD-4	oxydation (substrat : E2)	NAD+	17 β -HSD-4	?	80	736	peroxysome

restée inconnue. Une lésion du complexe enzymatique permettant la conversion du cholestérol en prégnénolone a été suspectée devant deux observations : l'absence de stéroïdes dosables dans le plasma, même après ACTH et l'impossibilité pour des mitochondries extraites des gonades et des surrénales de sujets atteints de convertir le cholestérol en prégnénolone. Le gène candidat était celui codant pour le cytochrome P450scc, l'un des premiers gènes de la stéroïdogénèse à être connu⁽¹⁰⁾. Mais à ce jour, aucune mutation n'a été identifiée^(34, 70), bien que chez le lapin ce déficit soit dû à une délétion du gène P450scc⁽⁹⁴⁾. De plus l'ARNm et la protéine Cytochrome P450scc sont normaux^(34, 69, 74). De ce fait, d'autres gènes ont été étudiés comme ceux codant pour les protéines de la chaîne mitochondriale de transport d'électrons (adrénodoxine réductase et adrénodoxine) mais ceux-ci semblent également normaux. Ces données suggèrent que le gène responsable code pour une protéine située en amont du complexe P450scc et en aval de la cholestérol estérase responsable de la maladie de Wolman. Plusieurs protéines intervenant dans le transport du cholestérol du cytosol à la mitochondrie ont été éliminées tels que la SCP-2 («Sterol carrier protein-2»),

l'endozépine, un peptide de 78 acides aminés provenant de l'extrémité C-terminale du GRP («Glucose-regulated protein») et le présumé transporteur mitochondrial du cholestérol, le récepteur du benzodiazépine^(33, 34).

Récemment, une autre protéine ayant un rôle dans la translocation du cholestérol de la membrane interne à la membrane externe de la mitochondrie a été mise en évidence dans les cellules MA-10⁽¹²⁾. Cette protéine nommée StAR, pour «Steroidogenic Acute Regulatory protein», est présente dans les gonades et les surrénales mais ne l'est ni dans le placenta, ni dans le cerveau⁽¹¹⁾. Elle est constituée de 285 acides aminés (aa) dont 25 aa correspondent à une séquence d'adressage mitochondriale. Le précurseur et la protéine mature ont une demi-vie très courte, respectivement de l'ordre de quelques minutes et de quelques heures.

Le gène qui code pour cette protéine est localisé sur le chromosome 8p. Il est structuré en 7 exons et sa longueur est de 8kb. Il existe un pseudogène sur le chromosome 13 ne possédant pas d'intron et présentant une insertion, de nombreuses substitutions et délétions⁽⁸²⁾.

Récemment, l'étude moléculaire a permis de mettre en évidence

Tableau II Données clinico-biologiques des déficits de la biosynthèse de la testostérone

Déficit	Phénotype		autres symptômes	Hyperplasie congénitale des urrénales	Stéroïdes	Rénine	Gène muté
	46,XY	46,XX					
hyperplasie lipoïde							
partiel	ambigu	féminin	PSB	oui	Stéroïdes	élevée	StAR
complet	féminin	féminin	PSC	oui	non dosables	élevée	
3 β -HSD							
partiel	ambigu	ambigu (\pm)	PSB ou –	oui	Δ 5 stéroïdes	N ou élevée	3 β -HSD II
complet	féminin	féminin	PSC	oui	élevés	élevée	
P450c17							
partiel	ambigu	féminin	HTA (\pm)	oui	P, DOC, B	basse	CYP17
complet	féminin	féminin	HTA	oui	élevés	basse	
17 β -HSD							
partiel	ambigu	féminin	–	non	Δ 4/ T élevé	N	17 β -HSD III
complet	féminin	féminin	–	non		N	
Aplasie des cellules de Leydig							
ambigu			pilosité féminine	non	T basse sous hCG	N	Récepteur de LH
micropénis				non	T haute sous hCG	N	LH

PSC: perte de sel clinique; PSB : perte de sel biologique.

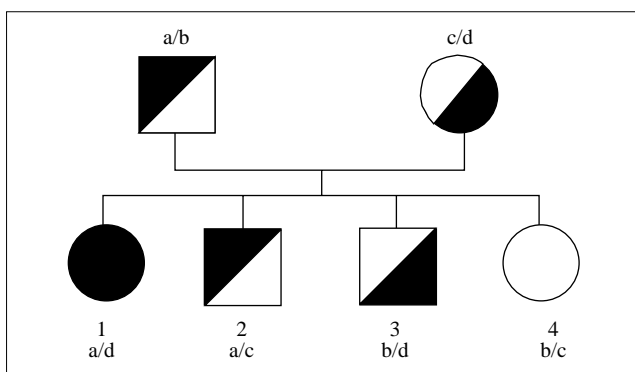


Figure 2. Arbre généalogique d'une maladie génétique à transmission autosomique récessive.

3 mutations homozygotes chez 3 patients différents. Deux d'entre elles sont des mutations faux-sens décrites dans les exons 5 et 7, respectivement R193X et Q258X⁽³⁵⁾. la troisième, 466-11T/A, est intronique et conduit à l'épissage de l'exon 5⁽⁸³⁾.

IV. Déficit en 3 β -HSD

A. Découverte des gènes 3 β -HSD

La conversion des stéroïdes 3 β - Δ ⁵ en stéroïdes Δ ⁴⁻³ céto, configuration que possèdent tous les stéroïdes physiologiquement

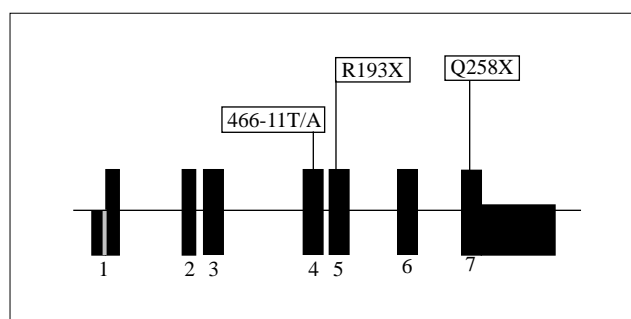


Figure 2a. Mutations du gène de la protéine StAR.

actifs qu'ils aient 21 ou 19 atomes de carbone (C21 et C19), dépend de la même enzyme: la 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase, autrefois appelée 3 β -ol déshydrogénase. Cette conversion de prégnénone en progestérone, de 17-OH-prégnénone en 17-OH progestérone (17OHP), de DHA en Δ ⁴-androsténone et de Δ ⁵-androsténone en testostérone, implique l'oxydation du groupe hydroxyle 3 β et le déplacement de la double liaison 5-6 en 4-5 (isomérisation Δ ⁵- Δ ⁴). Avant la découverte des gènes 3 β -HSD, il n'était pas possible de dire si ces quatre conversions dépendaient de la même enzyme ou d'une famille d'isoenzymes. De plus, son expression tissulaire est variable, importante dans les tissus stéroïdogéniques comme la surrénale, le testicule, l'ovaire et le placenta, mais présente

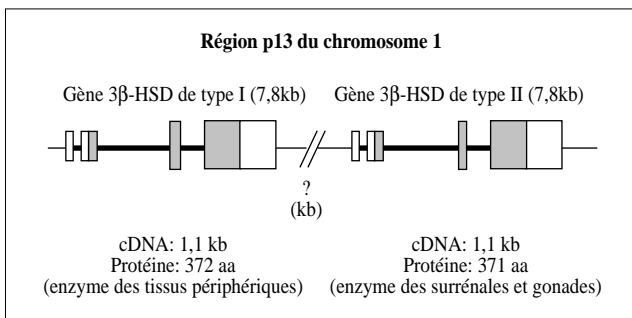


Figure 3. Les deux gènes 3β-hydroxystéroïde-déshydrogénases.

pratiquement dans tous les organes comme le foie, le rein, le tissu adipeux, la peau (voir revue^(28, 43)). L'enzyme est un monomère de 45000 daltons, lié à la membrane externe du réticulum endoplasmique, NAD⁺-dépendant, ne faisant pas partie de la famille des cytochromes à laquelle appartiennent la plupart des enzymes de la stéroïdogénèse.

Grâce à la purification de l'enzyme⁽³⁷⁾ et à la production d'anticorps, deux cDNAs ont pu être isolés, l'un (Type I) à partir d'une librairie placentaire⁽⁴⁰⁾ et l'autre (Type II) à partir d'une librairie de surrénale⁽⁶⁵⁾. Un seul ARN messager de 1,7 kb a été retrouvé dans tous les tissus. Le type I est surtout exprimé dans le placenta et la peau, le type II l'est presque exclusivement dans les gonades. Le type I comme les trois cDNAs du rat et les types bovins et macaque codent pour une protéine de 372 acides aminés (AA) (voir revue^(28, 43)). Le type II humain possède un acide aminé en moins (371AA) par la suite d'une double mutation qui délète et génère un nouveau codon d'initiation. Seulement 23 acides aminés diffèrent entre les deux types humains (93,5% d'homologies). La protéine purifiée ou produite par transfection du cDNA est la même avec une taille d'environ 45 kd (détectée par la méthode de Western blot). L'étude de l'activité enzymatique montre que le type I a une activité 3βHSD/isomérase plus élevée que celle du type II (Km = 0,24 vs 1,2 μM pour la prégnénolone; 0,18 vs 1,6 μM pour DHA), mais aussi une activité 3β-hydroxystéroïde oxydoréductase plus élevée. Mais ces valeurs plus élevées du Km pour tous les substrats du type II, surtout exprimé dans la surrénale et les gonades, sont peut-être dues à des concentrations endogènes plus élevées de ces substrats dans ces tissus.

Deux gènes ont été isolés; l'un, appelé 3β-HSD type I^(29, 36), l'autre, appelé 3β-HSD type II (30). Chaque gène a la même structure, longue d'environ 8 kb et contenant 4 exons (Fig. 2). Les études de Southern suggèrent même l'existence de plusieurs autres gènes qui seraient des pseudogènes. Il est probable que tous ces gènes soient situés dans la même région p13 du chromosome 1^(3, 50).

B. Le Pseudohermaphrodisme masculin est soit isolé soit associé à un syndrome de perte de sel

Une diminution de l'activité 3β-HSD a pour conséquence une diminution de la production de toutes les classes d'hormones stéroïdes, à savoir les glucocorticoïdes, les minéralocorticoïdes ainsi que les hormones sexuelles.

Dans la forme classique sévère, les patients présentent un syndrome de perte de sel sévère, mettant leur vie en danger lors des

premières semaines de la vie. Les enfants de sexe génétique masculin présentent une ambiguïté sexuelle plus ou moins sévère, et donc un tableau de pseudohermaphrodisme. Si ces nouveau-nés présentent une cryptorchidie bilatérale⁽⁵⁹⁾ ils ressemblent à s'y méprendre à des filles atteintes de forme classique de déficit en 21-hydroxylase. Également on peut trouver dans la littérature l'observation d'un garçon atteint de déficit en 3β-HSD, qui avait tout d'abord été décrit comme présentant l'association paradoxale d'un déficit en 21-hydroxylase et d'un hypospade du 3ème degré (78).

L'autre présentation chez le garçon est un tableau de pseudohermaphrodisme masculin sans perte de sel clinique. Le dosage de la rénine permet d'évaluer le risque potentiel de décompensation et de prévoir le retentissement fonctionnel des mutations⁽⁴⁴⁾.

C. Le diagnostic de déficit en 3β-HSD est biologique, mais doit être confirmé par la biologie moléculaire

Le profil biologique pathognomonique du déficit classique en 3β-HSD est l'accumulation de tous les précurseurs de la voie Δ⁵. Dans les formes sévères ou classiques de déficit en 3β-HSD, les taux plasmatiques de prégnénolone, 17α-hydroxyprégnénolone, de DHA et de DHA sulfate (DHAS) ainsi que de Δ⁵-androstènediol sont tous très anormalement élevés pour l'âge et/ou le sexe. Les taux plasmatiques de cortisol sont un peu bas ou normaux dans les conditions de base, mais en règle générale ne montent pas suffisamment après stimulation par l'ACTH. Les taux endogènes d'ACTH plasmatique sont en général élevés. L'aldostérone plasmatique est soit diminuée, soit normale. Dans les cas de PHM sans perte de sel, l'activité rénine plasmatique est élevée lorsqu'elle est dosée. Paradoxalement, les taux plasmatiques de Δ⁴-androstènedione, de 17α-hydroxyprogesterone et même de progesterone peuvent être franchement au-dessus de la normale pour l'âge et le sexe^(9, 14, 59, 95). Ceci a été attribué à la préservation d'une conversion périphérique (extragonadale) de taux élevés de DHA, de 17α-hydroxyprégnénolone et de prégnénolone en leur équivalents de la voie Δ⁴^(14, 54). Chez le garçon atteint de déficit en 3β-HSD, la réponse de la testostérone à la stimulation par l'hCG est en général faible dans l'enfance⁽¹⁴⁾, mais peut devenir substantielle en cours de puberté⁽⁶⁷⁾. Cependant, une montée anormale sous hCG des taux de DHAS⁽¹⁴⁾ ou de Δ⁵-androstènediol^(13, 67) est alors toujours associée.

La constatation de taux élevés de DHAS pour l'âge n'est pas suffisante pour faire le diagnostic de déficit en 3β-HSD. Une élévation des taux (de base et stimulés) de 17α-hydroxyprégnénolone est le meilleur marqueur du déficit enzymatique. On ne peut que souligner la grande diversité des profils hormonaux rapportés dans la littérature. Nous pensons que cette variabilité dépend non seulement de la sévérité du déficit enzymatique, mais aussi de l'âge auquel est fait le diagnostic. On ne peut que rappeler que les valeurs normales de stéroïdes de la voie Δ⁵ changent considérablement avec l'âge, sinon le sexe.

Pour nous, dans tous les cas le diagnostic repose tout autant sur l'élévation anormale des taux absolus des stéroïdes de la voie Δ⁵ (que ce soit dans les conditions de base ou après stimulation par

l'ACTH et l'hCG), que sur l'élévation des rapports des différents stéroïdes Δ^5/Δ^4 .

Actuellement, tout diagnostic de déficit en 3 β -HSD doit être confirmé par la biologie moléculaire.

D. Le déficit en 3 β -HSD est dû à une anomalie du gène 3 β -HSD de type II

La découverte chez deux patients d'un même village suisse d'une mutation W171X du gène 3 β -HSD de type II transformant un tryptophane en codon stop à l'état homozygote et l'absence d'anomalie dans l'autre gène, 3 β -HSD de type I, nous a permis de confirmer l'origine génétique de ce déficit et sa transmission autosomique récessive⁽⁶⁶⁾. Ce déficit était donc bien dû au gène s'exprimant spécifiquement dans les surrénales et les gonades.

E. L'absence d'anomalies du gène 3 β -HSD de type I explique les particularités cliniques et biologiques dues à une élévation anormale de stéroïdes Δ^5

Plusieurs arguments tirés des études clinico-biologiques suggéraient qu'une activité 3 β -HSD persistait dans les tissus non stéroïdogéniques : la présence de taux élevés de composés Δ^4 , en particulier la 17OHP durant les premiers mois de la vie, pouvant faire penser à un déficit en 21-hydroxylase; la légère virilisation de nouveau-nés de sexe génétique féminin atteints de forme sévère de déficit en 3 β -HSD^(5, 21), l'apparition d'une virilisation lors de la puberté, pouvant s'accompagner de taux presque normaux de testostérone. Certains auteurs avaient suggéré une amélioration du déficit avec l'âge au niveau du testicule, puisque certains garçons sont capables de produire suffisamment de testostérone pour faire spontanément une puberté masculine satisfaisante⁽²⁵⁾. En fait, ces situations reflètent la présence de précurseurs Δ^5 très élevés due à une hyperactivité gonadotrope qui se surajoute à l'hypersécrétion d'ACTH et suggèrent la présence de deux isoenzymes différents. L'absence d'anomalies du gène 3 β -HSD de type I, s'exprimant surtout dans le placenta et les tissus périphériques, confirme la persistance d'une conversion périphérique des précurseurs Δ^5 chez ces patients.

F. Toute forme associée à un PHM est due à une mutation du gène 3 β -HSD de type II

Depuis la découverte de la première mutation, 23 mutations du gène 3 β -HSD de type II ont été identifiées dans 24 familles ayant au moins un enfant atteint d'un déficit en 3 β -HSD. Douze de ces 23 mutations ont été identifiées dans notre laboratoire chez des patients provenant des services français et algériens (Pr M David, Pr J-L Chaussain, Pr Y Lebouc, Dr Barahma). Cinq ont été publiées^(44, 64, 66, 76). Dans toutes ces familles, au moins un enfant atteint est un garçon ayant une ambiguïté sexuelle à la naissance qui est le plus souvent un hypospade périnéal. La figure 4 montre les mutations publiées. La plupart sont associées soit à l'état double-hétérozygote ou homozygote à une forme classique avec perte de sel déjà décrite dans la littérature suggérant un rôle important de l'acide aminé changé: les mutations L108W et P186L^(14, 76), G15D^(21, 64); 186insC et Y253N^(80, 90); W171X et E142K^(9, 80); Y254D⁽⁷⁷⁾. Les autres mutations donnent une protéine tronquée faisant disparaître un domaine essentiel à

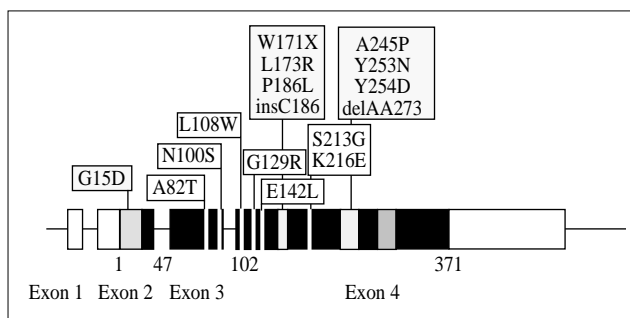


Figure 4. Mutations ponctuelles du gène 3 β -HSD de type II responsables d'un déficit en 3 β -HSD. Dans tous les cas la séquence du gène 3 β -HSD de type I est normale. Le gène représenté sur ce schéma est le gène 3 β -HSD de type II, d'une longueur de 8 kpb et constitué de 4 exons (représentés par des rectangles). La partie codant des exons est représenté par la zone noire : les exons 2, 3 et 4 codent respectivement pour les acides aminés 1 à 47, 48 à 101 et 102 à 371. Trois domaines importants : domaine de liaison du NAD (1-36, gris foncé); domaine de liaison du substrat (176-186 et 254-270, gris clair); domaine transmembranaire (294-310, hachuré).

l'activité enzymatique (voir structure fonction). Toutes ces mutations, en dehors de la mutation G15D⁽⁶²⁾ qui affecte le site d'ancrage du cofacteur NAD⁺, sont situées dans l'exon 4, supposé contenir le site catalytique. Comme ces mutations ne sont pas retrouvées dans la séquence du gène 3 β -HSD de type I, un mécanisme de conversion génique entre les deux gènes ne peut pas être incriminé, comme c'est le cas dans les déficits en 21-hydroxylase^(46, 49).

G. La biologie moléculaire confirme l'existence des deux formes sans perte de sel clinique selon le taux de rénine

Deux formes sans perte de sel peuvent être distinguées selon le taux de rénine.

Dans trois familles, le taux de rénine est élevée^(21, 44, 45). Cette forme clinique se rapproche de la forme dite «virilisante pure» du déficit en 21-hydroxylase due à la mutation I172N (forme classique sans perte de sel)(voir revue^(46, 49)). Les études de mutagenèse in vitro le confirme pour la mutation N100S en montrant la persistance d'une très faible activité 3 β -HSD de l'ordre de 2%⁽⁴⁴⁾.

Par contre, dans les 4 familles où la rénine est normale, les mutations sont moins graves comme le montrent les études de mutagenèse in vitro. Pour la mutation A245P, 11,9 % de l'activité 3 β -HSD persiste et le malade, homozygote pour cette mutation, a une rénine normale^(23, 80). Pour une autre mutation G129R, environ 5% d'activité est conservée^(54, 62). Dans ce cas, un doute pourrait persister mais le malade est un hétérozygote composite avec une autre mutation située dans l'intron 3 qui a priori ne devrait pas abolir totalement l'activité 3 β -HSD.

H. L'étude des mutations des déficits a permis une meilleure compréhension de la structure et la fonction de l'enzyme 3 β -HSD

Plusieurs domaines importants ont été définis par l'association des études de mutagenèse dirigée, du site de liaison des stéroïdes

par photomarquage⁽⁸⁴⁾ et de purification protéique de la 3 β -HSD de surrénales bovines⁽⁶⁸⁾. Deux régions sont impliquées dans la liaison du stéroïde: Elles correspondent aux acides aminés 176-186 et 250-274. Les acides aminés Cys183 et His262 seraient très proches du stéroïde. L'alignement de la séquence avec celles d'autres déshydrogénases a mis en évidence une région de séquence GXGXXG correspondant à la séquence consensus du domaine de liaison des cofacteurs enzymatiques dérivés de dinucléotides (FAD, NAD⁺). Cette séquence consensus est partagée par la famille des alcools déshydrogénases à chaîne courte. Ces domaines sont organisés en une structure tertiaire typique de 2 feuillets β séparés par une hélice α . Pour les enzymes 3 β -HSD, ce domaine est situé dans la région NH2 terminale de la protéine au niveau des acides aminés 5-36: les acides aminés 5-10 formeraient le premier feuillet β , le site de liaison du NAD (séquence GXGXXG) serait au niveau des acides aminés 10-15 et les acides aminés 15-36 formeraient le reste de la structure tertiaire. Ce domaine a été confirmé par nos résultats montrant un Km très élevé du NAD⁺ pour l'enzyme portant la mutation G15D (64). A partir de la structure primaire de l'enzyme et à l'aide des algorithmes de calcul de régions hydrophobes, un domaine transmembranaire a été localisé au niveau des acides aminés M283-Y308⁽⁶⁸⁾. Enfin l'alignement de séquences avec celles d'isomérases bactériennes (*Pseudomonas Putida* et *Testeroni*), qui catalysent aussi l'isomérisation de Δ 5-androstène-3,17-dione en Δ 4-androstène-3,17-dione, a permis de retrouver 3 acides aminés très conservés (D241, Y253, F217) responsable de l'activité isomérase. D'autres acides aminés sont aussi conservés dans cette région, suggérant que la région K216-Y253 pourrait être une portion du site catalytique de l'activité isomérase. Enfin, si les deux activités déshydrogénase et isomérase résident dans la même protéine, elles ne seraient pas situées au même endroit⁽⁴¹⁾.

En somme, l'étude des gènes 3 β -HSD dans les déficits en 3 β -HSD a permis de confirmer qu'il s'agit d'une maladie héréditaire à transmission autosomique récessive due à une atteinte du gène 3 β -HSD de type II, exprimé spécifiquement dans les surrénales et les gonades. Il existe une bonne corrélation clinico-génétique. Il n'existe pas de perte de sel chez les patients ayant des mutations laissant au moins une activité résiduelle 3 β -HSD supérieure à 2% de la normale. Le défaut de masculinisation noté à la naissance doit être dû à une sécrétion locale insuffisante d'androgènes actifs à un moment précis de la vie foetale. Durant cette période, l'activité périphérique de la 3 β -HSD de type I est insuffisante alors qu'au moment de la puberté elle suffit pour masculiniser ces enfants.

V. Déficits en 17-hydroxylase et 17-20 desmolase

A. Le cytochrome P450c17

Le cytochrome P450c17 joue un rôle clé dans l'orientation de la prégnérolone vers les différentes classes de stéroïdes. Il a deux activités distinctes: 17 α -hydroxylation et la coupure de la liaison C17-20 qui transforme les stéroïdes en C21 en stéroïdes en C19. Ces deux activités sont médiées par le même cytochrome P450c17

qui est codé par le gène CYP17 localisé sur le chromosome 10q24-25⁽⁸¹⁾. Dans la zone glomérulée de la surrénale, la prégnérolone, en absence de P450c17, va s'orienter vers la voie des minéralocorticoïdes. Lorsque seulement l'activité 17 α -hydroxylase est présente, la prégnérolone sert à synthétiser du cortisol; par contre quand les deux activités sont présentes, la prégnérolone s'oriente vers la synthèse des androgènes. Donc le cytochrome P450c17 régule qualitativement la stéroïdogénèse surrénalienne. Dans le testicule, l'absence d'activité 21-hydroxylase oriente la stéroïdogénèse vers les androgènes.

Le gène CYP17 est long de 6,6 kb et composé de 8 exons et 7 introns. Il code pour une protéine de 508 acides aminés et d'un poids moléculaire de 57 kD. La région comprise entre les aa 435 et 455 lie l'hème par l'intermédiaire d'une cystéine. La question la plus intéressante concerne la régulation différentielle des deux activités. En clinique, plusieurs situations physiologiques (l'adrénarchie et la puberté) et pathologiques (anorexie mentale, carcinome surrénalien) augmentent l'activité 17-20-lyase. Sur le plan biochimique, le cytochrome b5 semble orienter la synthèse des androgènes dans les tumeurs surrénaliennes humaines en donnant la seconde paire d'électrons à la place de la P450 réductase au P450c17⁽⁷³⁾. Par contre le cytochrome b5, dans des études de co-transfection avec la P450 réductase, semble ne pas jouer de rôle sur la modulation de l'activité 17-20-lyase. L'étude des déficits en 17 α -hydroxylase et en 17-20 lyase a permis de répondre en partie à ces questions.

B. Les déficits en 17 α -hydroxylase et en 17-20 lyase

Des tableaux cliniques bien distincts ont été décrits. Plus de 120 cas (65 cas 46,XY et 55 cas 46,XX) ont été rapportés^(91, 92). Chez l'homme, le tableau classique de PHM est toujours présent avec un degré variable de gravité. Classiquement le déficit en 17 α -hydroxylase s'accompagne d'une hypertension due à l'accumulation de précurseurs non 17 α -hydroxylés de la voie minéralocorticoïdes en particulier la DOC et la corticostérone. Le taux d'aldostérone est variable du fait de l'effet freinateur de ces deux précurseurs sur le système rénine-angiotensine. Mais comme cette hypertension apparaît progressivement, le diagnostic est tardivement évoqué lorsqu'il s'agit d'un phénotype féminin. Il se fait devant un retard pubertaire avec hypertension à rénine basse. Les taux élevés de progestérone et de prégnérolone sous ACTH et une testostérone très basse sous hCG confirment ce diagnostic.

Plusieurs cas ont été décrits comme des déficits isolés en 17-20 desmolase^(93, 96, 97) sur les critères biologiques suivants : augmentation sous stimulation par ACTH ou hCG de la 17-OH progestérone associée à des taux bas et peu stimulables de Δ 4 et DHA. Deux types ont même été décrits : le type I où les deux voies Δ 5 et Δ 4 sont atteintes, le type II où la voie Δ 5 semble normale⁽⁹⁷⁾. En fait actuellement, cette distinction n'a pas été confirmée sur le plan moléculaire.

C. Les études des mutations du gène CYP17 semblent indiquer que l'expression phénotypique est proportionnelle à la gravité de l'atteinte enzymatique

Quinze mutations différentes du gène CYP17 ont été identifiées

Tableau III Mutations du gène CYP17 responsables des déficits en 17 α -hydroxylase/17-20 lyase

Mutation	Déficit	In vitro	Nombre de chromosomes	Ethnie	Référence
Duplication de 4bp à 480	complet	0	18	Japonaise	Imai et al, 1992
Duplication de 7bp à 120	complet	0	2	Japonaise	Yanase et al, 1990
518-bp délétion +469bp-ins	complet	0	6	Italienne	Biason et al, 1991
Δ D487, Δ S488, Δ F489	complet	0	2	Thailandaise	Fardella et al, 1993
W17X	complet	0	2	Japonaise	Yanase et al, 1988
S106P	complet	0	4	Caucasienne	Lin et al, 1991
H373L	complet	0	2	Japonaise	Monno et al, 1993
R440H	complet	0	2	Allemande	Fardella et al, 1994
Y64S/I112-duplication	complet	15%/0%	2		Imai et al, 1993
Δ F53	HTA à 20 ans 46,XX	23% (17a) 5% (17-20)	2	Japonaise	Yanase et al, 1989
Q461X/R496C	17-20 lyase	Normal/10%	2	Suisse	Yanase et al, 1992
R239X/P342T	incomplet	0%/40%	2		Ahlgren et al, 1992

chez 12 cas non apparentés (23 cas au total) (tableau III). Chaque cas présente une mutation différente ce qui suggère leur survenue au hasard et l'absence de structures géniques prédisposantes comme dans le cas de la 21-hydroxylase. Trois d'entre elles créent un codon stop, trois autres sont des délétions, trois autres sont de petites duplications. Les six dernières mutations sont des mutations faux-sens dont les études in vitro ont permis une meilleure connaissance de la structure et la fonction de ce cytochrome P450c17. Il est surprenant de voir que 4 mutations se trouvent dans l'extrémité C-terminale éloignée du domaine liant l'hème par l'intermédiaire de la Cystéine 442. De plus un changement d'un à trois acides aminés semblent avoir plus de retentissements que l'amputation totale des 47 aa de l'extrémité C-terminale (mutation Q461X). Des études de modélisation à partir de structures tertiaires connues, comme celle du cytochrome bactérien P450cam, devraient montrer un changement conformationnel important de la molécule induite par ces mutations ponctuelles. D'autres mutations comme la mutation R440H située à côté de la cystéine 442 abolissent totalement l'activité 17 α -hydroxylase/17-20 lyase. En dehors du domaine du site de liaison de l'hème, les autres domaines importants d'un cytochrome P450 : domaine hydrophobe d'encrage au réticulum endoplasmique, site de transfert des électrons ou de fixation de la P450 réductase et site de liaison de substrat ne sont pas encore bien définis. Le déficit en 17-20 desmolase est bien secondaire à des mutations du gène CYP17. Aucune de ces mutations ne semble diminuer électivement l'activité 17-20 desmolase. Au contraire l'activité 17 α -hydroxylase est proportionnellement affectée (tableau III). Néanmoins une étude de mutagenèse dirigée montre que le changement d'un acide aminé (R346A) du cytochrome P450c17 du rat abolit l'activité 17-20 lyase sans modifier l'activité 17 α -hydroxylase⁽²⁶⁾. Donc des études complémentaires et la recherche de mutations dans d'autres cas de déficit en 17-20 desmolase sont nécessaires pour comprendre s'il existe un ou plusieurs sites actifs dans le cytochrome P450c17 chez l'homme. Peut-on dissocier ces deux activités ? Le déficit en 17-20

desmolase n'est-il pas simplement une forme moins grave du déficit en 17 α -hydroxylase ?

VI. Déficit en 17 β -hydroxystéroïde deshydrogénase ou 17-céto-réductase

A. L'enzyme: la 17 β -HSD

Les conversions de l'androstènedione (Δ 4) en testostérone, de la déhydroépiandrostérone en androsténediol et de l'oestrone en oestradiol dépendent de la même enzyme: la 17 β -hydroxystéroïde deshydrogénase ou 17 β -céto-réductase. La terminologie de cette enzyme varie car elle est responsable de la seule étape de la stéroïdogenèse vraiment réversible⁽⁵³⁾. Ces noms sont employés indifféremment pour les deux réactions, mais pour certains les activités 17 céto-réductase et 17 β -hydroxystéroïde deshydrogénase dépendraient d'enzymes différentes⁽⁴⁾. En fait de telles enzymes n'ont jamais été purifiées complètement et séquencées. Jusqu'à ce jour il n'était pas possible de dire si ces trois conversions dépendaient de la même enzyme ou d'une famille d'isoenzymes (pour plus de détails voir⁽¹⁷⁾). Cette enzyme n'est pas seulement localisée dans les tissus synthétisant des stéroïdes, mais aussi dans les tissus cibles des stéroïdes comme l'endomètre et le tissu mammaire où elle jouerait un rôle en modulant leur action, par exemple en modulant la concentration d'un stéroïde très actif (oestradiol) en un stéroïde peu actif biologiquement (oestrone)^(19, 51, 60, 87, 88). Il existerait une autre forme de l'enzyme très largement distribuée dans les tissus, non seulement dans le foie, la peau et les globules rouges, mais pratiquement dans tous les organes. Ceci expliquerait l'extraordinaire virilisation à la puberté des pseudo hermaphrodismes masculins par déficit en 17-céto réductase.

B. Tableau clinico-biologique

Ce déficit a été décrit chez l'homme. Comme tous les déficits

de la biosynthèse stéroïdienne, il s'agit d'une affection héréditaire à transmission autosomique récessive. 78 cas dans la littérature⁽¹⁷⁾ ont été colligés, dont un seul chez un sujet génétiquement féminin⁽⁵⁵⁾. Le déficit altère la biosynthèse testiculaire des androgènes 17 β -hydroxy, en particulier la biosynthèse de testostérone. Il s'exprime in utero. Le testicule fœtal se différencie normalement, mais n'est pas capable de produire des quantités suffisantes de testostérone pour assurer une différenciation masculine normale du bourgeon génital et du sinus uro-génital. Cliniquement, il produit une forme sévère de pseudo-hermaphroditisme masculin, c'est à dire que les sujets 46, XY atteints sont très peu virilisés à la naissance. Ils présentent soit un phénotype entièrement féminin, soit tout au plus une hypertrophie clitoridienne. C'est en 1966 que Neher et Kahnt ont les premiers observé les anomalies caractéristiques de ce déficit, mais n'en n'ont pas reconnu l'étiologie. La première description du déficit en tant que tel a été faite par l'étude in vitro⁽¹⁵⁾ et in vivo⁽⁷¹⁾ d'un patient élevé dans le sexe féminin et ayant présenté à la puberté une gynécomastie et une intense virilisation. Cette histoire naturelle - défaut extrême de virilisation in utero et intense virilisation à la puberté - est caractéristique du déficit. Ce déficit est rare, mais sa fréquence est peut-être sous-estimée car son diagnostic est plus difficile chez le nourrisson ou l'enfant. Etant donné qu'il présente les caractéristiques cliniques du syndrome d'insensibilité aux androgènes avant la puberté, si l'enfant est castré précocement le diagnostic n'est plus faisable. Chez le nourrisson et l'enfant le profil hormonal de base n'est pas caractéristique, car l'activité sécrétoire du testicule est faible. A ces périodes, une stimulation par l'hCG est indispensable au diagnostic, montrant une montée insuffisante de testostérone (T) mais une réponse excessive des taux de Δ 4-androsténone (Δ 4), et donc une élévation non ambiguë du rapport Δ 4/T. Chez l'adolescent ou l'adulte, l'histoire naturelle est en règle évocatrice et la détermination des taux hormonaux de base suffit au diagnostic. En effet, l'insuffisance de sécrétion de T entraîne une montée des taux de LH endogène par levée du rétrocontrôle négatif. Ce testicule hyperstimulé produit des quantités élevées de Δ 4 et d'œstrone. Malgré des taux de T bas ou à la limite inférieure de la normale, le rapport Δ 4/T est considérablement élevé. Une augmentation de la production de la testostérone à la puberté explique la virilisation de ces pseudo hermaphrodites masculins, élevés en fille et n'ayant pas subi de castration. Ces cas s'observent en particulier dans l'isolat des arabes de Gaza⁽¹⁶⁾. La production sub-normale de testostérone à la puberté provient à la fois d'une augmentation de la synthèse testiculaire (objectivée par le cathétérisme des veines spermatiques)⁽¹⁶⁾ et surtout d'une conversion périphérique des précurseurs en particulier de la Δ 4 (71). Ce contraste entre un défaut extrême de virilisation in utero et une intense virilisation à la puberté est maintenant expliqué par la découverte des différents gènes 17 β -HSD.

C. La longue recherche du gène responsable a permis de trouver 4 gènes 17 β -HSD et d'expliquer l'évolution clinico-biologique de ce déficit

L'enzyme placentaire a été partiellement purifiée^(6, 24, 52). La production d'anticorps a permis à deux équipes d'isoler l'ADN

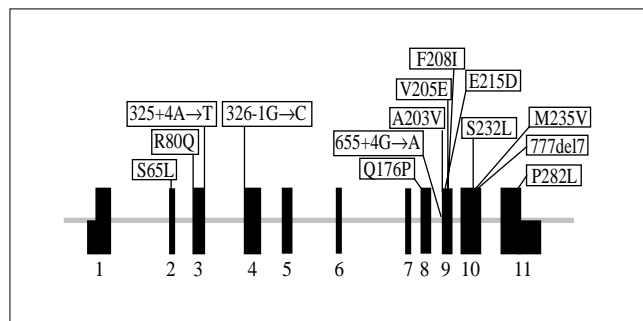


Figure 5. Mutations du gène de la 17 β -HSD de type responsables du déficit en 17 β -HSH.

complémentaire (cDNA) à partir d'une librairie de cDNA placentaire^(39, 57). Le cDNA est long de 1.3 kb, présente un cadre de lecture de 987 bp. L'ARN messager le plus abondant est de 1.3kb. Par déduction, la protéine serait de 327 acides aminés, d'un poids moléculaire de 34853 et ne contient pas de site potentiel de N glycosylation (Asn-X-Ser/Thr) confirmant qu'il ne s'agit pas d'une glycoprotéine^(6, 52). Cette enzyme placentaire est codée par un gène dupliqué appelé 17 β -HSD-1 car il a été le premier identifié⁽³⁸⁾. Ils contiennent chacun 6 exons et sont longs de 3250 bp. La duplication s'étend sur 13 kb et les deux gènes sont entourés de séquences répétitives Alu. La localisation de ce gène très près du locus prédisposant au cancer du sein, BRCA1^(3, 86) le désigna un moment comme le gène candidat. De notre côté, nous avons recherché chez nos patients atteints de déficit en 17 β -HSD une mutation sans succès⁽⁶⁵⁾.

Après un intermède de trois ans, un nouveau gène a été isolé tous les ans (tableau I). Donc rétrospectivement le gène 17 β -HSD-1 code pour une enzyme de distribution périphérique, quasi spécifique des oestrogènes (faible affinité pour les androgènes) et catalysant préférentiellement la réduction. Le gène 17 β -HSD-2 code pour une enzyme essentiellement placentaire (mais aussi périphérique) d'affinité prédominante pour les oestrogènes et dont il a été montré une préférence pour la voie oxydative (2 fois plus importante que la réduction). Ces données biochimiques couplées à la distribution tissulaire de ces enzymes ont fait pressentir que ces enzymes n'étaient pas celles impliquées dans le déficit testiculaire en 17-hydroxystéroïde réductase. Le gène 17 β -HSD-3 a été ensuite cloné codant pour une enzyme spécifiquement testiculaire, utilisant le NADPH comme cofacteur, responsable essentiellement de la conversion de la Δ 4-Androsténone en testostérone, mais capable aussi de convertir la DHA en Δ 5-Androsténone ainsi que l'estrone (E1) en estradiol (E2) avec une efficacité moindre⁽²⁰⁾. Parmi les 6 premières mutations rapportées, une mutation R80Q affectant le site de liaison du NADPH a été retrouvée à l'état homozygote chez un patient originaire de la bande de Gaza⁽²⁰⁾. Depuis, la découverte du gène, 14 mutations ont été publiées⁽¹⁾ (Fig. 5) et 7 autres mutations ont été identifiées dans notre laboratoire^(7, 8). La plupart de ces mutations sont soit des substitutions d'acides aminés, soit des mutations affectant l'épissage. La majorité des mutations faux sens est responsable d'une inactivation totale de l'enzyme 17 β -HSD-3 excepté la mutation R80Q où l'enzyme

conserve 15 à 20% d'activité résiduelle. Ceci explique probablement l'augmentation de la production de testostérone testiculaire notée à la puberté chez les patients porteurs de cette mutation⁽¹⁶⁾.

Un gène 17 β -HSD-4 a été isolé⁽³²⁾, codant pour une enzyme de structure un peu différente, présente essentiellement dans le foie et le rein et catalysant la réaction oxydative.

Un gène 17 β -HSD-5 vient d'être isolé (Van Luu-The, communication personnelle)

Donc comme dans le déficit en 3 β -HSD, le gène à expression testiculaire est atteint. L'hyperproduction de testostérone au moment de la puberté est due à la conversion périphérique des précurseurs par les autres gènes s'exprimant surtout dans les tissus périphériques.

VII. Anomalies de LH et de son récepteur: Aplasie ou hypoplasie des cellules de Leydig

Une anomalie de la biosynthèse de testostérone peut être due à des mutations de la molécule de LH et de son récepteur. La conséquence est une aplasie ou une hypoplasie des cellules de Leydig. La différenciation du testicule se fait normalement mais les cellules de Leydig ne se développent pas. La sécrétion de testostérone ne débute pas comme il est classique à la 8^{ème} semaine de la vie foetale (voir revue⁽⁷²⁾). Physiologiquement la stéroïdogénèse testiculaire est sous le contrôle hypophysaire dans la seconde partie de la vie foetale comme le montre le nombre réduit de cellules de Leydig et la faible sécrétion de testostérone chez le fœtus anencéphale⁽⁶¹⁾.

Cliniquement et biologiquement, il est normal de différencier les deux anomalies. Dans le cas d'une anomalie de la molécule de LH, très rarement évoquée⁽⁵⁶⁾, l'anomalie est moins grave car l'hCG sécrétée pendant le premier trimestre de la vie foetale permet une différenciation des cellules de Leydig qui régresse après. Souvent il n'existe qu'un micropénis⁽⁸⁹⁾. Au contraire, s'il s'agit d'une anomalie du récepteur de LH, les signes cliniques sont plus graves allant d'une absence de masculinisation des organes génitaux donnant un phénotype féminin ou un PHM. La suspicion de cette anomalie du récepteur est un peu plus fréquent mais reste très rare, environ 10 cas dans la littérature^(2,31,75, 85,42,58,79).

Biologiquement dans le plasma, la testostérone est basse et associée à une LH très élevée et une FSH normale. La réponse de la testostérone à l'hCG permet de différencier les deux anomalies: elle est nulle ou faible dans l'anomalie des récepteurs, et normale dans l'anomalie de la molécule de LH.

Récemment l'étude des gènes de LH et de son récepteur a confirmé qu'il s'agit de maladies à transmission autosomique récessive. Une mutation R54Q dans la sous-unité β de LH a été retrouvée chez un patient présentant un hypogonadisme avec aplasie des cellules de Leydig⁽⁸⁹⁾. Très récemment une mutation A593P dans le 6^{ème} domaine transmembranaire du récepteur de LH a été retrouvée chez un PHM très sévère avec aplasie des cellules de Leydig. Cette mutation A593P contrairement à celles responsables d'une puberté précoce situées dans la même région M571I, A578G, ne modifie pas la liaison de LH à son récepteur mais empêche toute transmission du message⁽²⁷⁾.

References

1. Andersson S, Geissler WM, Wu L, Davis DL, Grumbach MM, New MJ, Schwarz HP, Blethen SL, Mendonca BB, Bloise W, Witchel SF, Cutler GB, Griffin JE, Wilson JD, Russell DW. Molecular genetics and pathophysiology of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 3 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;**81**:130-136.
2. Berthezène F, Forest MG, Grimaud JA, Claustrat B, Mornex R. Leydig cell agenesis: a new cause of male pseudohermaphroditism. *N Engl J Med* 1976;**292**:969-972.
3. Bérubé D, Luu-The V, Lachance Y, Gagné R, Labrie F. Assignment of the human 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase gene (HSD3) to p13 band of chromosome 1. *Cytogenet Cell Genet* 1989;**52**:199-200.
4. Bogovich K, Payne A. Purification of rat testicular microsomal 17-ketosteroid reductase. Evidence that 17-ketosteroid reductase and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase are distinct enzymes. *J Biol Chem* 1980;**255**:5552-5559.
5. Bongiovanni AM. Acquired adrenal hyperplasia with special reference to 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *Fertil Steril* 1981;**35**:599-608.
6. Burns DJW, Engel LL, Bethune JL. Amino Acid composition and subunit structure. Human placental 17- β estradiol dehydrogenase. *Biochem* 1972;**11**:2699-2703.
7. Calemard-Michel L, Jaubert F, Lortat-Jacob S, Meduri G, Morel Y, Rappaport R. *Pitfalls in early diagnosis of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency: clinical, histological and molecular studies*. 35th annual meeting of the European Society for Pediatric Endocrinology, 1996, Montpellier, France, 15-18 sept.
8. Calemard-Michel L, Mébarki F, Bertrand A-M, Forest MG, Chatelain PC, Morel Y. *Homozygous 702InsAA and R80Q mutations of the 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (17 β -HSD) type 3 gene in two families with 17 β -HSD deficiency*. Program of the 10th International Congress of Endocrinology, 1996, San Francisco, CA, 1996.
9. Cara JF, Moshang T, Bongiovanni AM, Marx BS. Elevated 17-Hydroxyprogesterone and testosterone in a newborn with 3 β hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. *N Engl J Med* 1985;**313**:618-621.
10. Chung B, Matteson KJ, Voutilainen R, Mohandas TK, Miller WL. Human cholesterol side-chain cleavage enzyme, P450_{scc} : cDNA cloning, assignment of the gene to chromosome 15, and expression in the placenta. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;**83**:8962-8966.
11. Clark BJ, Soo SC, Caron KM, Ikeda Y, Parker KL, Stocco DM. Hormonal and developmental regulation of the steroidogenic acute regulatory protein. *Mol Endocrinol* 1995;**9**:1346-1355.
12. Clark BJ, Wells J, King SR, Stocco DM. The purification, cloning, and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 mouse leydig tumor cells - characterization of the steroidogenic acute regulatory protein (stAR). *J Biol Chem* 1994;**269**:28314-28322.
13. Cravioto MDC, Ulloa-Aguirre A, Bermudez J, Herreira J, Lisjer R, Mendez JP, Perez-Palacios G. A new inherited variant of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase-isomerase deficiency syndrome : evidence for the existence of two isoenzymes. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;**62**:360-367.
14. De Peretti E, Forest MG, Feit JP, David M. Endocrine studies in two children with male pseudohermaphroditism due to 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase defect. In: *Adrenal Androgens*, A. R. Genazzani, J. H. H. Thijssen and P. K. Siiteri ed. 1980 Raven Press. New York. pp 141-145.
15. De Peretti E, Saez J, Bertrand J. *Familial male pseudohermaphroditism (MHP) due to 17-ketosteroid reductase defect: in vitro study and testicular incubation*. Excerpta Medica International Congress Series n° 210., 205, 1970.

16. Eckstein B, Cohen S, Farkas A, Rosler A. The nature of the defect in familial male pseudohermaphroditism in arabs of Gaza. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;**68**:477-485.
17. Forest MG. Les pseudo-hermaphroditismes masculins par déficit en 17 céto-réductase. In: *Les ambiguïtés sexuelles*, J. L. Chaussain and M. Roger ed. 1988 Sepe. Paris. pp 97-131.
18. Forest MG, Catbath N, De-Peretti E, Chatelain P, Morel Y, Vieux-Rochas S, François R, Bertrand J. Les moyens de diagnostic étiologique des pseudo-hermaphroditismes masculins. In: *Livre des rapports des séminaires d'endocrinologie pédiatrique et diabétologie*, R. Rappaport ed. 1986 Paris. pp 170-176.
19. Fournier S, Brihmat F, Durand JC, Sterkers N, Martin PM, Kuttan F, Mauvais-Jarvis P. Estradiol 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase, a marker of breast cancer hormone dependency. *Cancer Res* 1985;**45**:2895-2899.
20. Geissler WM, Davis DL, Wu L, Bradshaw KD, Patel S, Mendonça BB, Elliston KO, Wilson JD, Russell DW, Andersson S. Male pseudohermaphroditism caused by mutations of testicular 17 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase 3. *Nat Genet* 1994;**7**:34-39.
21. Gendrel D, Chaussain JL, Roger M, Job JC. L'hyperplasie surrénale congénitale par bloc de la 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase. *Arch Franç Pédiatr* 1979;**36**:647-655.
22. Hauffa BP, Miller WL, Grumbach MM, Conte FA, Kaplan SL. Congenital adrenal hyperplasia due to deficiency cholesterol side chain cleavage activity (20,22 desmolase) in a patient treated for 18 years. *Clin Endocrinol* 1985;**23**:481-493.
23. Heinrich UE, Bettendorf M, Vecsei P. Male pseudohermaphroditism caused by nonsalt-losing congenital adrenal hyperplasia due to 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (3 β -HSD) deficiency. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993;**45**:83-85.
24. Jaraback J, Street MA. Studies on the soluble 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase from human placenta. Evidence for a subunit structure. *Biochemistry* 1971;**10**:3831-3834.
25. Kenny FM, Reynolds JW, Green OC. Partial 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (3 β -HSD) deficiency in a family with congenital adrenal hyperplasia: evidence for increasing 3 β -HSD activity with age. *Pediatrics* 1971;**56**:756-765.
26. Kitamura M, Buczko E, Dufau ML. Dissociation of hydroxylase and lyase activities by site-directed mutagenesis of the rat P45017alpha. *Mol Endocrinol* 1991;**5**:1373-1380.
27. Kremer H, Kraaij R, Toledo SPA, Post M, Fridman JB, Hayashida CY, Vanreen M, Milgrom E, Ropers HH, Mariman E, Themmen APN, Brunner HG. Male pseudohermaphroditism due to a homozygous missense mutation of the luteinizing hormone receptor gene. *Nat Genet* 1995;**9**:160-164.
28. Labrie F, Simard J, Luu-the V, Pelletier G, Bélanger A, Lachance Y, Zhao HF, Labrie C, Breton N, Delaunoit Y, Dumont M, Dupont E, Rhéaume E, Martel C, Couët J, Trudel C. Structure and tissue-specific expression of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/5-ene-4-ene isomerase genes in human and rat classical and peripheral steroidogenic tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992;**41**:421-435.
29. Lachance Y, Luu-The V, Labrie C, Simard J, Dumont M, De Launoit Y, Guérin S, Leblanc G, Labrie F. Characterization of human 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ 5- Δ 4 isomerase gene and its expression in mammalian cells. *J Biol Chem* 1990;**265**:20469-20475.
30. Lachance Y, Luu-The V, Verreault H, Dumont M, Rhéaume E, Leblanc G, Labrie F. Structure of the human Type-II 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ 4- Δ 5 isomerase (3 β -HSD) gene; adrenal and gonadal specificity. *DNA Cell Biol* 1991;**10**:701-711.
31. Lee PA, Rock JA, Brown TR. Leydig cell hypofunction resulting in male pseudohermaphroditism. *Fertil Steril* 1982;**37**:675-679.
32. Leenders F, Husen B, Thole HH, Adamski J. The sequence of porcine 80 kDa 17 beta-estradiol dehydrogenase reveals similarities to the short chain alcohol dehydrogenase family, to actin binding motifs and to sterol carrier protein 2. *Mol Cell Endocrinol* 1994;**104**(2):127-131.
33. Lin D, Chang YJ, Strauss-III JF, Miller WL. The human peripheral benzodiazepine receptor gene. Cloning and characterization of alternative splicing in normal tissues and in a patient with congenital lipid adrenal hyperplasia. *Genomics* 1993;**18**:643-650.
34. Lin D, Gitelman SE, Saenger P, Miller WL. Normal genes for the Cholesterol Side Chain Cleavage Enzyme, P450sc, in congenital lipid adrenal hyperplasia. *J Clin Invest* 1991;**88**:1955-1962.
35. Lin D, Sugawara T, Stauss III JF, Clark BJ, Stocco DM, Saenger P, Rogol A, Miller WL. Role of steroidogenic acute regulatory protein in adrenal and gonadal steroidogenesis. *Science* 1995;**267**:1828-1831.
36. Lorence MC, Corbin CJ, Kamimura N, Mahendroo MS, Mason JI. Structural analysis of the gene encoding human 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase Δ 5 Δ 4-isomerase. *Mol Endocrinol* 1990;**4**:1850-1855.
37. Luu-The V, Côté M, Labrie F. Purification of human placental 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ 5-isomerase. *Clin Invest Med* 1988;**11**:C.200.
38. Luu-The V, Labrie C, Simard J, Lachance Y, Zhao H, Couët J, Leblanc G, Labrie F. Structure of two in tandem human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase genes. *Mol Endocrinol* 1990;**4**:268-275.
39. Luu-The V, Labrie C, Zhao HF, Couët J, Lachance Y, Simard J, Leblanc G, Côté J, Bérubé D, Gagné R, Labrie F. Characterization of cDNAs for Human Estradiol 17 β -Dehydrogenase and Assignment of the Gene to Chromosome 17: Evidence of two mRNA species with Distinct 5'-Termini in Human placenta. *Mol Endocrinol* 1989;**3**:1301-1309.
40. Luu-The V, Lachance Y, Labrie C, Leblanc G, Thomas JL, Strickler RC, Labrie F. Full Length cDNA structure and deduced amino acid sequence of human 3 β -hydroxy-5-ene steroid dehydrogenase. *Mol Endocrinol* 1989;**3**:1310-1312.
41. Luu-The V, Takahashi M, Delaunoit Y, Dumont M, Lachance Y, Labrie F. Evidence for Distinct Dehydrogenase and Isomerase Sites Within a Single 3-beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase/5-Ene-4-Ene Isomerase Protein. *Biochemistry* 1991;**30**:8861-8865.
42. Martinez-Mora J, Sáez JM, Torán N, Isnard R, Perez-Iribarne MM, Egozcue J, Audi L. Male pseudohermaphroditism due to Leydig cell agenesis and absence of testicular LH receptors. *Clin Endocrinol* 1991;**34**:485-491.
43. Mason JI. The 3 β -Hydroxysteroid dehydrogenase gene family of enzymes. *Trends Endocrinol Metab* 1993;**4**:199-203.
44. Mébarki F, Sanchez R, Rhéaume E, Laflamme N, Simard J, Forest MG, Bey-Omar F, David M, Labrie F, Morel Y. Nonsalt-losing male pseudohermaphroditism due to the novel homozygous N100S mutation in the type II 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD3B2) gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;**80**: 2127-2134.
45. Mendonça BB, Russell AJ, Vasconcelosleite M, Arnhold IJP, Bloise W, Wajchenberg BL, Nicolau W, Sutcliffe RG, Wallace AM. Mutation of 3 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase type II associated with pseudohermaphroditism in males and premature pubarche or cryptic expression in females. *J Mol Endocrinol* 1994;**12**:119-122.
46. Morel Y, Bertrand J, Rappaport R. Corticoids: Disorders of hormonosynthesis. In: *Pediatric Endocrinology*, J. Bertrand, R. Rappaport and P. Sizonenko ed. 1993 Williams & Wilkins. Baltimore. pp 305-332.
47. Morel Y, Forest MG, Nicolino M, David M. *Diagnostic prénatal du*

- déficit en 21-hydroxylase. In: Journées Parisiennes de Pédiatrie, 1994 Flammarion. Paris. pp 71-86.
48. Morel Y, Mébarki F, Portrat S, Forest MG. Les apports médicaux de la biologie moléculaire des hyperplasies congénitales des surrénales. In: *La surrénale de l'enfant*, J.-L. Chaussain and M. Roger ed. 1994 SEPE. Paris. pp 155-182.
 49. Morel Y, Miller WL. Clinical and molecular genetics of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Adv Hum Genet* 1991;**20**:1-68.
 50. Morissette J, Rheaume E, Leblanc JF, Luuthe V, Labrie F, Simard J. Genetic linkage mapping of HSD3B1 and HSD3B2 encoding human types I and II 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ^5 - Δ^4 -isomerase close to D1S514 and the centromeric D1Z5 locus. *Cytogenet Cell Genet* 1995;**69**:59-62.
 51. Neumannova M, Kauppila A, Kivinen S, Vihko R. Short-term effects of tamoxifen, medroxyprogesterone acetate and their combination on receptor kinetics and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase in human endometrium. *Obstet Gynecol* 1985;**66**:695-700.
 52. Nicolas JC, Pons M, Descomps B, Crastes de Paulet A. Affinity chromatography: Large scale purification of the soluble estradiol-17 β dehydrogenase of human placenta. *FEBS Lett* 1972;**23**:175-179.
 53. Oshima H, Fan DF, Troen P. Studies of the human testis. V. Properties of Δ^5 -3 β and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases in biosynthesis of testosterone from dehydroepiandrosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1975; **40**:573-581.
 54. Pang S, Levine LS, Stoner E, Opitz JM, Pollack MS, Dupont B, New MI. Non salt-losing congenital adrenal hyperplasia due to 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency with normal glomerulosa function. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; **56**: 808-818.
 55. Pang S, Softness B, Sweeney W, New M. Hirsutism, polycystic ovarian disease and ovarian 17-ketosteroid reductase deficiency. *N Engl J Med* 1987;**316**:1295-1301.
 56. Park JJ, Burnett LS, Jones HWJ, Migeon CJ, Blizzard RM. A case of male pseudohermaphroditism associated with elevated LH, normal FSH and low testosterone possibly due to the secretion of an abnormal LH molecule. *Acta Endocrinol (Kbh)* 1976;**83**:173-181.
 57. Peltoketo H, Isomaa V, Mäentausta O, Vihko R. Complete amino acid sequence of human placental 17- β HSD deduced from cDNA. *FEBS Lett* 1988;**239**:73-77.
 58. Pérez-Palacios G, Scaglia HE, Kofman-Alfaro S, Saavedra S, Ochoa OD, Larraza O, Perez AE. Inherited male pseudohermaphroditism due to gonadotropin unresponsiveness. *Acta Endocrinol* 1981;**98**:148-155.
 59. Perrone L, Criscuolo T, Sinisi AA, Graziani M, Manzo T, Sicuranza R, Bellastella A, Faggiano M. Male pseudohermaphroditism due to 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency associated with atrial septal defect. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1985;**110**:532-539.
 60. Pollow K, Lübbert H, Boquoi E, Kreuz-Jeske R, Pollow B. Studies on 17- β HSD in human endometrium and endometrial carcinoma. I. subcellular distribution and variations of specific enzyme activity. *Acta Endocrinol* 1975 a;**79**:134-145.
 61. Rabinovici J, Jaffe RB. Development and regulation of growth and differential function in human and subhuman primate fetal gonads. *Endocr Rev* 1990;**11**:532-557.
 62. Rhéaume E, Sanchez R, Simard J, Chang Y.T, Wang J, Pang S, Labrie F. Molecular basis of congenital adrenal hyperplasia in two siblings with classical nonsalt-losing 3 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;**79**:1012-1018.
 63. Rhéaume E, Lachance Y, Zhao HF, Breton N, Dumont M, Delaunoy Y, Trudel C, Luuthe V, Simard J, Labrie F. Structure and expression of a new complementary DNA encoding the almost exclusive 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ^5 - Δ^4 -isomerase in human adrenals and gonads. *Mol Endocrinol* 1991;**5**:1147-1157.
 64. Rhéaume E, Sanchez R, Mébarki F, Cagnon E, Carel JC, Chaussain JL, Morel Y, Labrie F, Simard J. Identification and characterization of the G15D mutation found in a male patient with 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (3-HSD) deficiency: alteration of the putative NAD-binding domain of the type II 3 β -HSD. *Biochem* 1995;**34**: 2893-2900.
 65. Rhéaume E, Simard J, Kirkland KC, Morel Y, Labrie F. *Caractérisation des altérations génétiques associées à un déficit de l'activité 17 β -hydroxystéroïde déshydrogénase causant un pseudo-hermaphroditisme masculin.* M S, 1990, XXXII Réunion annuelle, 27-29 Sept. 1990, Suppl 2, Abstr. 29.
 66. Rhéaume E, Simard J, Morel Y, Mébarki F, Zachman M, Forest MG, New MI, Labrie F. Congenital adrenal hyperplasia due to a homozygous nonsense mutation in the type II 3 β -Hydroxysteroid dehydrogenase gene. *Nature Genet* 1992;**1**:239-245.
 67. Rosenfield RL, Barmach de Niepmiszshe A, Kenny FM, Genel M. The response to human chorionic gonadotropin (hCG) administration in boys with and without Δ^5 -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1974;**39**:370-374.
 68. Rutherford KJ, Chen S, Shively JE. Isolation and Amino Acid Sequence Analysis of Bovine Adrenal 3beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase/Steroid Isomerase. *Biochemistry* 1991;**30**:8108-8116.
 69. Saenger P, Klonari Z, Black SM, Compagnone N, Mellon SH, Fleischer A, Abrams CAL, Shackelton CHL, Miller WL. Prenatal diagnosis of congenital lipid adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;**80**: 200-205.
 70. Saenger P, Lin D, Gitelman SE, Miller W. Congenital lipid adrenal hyperplasia-genes for P450scc, side chain cleavage enzyme, are normal. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1993;**45**:87-97.
 71. Saez J, de Perreti E, Morera A, David M, Bertrand J. Familial male hermaphroditism with gynaecomastia due to a testicular 17-ketosteroid reductase defect. Studies in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; **32**:604-610.
 72. Saez JM. Leydig cells: endocrine, paracrine, and autocrine regulation. *Endocrine Rev* 1994;**15**:574-626.
 73. Sakai Y, Yanase T, Hara T, Takayanagi R, Haji M, Nawata H. Mechanism of abnormal production of adrenal androgens in patients with adrenocortical adenomas and carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;**78**:36-40.
 74. Sakai Y, Yanase T, Okabe Y, Hara T, Waterman MR, Takayanagi R, Haji M, Nawata H. No mutation in cytochrome p450 side chain cleavage in a patient with congenital lipid adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;**79**:1198-1201.
 75. Saldanha PH, Armhold IJP, Mendoça BB, Bloise W, Toledo SPA. A clinico-genetic investigation of Leydig cell hypoplasia. *Am J Med Gen* 1987;**26**:337-344.
 76. Sanchez R, Mébarki F, Rheaume E, Laflamme N, Forest MG, Bey-Omar F, David M, Morel Y, Labrie F, Simard J. Functional characterization of the novel L108W and P186L mutations detected in the type II 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase gene of a male pseudohermaphrodite with congenital adrenal hyperplasia. *Hum Mol Genet* 1994;**3**:1639-1645.
 77. Sanchez R, Rheaume E, Laflamme N, Rosenfield RL, Labrie F, Simard J. Detection and functional characterization of the novel missense mutation Y254D in type II 3 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase (3 beta hsd) gene of a female patient with Nonsalt-Losing 3 beta hsd deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;**78**(3):561-567.

78. Schneider G, Genel M, Bongiovanni AM, Goldmann AS, Rosenfield RL. Persistent testicular $\Delta 5$ isomerase - 3 β - hydroxysteroid dehydrogenase ($\Delta 5$ - 3 β - HSD) deficiency in $\Delta 5$ - 3 β - HSD the form of congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Invest* 1975;**55**:681-690.
79. Schwartz M, Imperato-McGinley J, Peterson RE, Cooper G, Morris PL, MacGillivray M, Hensle T. Male pseudohermaphroditism secondary to an abnormality in Leydig cell differentiation. *J Clin Endocrinol Metab* 1981;**52**:123-127.
80. Simard J, Rhéaume E, Sanchez R, Laflamme N, de Launois Y, Luu-The V, van Seters AP, Gordon RD, Bettendorf M, Heirich U, Moshang T, New MI, Labrie F. Molecular basis of congenital adrenal hyperplasia due to 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. *Mol Endocrinol* 1993;**7**:71-728.
81. Sparkes RS, Klisak I, Miller WL. Regional mapping of genes encoding human steroidogenic enzymes - P450scc to 15q23-q24, Adrenodoxin to 11q22 - Adrenodoxin Reductase to 17q24-q25 - and P450c17 to 10q24-q25. *DNA Cell Biol* 1991;**10**:359-365.
82. Sugawara T, Lin D, Holt JA, Martin KO, Javitt NB, Miller WL, Strauss JF. Structure of the human steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene: StAR stimulates mitochondrial cholesterol 27-hydroxylase activity. *Biochemistry* 1995;**34**:12506-12512.
83. Tee MK, Lin D, Sugawara T, Holt JA, Guiguen Y, Buckingham B, Strauss JF, Miller WL. T->A transversion 11 bp from a splice acceptor site in the human gene for steroidogenic acute regulatory protein causes congenital lipoid adrenal hyperplasia. *Hum Mol Genet* 1995; **4**:2299-2305.
84. Thomas JL, Nash WE, Myers RP, Crankshaw MW, Strickler RC. Affinity radiolabeling identifies peptides and amino acids associated with substrate binding in human placental 3 β -hydroxy- $\Delta 5$ -steroid dehydrogenase. *J Biol Chem* 1993;**268**:18507-18512.
85. Toledo SPA. Leydig cell hypoplasia leading to two different phenotypes - male pseudohermaphroditism and primary hypogonadism not associated with this. *Clin Endocrinol* 1992;**36**:521-522.
86. Tremblay Y, Ringler GE, Morel Y, Mohandas TK, Labrie F, Strauss III JF, Miller WL. Regulation of the gene for estrogenic 17-Ketosteroid reductase lying on chromosome 17cen-q25. *J Bio Chem* 1989;**264**: 20458-20462.
87. Tseng L, Gurbide E. Induction of human endometrial estradiol dehydrogenase by progestins. *Endocrinology* 1975;**97**:825-833.
88. Tseng L, Gusberg SB, Gurbide E. Estradiol receptor and 17 beta-dehydrogenase in normal and abnormal human endometrium. *Ann NY Acad Sci* 1977;**286**:190-198.
89. Weiss J, Axelrod L, Whitcomb RW, Harris PE, Crowley WF, Jameson JL. Hypogonadism caused by a single amino acid substitution in the β -subunit of luteinizing hormone. *N Engl J Med* 1992;**326**:179-183.
90. Wolthers BG, Volmer M, Van Seters AP. Detection of 3 β -hydroxysteroid-dehydrogenase deficiency by urinary steroid profiling: solvolysis of urinary samples should be a necessary prerequisite. *Clin Chim Acta* 1985;**145**:319-323.
91. Yanase T, Imai T, Simpson ER, Waterman MR. Molecular basis of 17 α -Hydroxylase/17,20-Lyase deficiency. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992;**43**:973-979.
92. Yanase T, Simpson ER, Waterman MR. 17 α -hydroxylase/17,20-lyase deficiency - From clinical investigation to molecular definition. *Endocr Rev* 1991;**12**:91-108.
93. Yanase T, Waterman MR, Zachmann M, Winter JSD, Simpson ER, Kagimoto M. Molecular basis of apparent isolated 17,20-lyase deficiency: compound heterozygous mutations in the C-terminal region (Arg(496) \rightarrow Stop) actually cause combined 17 α -hydroxylase/17,20-lyase. *Deficiency* 1992;**1139**:275-279.
94. Yang XM, Iwamoto K, Wang M, Artwohl J, Mason JJ, Pang S. Inherited congenital adrenal hyperplasia in the rabbit is caused by a deletion in the gene encoding cytochrome P450 cholesterol side-chain cleavage enzyme. *Endocrinology* 1993;**132**:1977-1982.
95. Zachmann M, Forest MG, de Peretti E. 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency : followup studies in a girl with pubertal bone age. *Horm Res* 1979;**11**:292-302.
96. Zachmann M, Prader A. 17,20-desmolase deficiency. In: *Adrenal diseases in childhood*, M. I. New and L. S. Levine ed. 1984 Karger. Basel. pp 95-109.
97. Zachmann M, Werder EA, Prader A. Two types of male pseudohermaphroditism due to 17,20-desmolase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; **55**:487-490.

Androgènes et Différenciation Sexuelle

S. Lumbroso, J.M. Lobaccaro, C. Sultan

Introduction

Le dimorphisme sexuel observé à la naissance est le résultat d'une série d'évènements complexes, moléculaires et morphologiques, qui doivent intervenir à des périodes critiques précises de la vie foetale, et selon un enchaînement rigoureux. Ces évènements constituent la différenciation sexuelle et sont classiquement décrits selon trois étapes qui conduisent à l'établissement du sexe génétique, du sexe gonadique et du sexe phénotypique.

1. Le sexe génétique est déterminé à la fécondation par la nature du chromosome sexuel présent dans le spermatozoïde. Sa fusion avec l'ovocyte, porteur d'un X, conduit à la formation d'un oeuf de sexe génétique féminin, 46,XX ou masculin, 46,XY.
2. La différenciation de la gonade, ou détermination sexuelle correspond, chez l'homme, au développement de la gonade primitive bipotentielle en testicule sous le contrôle de facteurs génétiques, en particulier le gène SRY. L'absence de SRY chez la femme est responsable d'une différenciation de la gonade dans le sens ovarien.
3. La différenciation des tractus génitaux établit le sexe phénotypique. Il s'agit de la différenciation sexuelle proprement dite et correspond à la mise en place, au développement et au maintien des organes génitaux internes et externes.

L'orientation dans le sens masculin de l'appareil génital est sous la dépendance de facteurs hormonaux sécrétés par le testicule foetal: les androgènes et l'hormone antimüllérienne.

Nous développerons dans ce chapitre, le rôle des androgènes dans la différenciation sexuelle masculine.

1. La différenciation de l'appareil génital masculin

Le stade indifférencié

Jusqu'à la 6ème semaine de vie intra-utérine les structures sexuelles sont identiques chez les foetus males et femelles et comportent trois éléments: les gonades, le tractus génital interne, le sinus urogénital.

La gonade indifférenciée (ou gonada primordia) est bipotentielle, pouvant mener soit au testicule soit à l'ovaire. Localisée à la face ventrale du mésonéphros, elle résulte d'un épaississement de

l'épithélium coelomique et de la condensation du mésenchyme adjacent.

Le tractus génital interne se compose de 2 paires de canaux: les canaux de Wolff, à l'origine du tractus génital interne masculin et les canaux de Müller, à l'origine des structures féminines. Ils proviennent tous deux du mésonéphros et débouchent dans le sinus uro-génital.

L'appareil génital externe reste au stade indifférencié, identique dans les 2 sexes, jusqu'à la 9ème semaine. Le *sinus urogénital* est le confluent des voies génitales et urinaires. Il est à l'origine des urètres, de la prostate chez l'homme, du tiers supérieur du vagin chez la femme. Les *organes génitaux externes* comportent le tubercule génital, le repli urétral, le renflement génital et la gouttière urétrale.

La différenciation testiculaire

La mise en place du testicule foetal débute, vers la 6ème semaine de gestation avec la colonisation de la gonade indifférenciée par les cellules germinales primitives qui migrent depuis le sac vitellin, le long du mésentère dorsal. Elle se caractérise ensuite par la différenciation des cellules de Sertoli et des cellules de Leydig.

Les cellules de Sertoli sont les premières à se différencier, dès la 6ème semaine et à se multiplier. Elles vont entourer les cellules germinales pour former les cordons séminifères, premières structures différenciées reconnaissables dès la 7ème semaine⁽³⁾ et qui constituent les futurs tubes séminifères. Les cellules de Sertoli manifestent très tôt une importante activité de synthèse de glycoprotéines, en particulier l'hormone antimüllérienne.

Les cellules de Leydig se développent à partir du tissu interstitiel entre la 8ème et la 9ème semaine, c'est à dire après la différenciation des cellules de Sertoli, le développement des tubes séminifères et la synthèse de l'HAM⁽¹⁶⁾. Elles contiennent de grandes quantités de reticulum endoplasmique lisse, témoignant d'un potentiel stéroïdogène. Les cellules de Leydig sont fonctionnelles avant les premiers signes histologiques de différenciation puisque la T est détectée dans le testicule foetal humain dès la 6-7ème semaine de gestation. Le nombre de cellules de Leydig augmente progressivement et ces cellules remplissent, entre la 14ème et la 18ème semaine, l'espace intertubulaire et occupent plus de la moitié du volume testiculaire. Les cellules de Leydig foetales vont ensuite involuer pour disparaître quelques semaines après la naissance. Elles seront remplacées par une «deuxième vague» de cellules de Leydig dites adultes.

Unité de Biochimie Endocrinienne du Développement et de la Reproduction. Hôpital Lapeyronie Unité d'Endocrinologie Pédiatrique, Service de Pédiatrie I, Hôpital A. de Villeneuve, INSERM Unité 439, Montpellier.

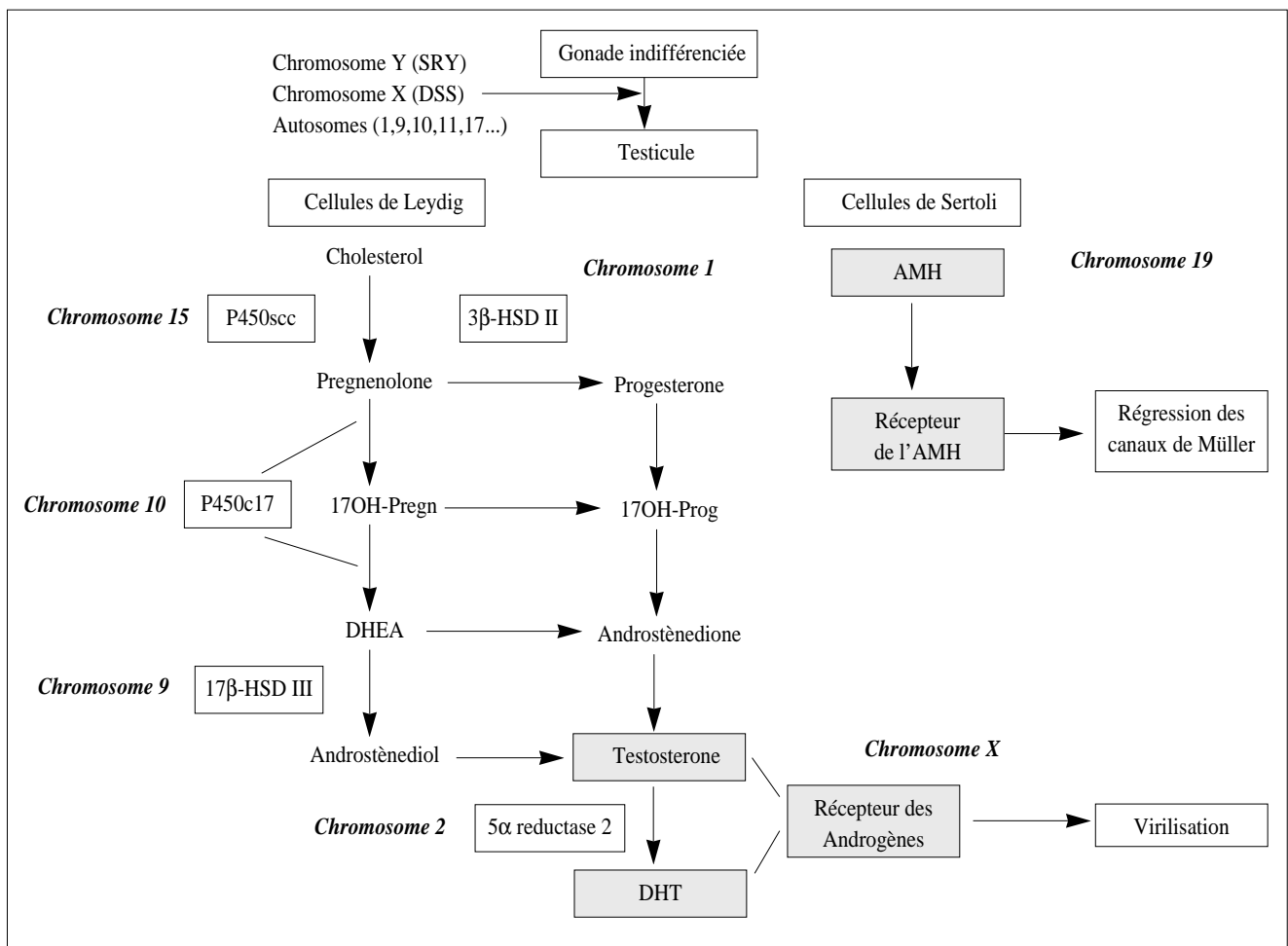


Figure 1. Représentation générale des différents facteurs génétiques et hormonaux intervenant dans la différenciation sexuelle masculine et localisation chromosomique de leurs gènes.

La différenciation des organes génitaux

L'organisation du tractus génital interne relève, chez le fœtus masculin, de l'action respective de l'hormone anti-mullerienne (HAM) et de la T: la régression des canaux de Müller est très précoce (8ème semaine) et limitée dans le temps: elle est achevée à la 9ème semaine. L'action de la T sur la différenciation des canaux de Wolff se limite également à une période critique au-delà de laquelle les canaux de Wolff persistent même en l'absence de T: ils forment les épидидymes, les déférents et les vésicules séminales. En l'absence de T et d'HAM, les canaux de Wolff dégénèrent alors que les canaux de Müller persistent chez le fœtus féminin: ils sont à l'origine des trompes, de l'utérus, du tiers supérieur du vagin.

La différenciation du sinus uro-génital (SUG) et des organes génitaux externes (OGE) dépend, comme celle du tractus génital interne, de la sécrétion d'androgènes foetaux. La virilisation des OGE débute à la 10ème semaine: la fusion des replis génitaux forme la verge, la fusion des bourrelets génitaux constitue le scrotum, et enfin la fermeture progressive du raphé médian pénien permet

l'abouchement de l'urètre à l'extrémité du pénis. L'organogénèse du SUG et des OGE est achevée à la 14ème semaine.

2. Rôle des androgènes dans la différenciation sexuelle masculine

Les premières expériences suggérant l'importance du testicule dans la différenciation sexuelle remontent au siècle dernier⁽⁸⁾. Mais ce sont les travaux de Jost⁽⁹⁻¹¹⁾, qui ont formellement établi le rôle endocrine double joué par le testicule foetal. Ainsi, la castration de fœtus de lapin mâles ou femelles avant la différenciation des tractus génitaux conduit à une différenciation sexuelle féminine. L'apport d'androgènes peut suppléer l'influence masculinisante du testicule mais ne permet pas la régression des canaux de Müller d'où la notion d'une 2ème hormone testiculaire responsable de cette régression. L'observation des cas pathologiques humains de dysgénésie gonadiques XY, qui conduisent à un phénotype féminin, confirmeront ces données. L'action des androgènes sur la masculinisation des

organes génitaux trouve un support pathologique dans les pseudohermaphrodismes masculins dus à un défaut de synthèse de T, à un déficit en 5 α -réductase ou à une insensibilité aux androgènes^(6, 21, 26).

A l'inverse, une augmentation anormale de synthèse de T, par bloc enzymatique (en particulier en 21 hydroxylase) ou par hypersécrétion tumorale peut être responsable, chez la fille, d'un excès de virilisation, c'est à dire d'un pseudohermaphrodisme féminin.

3. Biosynthèse, production des androgènes par les cellules de Leydig foetales et régulation

Les étapes enzymatiques de la stéroïdogénèse

La biosynthèse des androgènes nécessite l'intervention d'un certain nombre d'enzymes qui agissent en cascade à partir du précurseur commun à tous les stéroïdes, le cholestérol. La biodisponibilité du cholestérol et plus particulièrement son transport vers la membrane mitochondriale, où a lieu la première réaction enzymatique de la voie, est l'étape clé, limitante, de cette synthèse. Plusieurs protéines interviennent dans ce transfert du cholestérol⁽¹⁸⁾. Parmi celles-ci le facteur StAR (pour Steroidogenic Acute Regulatory protein)⁽²⁾ tient une place essentielle en favorisant le transport du cholestérol de la face externe à la face interne de la mitochondrie. L'identification de mutation de StAR responsable d'hyperplasie congénitale lipéidique des surrénales avec absence totale de synthèse des hormones stéroïdes⁽¹⁴⁾ confirme son rôle primordial dans la stéroïdogénèse.

Cinq étapes sont nécessaires à la transformation du cholestérol en T. La première étape est la coupure de la chaîne latérale du cholestérol qui conduit à la prégnénolone, stéroïde à 21 carbones. Cette activité enzymatique est portée par le cytochrome P450_{sc} (pour *side chain cleavage*) mitochondrial. La prégnénolone est ensuite transportée dans le reticulum endoplasmique. Un autre cytochrome, le P450_{c17}, permet le passage aux stéroïdes à 19 carbones, les précurseurs androgènes (déhydroépiandrostérone, DHEA, et androstènedione, $\Delta 4A$), grâce aux deux activités enzymatiques qu'il porte: activité 17 α hydroxylase et 17-20 lyase. La transformation de DHEA en androstènediol et de $\Delta 4A$ en T est réalisée par la 17 β hydroxystéroïde déshydrogénase (17 β HSD) qui permet l'hydroxylation du carbone 17. La 3 β hydroxystéroïde déshydrogénase (3 β HSD) modifie la position de la double liaison C5-C6 (stéroïdes dits $\Delta 5$) en C4-C5 (stéroïdes $\Delta 4$) et la nature de la fonction portée par le carbone 3 (fonction alcool/fonction cétone). Il existe ainsi deux principales voies de synthèse des androgènes: la voie $\Delta 4$ (à partir de la 17OH progestérone) conduit à la T et la voie $\Delta 5$ (à partir de la 17OH prégnénolone) qui aboutit à l'androstènediol, puis à la T via la 3 β HSD. Dans le testicule, la voie principale est la voie $\Delta 5$.

Les gènes des enzymes responsables de la stéroïdogénèse sont clonés, séquencés et leur situation chromosomique connue⁽¹⁵⁾ (Fig. 1). Alors que les cytochromes P450 sont des structures uniques codées par un seul gène, il existe plusieurs isoenzymes de la 3 β HSD et de la 17 β HSD codées par plusieurs gènes. Dans le testicule

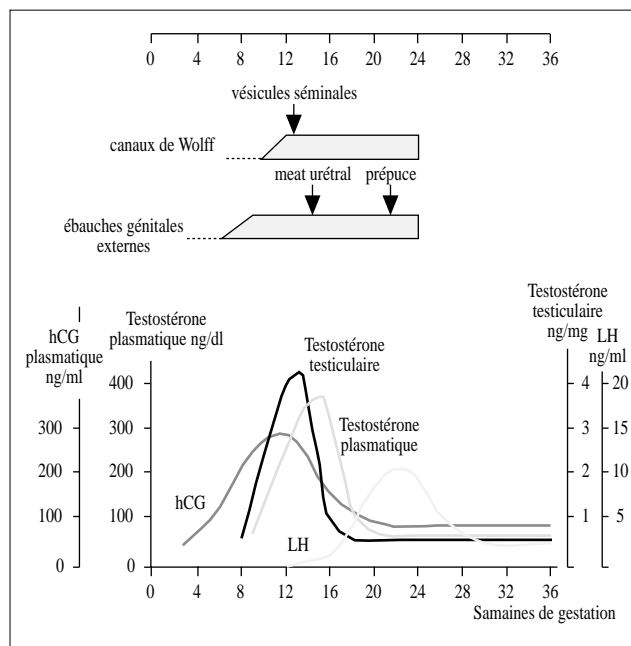


Figure 2. Schéma des interrelations au cours de la vie foetale entre les taux d'androgènes testiculaires et sériques, les taux d'hCG et de LH et le développement des organes génitaux internes et externes masculins (d'après⁽¹⁶⁾).

ce sont les isoenzymes 3 β HSD de type II⁽¹⁷⁾ et 17 β HSD de type III qui sont exprimées⁽⁴⁾.

Production des androgènes pendant la vie foetale

Le profil de synthèse au cours de la vie foetale de la T⁽²⁰⁾, comme le profil d'expression des gènes de la stéroïdogénèse^(5, 24) coïncident avec la différenciation et la croissance des cellules productrices, les cellules de Leydig d'une part, et avec le développement des organes génitaux masculins. La T est présente dans les testicules dès la 7^{ème} semaine avec un pic de concentration à 12 semaines puis une diminution progressive, parallèle à l'involution des cellules de Leydig. Les niveaux de T sérique suivent les taux tissulaires avec un pic de concentration un peu plus tardif vers 14-16 semaines, puis une diminution après la 16-18^{ème} semaine, pour atteindre un taux minimum au 3^{ème} trimestre (Fig. 2).

Le contrôle des fonctions leydigiennes *in utero*

Chez l'homme, comme chez les mammifères, ce n'est pas la LH hypophysaire foetale qui contrôle la différenciation des cellules de Leydig et la synthèse des androgènes chez le foetus mais l'hCG placentaire. En effet, le développement des cellules de Leydig et la synthèse des androgènes précèdent de 3 à 4 semaines la sécrétion de LH par l'hypophyse qui débute à la 11^{ème} semaine⁽¹²⁾. A l'inverse, l'hCG placentaire est sécrétée dès le 10^{ème} jour⁽²³⁾, avec un pic sérique vers la 8-10^{ème} semaine suivi d'une baisse progressive des concentrations jusqu'à un plateau minimum à partir de la 18-20^{ème} semaine. Il existe ainsi une étroite corrélation dans le temps entre

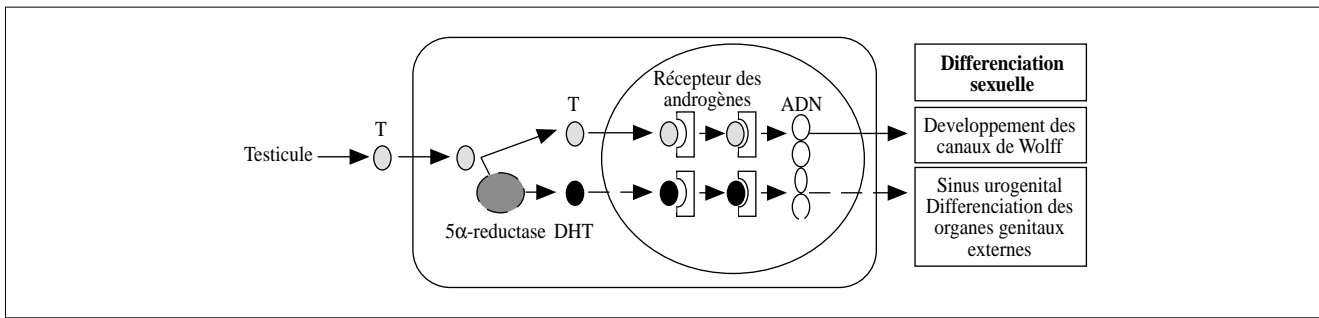


Figure 3. Action virilisante des androgènes pendant la vie foetal.

les taux d'hCG et de T (Fig. 2). LH et hCG agissent toutes deux par l'intermédiaire d'un même récepteur membranaire, le récepteur de LH/hCG. Elles exercent des fonctions identiques sur les cellules de Leydig et la stéroïdogénèse. Le contrôle de l'hCG sur le testicule foetal s'exerce pendant le début de la gestation, donc pendant la période critique de la différenciation sexuelle et s'arrête vers la 15ème semaine la LH prenant le relais pendant la deuxième moitié de la grossesse. Le rôle crucial d'hCG/LH sur la différenciation et le maintien des fonctions des cellules de Leydig repose sur l'analyse de données expérimentales et de cas pathologiques. L'absence de récepteur de LH/hCG est responsable d'une agénésie des cellules de Leydig avec pseudohermaphrodisme masculin⁽¹⁾. Le même type d'affection peut résulter d'une mutation du récepteur de LH⁽¹³⁾ comme d'une mutation du gène de la sous-unité β de LH⁽²⁵⁾. De plus de nombreuses études *in vivo* et *in vitro*⁽¹⁸⁾ ont montré que hCG/LH stimule l'activité et l'expression des enzymes de la stéroïdogénèse.

Le facteur SF-1

Tous les cytochromes P450 intervenant dans la stéroïdogénèse possèdent, dans les régions promotrices de leurs gènes, une séquence consensus de liaison d'un facteur appelé SF-1 (Steroidogenic Factor 1) qui présente des homologie de structure avec les récepteurs nucléaires avec, en particulier, une structure en doigt de zinc caractéristique d'un facteur de transcription. De plus, SF-1 est exprimé dans tous les tissus stéroïdogènes. Ces éléments démontrent le rôle important joué par SF-1 dans l'expression des cytochrome P450 et donc dans la stéroïdogénèse. Un certain nombre de travaux⁽¹⁹⁾, révèlent que SF-1 est bien plus qu'un facteur de stimulation de la stéroïdogénèse, mais qu'il intervient également dans l'expression de l'HAM, et qu'il participe au développement des surrénales et des gonades, à l'expression des gonadotrophines et même à la formation de certains noyaux hypothalamiques⁽⁷⁾.

4. Mécanisme d'action des androgènes

Deux notions sont essentielles pour appréhender, d'un point de vue physiologique, le mécanisme de transmission du message androgénique dans une cellule cible et par la suite aborder la pathologie des androgènes. Il s'agit, d'une part, de la conversion dans certains tissus de la T en DHT sous l'effet de la 5α-réductase, et d'autre part,

de la mise en jeu, pour la T comme pour la DHT d'un récepteur hormonal spécifique, le récepteur des androgènes (RA), médiateur obligatoire de l'action des androgènes (Fig. 3).

La conversion testostérone/dihydrotestostérone: les 5α-réductases

La 5α-réductase (5αR) est une enzyme membranaire microsomale, NADPH-dépendante, qui catalyse la transformation de T en DHT. Un certain nombre de données cliniques, biochimiques et génétiques (en particulier l'étude des déficits en 5αR) ont aboutit, au début des années 90, à l'identification de deux gènes différents codant pour deux enzymes différentes, la 5αR de type 1 et la 5αR de type 2. Ces deux protéines, bien qu'exerçant la même activité enzymatique sur les mêmes substrats, ne présentent qu'environ 50% d'homologie de composition en acides aminés. Elles se distinguent, sur le plan fonctionnel par 3 points essentiels

- leur pH optimum d'activité, basique pour la 1, acide pour la 2
- la sensibilité à l'action inhibitrice du finastéride, plus importante pour la 2
- leur distribution tissulaire et l'ontogénèse de leur expression. La 5αR de type 1 est essentiellement exprimée dans le foie, dans la peau *non génitale* et dans le follicule pilo-sébacée, alors que la 5αR de type 2 est retrouvée au niveau des organes génitaux externes masculins et dans la peau *génitale*. Le rôle de la 5αR de type 2 dans le développement des organes génitaux externes est de plus attesté par l'identification de mutations du gène de type 2 dans les pseudohermaphrodismes masculins par déficit en 5α réductase⁽²⁶⁾.

Le récepteur des androgènes

T et DHT agissent par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique commun, le récepteur des androgènes (RA). Le RA appartient à la famille des récepteurs nucléaires (récepteurs des hormones stéroïdes et thyroïdiennes, de la vitamine D, de l'acide rétinolique...) et son gène est situé sur le chromosome X. Il partage avec ces récepteurs une structure générale commune en trois domaines fonctionnels: un domaine NH₂-terminal, qui participe principalement à la régulation de l'expression des gènes androgéno-régulés; un domaine central de liaison à l'ADN, et un domaine COOH-terminal, site de la liaison de l'hormone.

On peut schématiquement décomposer le mécanisme d'action des androgènes en 4 étapes: liaison de l'androgène au récepteur, migration nucléaire du récepteur, fixation à l'ADN, transcription des gènes cibles.

1. *La Fixation de l'androgène* sur le récepteur s'effectue au niveau du domaine C-terminal. L'affinité est 10 fois plus grande pour la DHT que pour la T. La fixation hormonale entraîne une série de modifications du récepteur dont la libération des protéines HSP (protéines de choc thermiques) qui masquent certains sites fonctionnels du récepteur en l'absence d'hormone et le maintiennent sous forme inactive en position péricytoplasmique.

2. Les mécanismes de *migration nucléaire du récepteur des androgènes* sont inconnus. Le déplacement vers le noyau serait réalisé en association avec les protéines HSP le long du cytosquelette au travers des pores nucléaires. On sait que la localisation nucléaire du récepteur activé est due à un signal de transfert nucléaire situé dans la région dite charnière (entre le domaine de liaison à l'ADN et le domaine de liaison de l'hormone)

La fixation sur l'ADN n'est possible que si le RA est sous forme dimérique. Le domaine central, qui présente une structure en deux doigts de zinc, se lie à l'ADN au niveau de séquences d'ADN spécifiques, les éléments de réponses au androgènes (ARE), habituellement situés en amont des gènes androgéno-régulés au niveau du promoteur.

Transcription des gènes androgénorégulés. La fixation du récepteur sur l'ADN entraîne, par une série de mécanismes complexes faisant intervenir plusieurs protéines accessoires, l'expression de l'ARNm du gène cible puis la synthèse de protéines qui vont agir sur le métabolisme cellulaire pour entraîner la réponse androgénique.

La place essentielle tenue par le RA dans la masculinisation des organes génitaux est attestée par son profil d'expression. En effet le RA est exprimé au niveau des dérivés Wolffiens et des ébauches génitales externes dès la 7-8ème semaine de vie, donc de façon parallèle au début de la sécrétion de T, et avant la différenciation des structures génitales. De plus, les insensibilités aux androgènes, formes les plus fréquentes de pseudohermaphroditismes masculins représentent un support pathologique à ces notions, puisque ces affections sont dues à des mutations du gène du récepteur des androgènes⁽²²⁾.

Conclusion

Les progrès importants accomplis ces dernières années dans les domaines de la biochimie (amélioration des dosages hormonaux, détermination de la concentration en sites-récepteurs), de l'endocrinologie cellulaire et moléculaire (mécanisme d'action des hormones) ainsi que de la génétique (identification, isolation et clonage des gènes impliqués dans la détermination et la différenciation sexuelle) ont considérablement amélioré l'analyse des facteurs de la détermination et de la différenciation sexuelle. L'identification récente de nouveaux facteurs impliqués dans ce processus, rend compte cependant de sa complexité et de l'importance des travaux à accomplir pour appréhender complètement ses mécanismes.

Bibliographie

- Berthezene F, Forest MG, Grimaud JA, Claustrat B, and Mornex R. Leydig cell agenesis. *New England Journal of Medicine* 1976;**295**: 969-972.
- Clark BJ, Wells J, King SR and Stocco DM. The purification, cloning, and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 mouse leydig tumor cells. *Journal of Biological Chemistry* 1994;**269**:28314-28322.
- Francavilla S, Cordeschi G, Properzi G, Concordia N, Cappa F and Pozzi V. Ultrastructure of fetal human gonad before sexual differentiation and during early testicular and ovarian development. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology* 1990;**22**:389-400.
- Geissler WM, Daphne LD, Wu L et al. Male pseudohermaphroditism caused by mutations of testicular 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 3. *Nature Genetics* 1994;**7**:34-39.
- Greco TL and Payne AH. Ontogeny of expression of the genes for steroidogenic enzymes P450 sidechain cleavage, 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase, P450 17 alpha-hydroxylase/C17-20 lyase, and P450 aromatase in fetal mouse gonads. *Endocrinology* 1994;**135**:262-8.
- Griffin JE. Androgen resistance-the clinical and molecular spectrum. *New England Journal of Medicine* 1992;**326**:611-618.
- Ikeda Y, Luo XR, Abbud R, Nilson JH and Parker KL. The nuclear receptor steroidogenic factor 1 is essential for the formation of the ventromedial hypothalamic nucleus. *Mol Endocrinol* 1995;**9**:478-486.
- Jégou B. Tout ce que vous avez toujours voulu savoir sur le testicule sans jamais oser le demander. *Médecine/Sciences* 1995;**11**:517-518.
- Jost A. A new look at the mechanisms controlling sex differentiation in mammals. *Johns Hopkins Med J* 1972;**130**:38-53.
- Jost A. Problems of fetal endocrinology: the gonadal and the hypophyseal hormones. *Recent Progress in Hormone Research* 1953; **8**: 379-418.
- Jost A. Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. III. Rôle des gonades foetales dans la différenciation sexuelle somatique. *Archives d'Anatomie, Microscopie et Morphologie Expérimentales* 1947;**36**: 271-318.
- Kaplan SL, Grumbach MM and Aubert ML. The ontogenesis of pituitary hormones and hypothalamic factors in the human testis. Maturation of central nervous system. Regulation of anterior pituitary function. *Recent Progress in Hormone Research* 1976;**32**:161-243.
- Kremer H, Kraaij R, Toledo SPA et al. Male pseudohermaphroditism due to a homozygous missense mutation of the luteinizing hormone receptor gene. *Nature Genetics* 1995;**9**:160-164.
- Lin D, Sugawara T, Staruss III JF et al. Role of Steroidogenic acute regulatory protein in adrenal and gonadal steroidogenesis. *Nature* 1995; **267**:1828-1831.
- Miller WL. Molecular biology of steroid hormone synthesis. *Endocrine Reviews* 1988;**9**:295-318.
- Reyes FI, Winter JSD and Faiman C. *Endocrinology of the fetal testis*. In: Burger H and de Kretser D. New York: Raven Press, 1989: 119-142.
- Rhéaume E, Simard J, Y M et al. Congenital adrenal hyperplasia due to point mutation in the type II 3 β -hydroxysteroid deshydrogenase gene. *Nature Genetics* 1992;**1**:239-245.
- Saez JM. Leydig cells: endocrine, paracrine, and autocrine regulation. *Endocrine Reviews* 1994;**15**:574-624.
- Saez JM and Durand P. Rôle du facteur SF-1 dans le développement des gonades et des surrénales, et dans la stéroïdogénèse. *Médecine/Sciences* 1994;**10**:1315-1317.

20. Siiteri PK and Wilson JD. Testosterone formation and metabolism during male sexual differentiation in the human embryo. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1974;**38**:113-125.
21. Sultan C, Lobaccaro JM, Lumbroso S et al. *Molecular aspects of sex differentiation -applications in pathological conditions-*. In: Bergada C and Moguilevsky JA. Rome: Ares-Serono Symposia Publications, 1995: 21-35.
22. Sultan C, Lumbroso S, Poujol N, Belon C, Boudon C and Lobaccaro JM. Mutations of the androgen receptor gene in androgen insensitivity syndrome. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 1993;**46**:519-530.
23. Varma K, Larraga L and Selenkow HA. Radioimmunoassay of serum human chorionic gonadotropin during normal pregnancy. *Obstetrics and Gynecology* 1971;**37**:10-18.
24. Voutilainen R and Miller WL. Developmental expression of genes for the steroidogenic enzymes P450 scc (22,22 desmolase), and P450c17 (17 α -hydroxylase/17-20-lyase), and P450 c 21 (21 hydroxylase) in the human testis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1986; **63**:1145-1 150.
25. Weiss J, Axelrod L, Whitcomb RW, Harris PE, Crowley WF and Jameson JL. Hypogonadism caused by a single amino acid substitution in the β subunit of luteinizing hormone. *New England Journal of Medicine* 1992;**326**:179-183.
26. Wilson JD, Griffin JE and Russell DW. Steroid 5 α -reductase 2 deficiency. *Endocrine Reviews* 1993;**14**:577-593.

Anomalies de la Différenciation Sexuelle Masculine: Déficit en 5 α réductase et Insensibilités aux Androgènes

S. Lumbroso¹, J.M. Lobaccaro¹, C. Sultan^{1,2}

Introduction

La différenciation sexuelle masculine est un processus complexe qui comporte schématiquement deux étapes:

- La détermination du sexe, c'est à dire, l'orientation testiculaire de la gonade indifférenciée.
- La différenciation sexuelle, qui correspond à la virilisation des organes génitaux internes, du sinus urogénital et des organes génitaux externes⁽²¹⁾. Elle met en jeu plusieurs gènes dont les anomalies peuvent conduire à diverses formes cliniques de pseudohermaphrodisme masculin (PHM). Celles-ci ont en commun l'absence de correspondance entre les sexes génétique, gonadique et phénotypique. On distingue deux grands groupes de PHM⁽³²⁾:
 - les anomalies de la différenciation testiculaire, regroupées sous le terme de dysgénésies gonadiques;
 - les anomalies de la différenciation sexuelle, c'est à dire, de la différenciation des organes génitaux (Fig. 1).

Les anomalies de la différenciation sexuelle correspondent à une virilisation insuffisante ou absente conduisant à une ambiguïté génitale ou à un phénotype féminin chez des individus de caryotype 46,XY dont le tissu testiculaire est présent et normalement différencié. Chacune des étapes qui fait suite à la détermination testiculaire et qui permettent l'établissement du phénotype masculin peut être concernée: régression des dérivés müllériens sous l'action de l'HAM, synthèse de la testostérone, conversion de la testostérone en DHT sous l'action de la 5 α -réductase, action des androgènes sur les tissus cibles via le récepteur des androgènes. Seuls le déficit en 5 α -réductase et le syndrome d'insensibilité aux androgènes seront abordés.

1. Déficit en 5 α -réductase

Les données cliniques, biochimiques et génétiques ont permis de démontrer qu'il existait deux 5 α -réductases (5 α R): la 5 α R de type 1, responsable de synthèse de DHT dans le foie et la peau, et la 5 α R de type 2 qui assure la conversion de T en DHT au niveau des organes génitaux externes.

D'un point de vue clinique, le déficit en 5 α R est hétérogène⁽⁴⁰⁾; il se caractérise par un pseudovagin chez 55% des patients. Dans 34% des cas, il est noté un sinus urogénital et dans 21% des cas, un

hypospadias. Les testicules sont présents, leur position inguinale ou dans les grandes lèvres est probablement responsable de l'absence de spermatogenèse observée chez certains patients. L'une des caractéristiques fondamentales du déficit en 5 α R est la virilisation pubertaire. La pilosité pubienne apparaît, les testicules migrent dans les replis labio-scrotaux, l'organe péno-clitoridien se développe, prend l'aspect d'une verge qui peut atteindre 6-7 cm, capable d'érections. Parallèlement, les masses musculaires deviennent importantes et la voix mue. L'orientation sexuelle se fait dans le sens masculin, contrastant avec une identité jusque là considérée comme féminine. En réalité, dans ce domaine, la situation n'est pas univoque: pour des raisons sociales, familiales, culturelles près d'un patient sur quatre préfère conserver une identité féminine. Ces événements ont été d'abord considérés comme dépendants de l'action de la T. Une autre hypothèse a été postulée pour expliquer cette masculinisation pubertaire⁽³⁷⁾: comme le foie et la peau représentent une grande proportion de la masse corporelle (25%), et que ces deux organes synthétisent un taux non négligeable de 5 α R-1, il est raisonnable d'envisager que la virilisation observée est le résultant de la DHT formée par le type 1. Dans cette hypothèse la DHT pourrait agir comme une vraie hormone circulante en plus du mode d'action paracrine et autocrine qui lui est reconnu⁽⁴⁰⁾.

D'un point de vue biologique, le déficit en 5 α R est défini principalement par des taux normaux voire élevés de T plasmatique contrastant avec des taux bas de DHT, une élévation du rapport T/DHT plasmatique après stimulation par les gonadotrophines, une élévation du rapport des dérivés urinaires 5 β /5 α des androgènes, une élévation du rapport des dérivés urinaires 5 β /5 α des stéroïdes C21⁽⁴⁰⁾.

Le diagnostic de déficit en 5 α R peut également être établi sur l'analyse enzymatique de l'activité 5 α R sur fibroblastes de peau génitale en culture^(25, 41). Il semble clair que la mesure de l'activité 5 α R à pH 5.5 rend compte de la fonctionnalité de l'enzyme responsable de la différenciation du tissu génital c'est à dire de la 5 α R2⁽²⁶⁾. Dans certains cas il n'y a pas d'activité mais dans d'autres l'activité est mesurable mais cinétiquement anormale. L'enzyme chez ces patients présente un Km normal pour la T mais une affinité diminuée pour le cofacteur (NADPH) ce qui rend l'enzyme instable avec un turnover très rapide. Ainsi les déficits en 5 α R correspondent à deux situations biochimiques: l'enzyme est déficiente, l'enzyme est instable⁽¹⁹⁾.

Depuis le clonage et le séquençage du gène de la 5 α R-2, plusieurs analyses moléculaires ont été réalisées chez ces patients^(2, 6, 7, 35, 36).

¹Unité de Biochimie Endocrinienne du Développement et de la Reproduction. Hôpital Lapeyronie et INSERM U439. Montpellier. ² Unité d'Endocrinologie Pédiatrique. Service de Pédiatrie 1. Hôpital A. de Villeneuve.

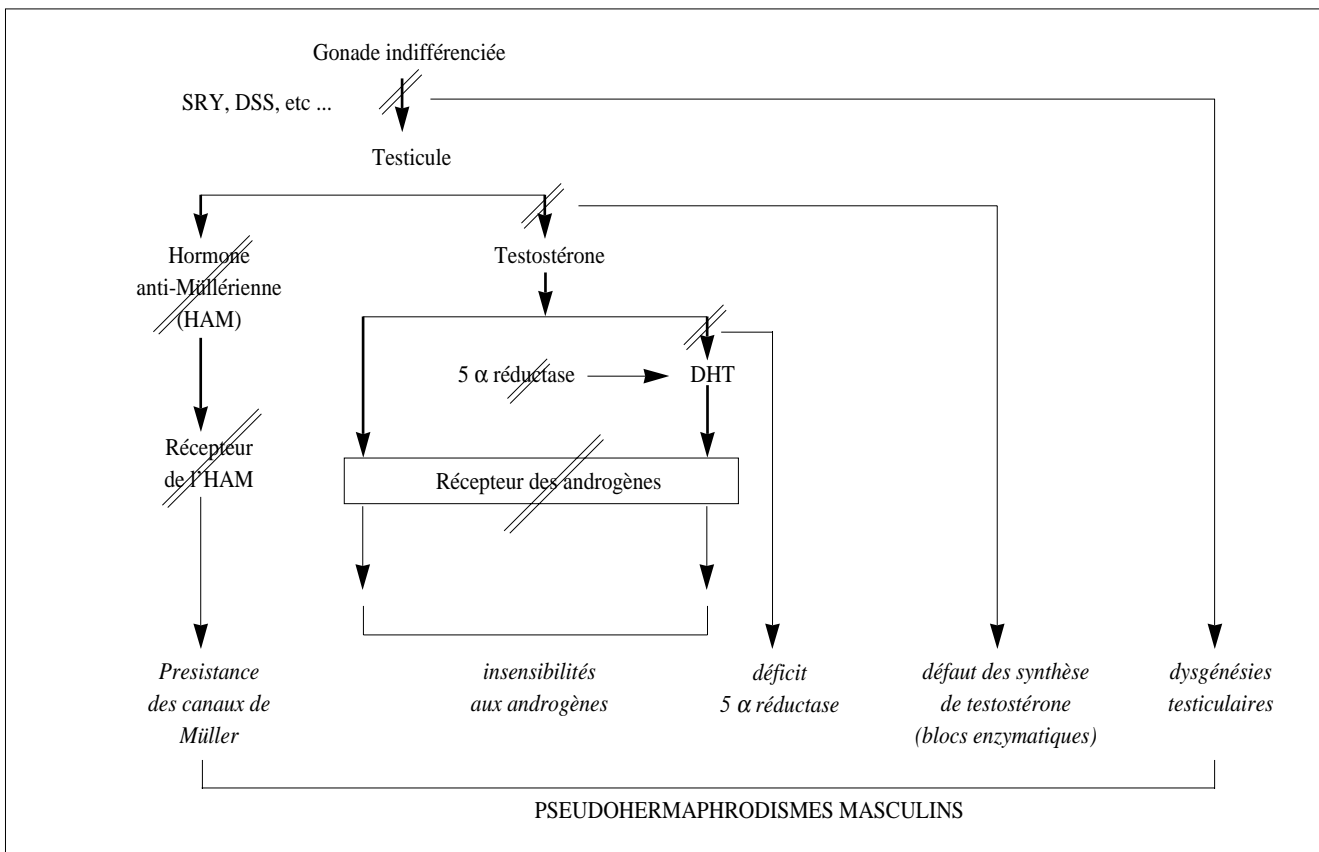


Figure 1. Représentation schématique des différentes formes cliniques pseudohermaphroditismes masculins.

³⁹⁾ A ce jour, seulement une délétion totale du gène et une délétion de deux nucléotides ont été rapportées⁽³⁶⁾ et la plupart des mutations sont des mutations ponctuelles. Il s'agit de 24 substitutions d'acide aminé et de deux codons non-sens, ainsi qu'une anomalie de site d'épissage (Fig. 2). Ces mutations ont été décrites dans 37 familles non-apparentées et environ 65% des individus sont de vrais homozygotes et donc seulement 35% sont des hétérozygotes composites. L'abondance des hétérozygotes, surprenante pour la rareté de cette affection, suggère que la fréquence des porteurs est élevée dans la population générale.

Dans certains cas, la même mutation est apparue chez un ancêtre commun. Par exemple pour la mutation Q126R un ancêtre portugais est probablement à l'origine de la propagation de la mutation chez les individus du Brésil, de Belgique, de Louisiane et de New York. De la même manière la délétion 359, deltaTC est présente dans plusieurs familles de Malte. Dans d'autres cas (R246W et R246Q), les mutations sont des mutations récurrentes que l'on retrouve dans des ethnies différents. Bien que cette affection soit une maladie autosomique récessive dans 4 cas une seule mutation n'a été identifiée⁽⁴⁰⁾. Cette observation permet d'envisager que certaines mutations peuvent être considérées comme des mutations dominantes mais il semble plus vraisemblable que l'altération soit intronique.

Ces différents mutants naturels ont permis d'initier l'étude des relations structure-fonction de cette enzyme. En effet la 5αR

étant une enzyme membranaire NADPH dépendante, certaines substitutions altèrent la capacité de liaison de l'enzyme au substrat, d'autres au cofacteur.

2. Les insensibilités aux androgènes (IA)

Les IA constituent l'étiologie la plus fréquente (50-70%) des pseudohermaphroditismes masculins⁽⁹⁾. L'IA est une affection récessive liée à l'X. Les individus atteints ont un caryotype 46,XY, des testicules normalement différenciés et développés et un phénotype féminin ou partiellement masculinisé. La classification clinique diffère suivant les équipes. Certains considèrent 4 sous-groupes: insensibilité complète aux androgènes (ICA), insensibilité partielle aux androgènes (IPA), syndrome de Reifenstein, syndrome des hommes infertiles. D'autres auteurs regroupent IPA et syndrome de Reifenstein, et ajoutent la forme d'insensibilité incomplète aux androgènes. Cette difficulté de classification est due à l'extrême hétérogénéité de l'affection, dès lors qu'il ne s'agit plus de la forme complète. Nous préférons utiliser une classification simple en deux groupes: ICA et IPA, en restant conscient que ce deuxième terme correspond à des situations cliniques extrêmement variables car faisant partie d'un spectre continu d'anomalies de la différenciation sexuelle entre deux extrêmes: les ICA et les hommes sans ambiguïté génitale mais stériles.

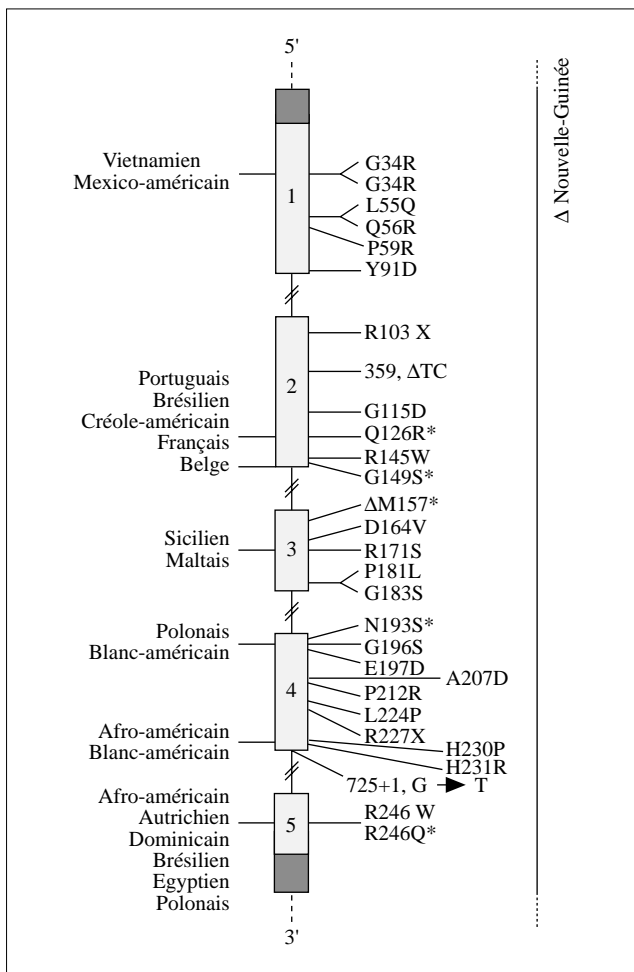


Figure 2. Mutations du gène SRD5A2 chez des sujets présentant un déficit en 5 α -R. Les exons sont indiqués par des rectangles. Le cadre ouvert de lecteur est en gris. Les mutations sont indiquées de la façon suivante: acide aminé normale, position dans la protéine, acide aminé muté. Le code à une lettre est utilisé. Delta indique une délétion. 725+1, G-T indique une mutation sur le site d'épissage. Les ethnies où on été décrits les points chauds mutationnels sont sur la gauche du schéma. D'après Wilson et al.^{(40)*}, expérience montpellieraine^(6, 7).

Une classification biochimique reposant sur la capacité de liaison des androgènes des fibroblastes de peau génitale est également utilisée mais est d'interprétation difficile⁽³¹⁾.

Par contre, l'émergence de la biologie moléculaire, le clonage du gène du récepteur des androgènes et l'identification de mutations du gène, ont permis la mise en place d'une classification moléculaire de l'affection.

a) Caractéristiques cliniques

Insensibilités complètes aux androgènes

La prévalence de l'ICA est difficile à établir avec certitude mais peut être estimée à 1/20000⁽⁴⁾. Le diagnostic d'ICA peut être porté à différents âges. A la naissance, et durant la petite enfance, le signe

d'appel essentiel est une hernie inguinale, uni ou bilatérale chez une fille sans ambiguïté génitale. Grumbach⁽¹⁶⁾ évalue à 1-2% la prévalence d'ICA chez les filles présentant une hernie inguinale. A la puberté, le signe d'appel est l'aménorrhée primaire contrastant avec une féminisation normale, et avec notamment, un développement mammaire plantureux. La pilosité pubienne et axillaire est par contre absente. Enfin, ces jeunes filles ne présentent pas d'acné, autre témoin de l'absence d'action des androgènes sur les tissus cibles. Le morphotype féminin est du à la synthèse d'estrogènes par le testicule (lorsqu'il a été maintenu) ou par aromatisation périphérique des androgènes. Il est important de souligner que les patientes présentant une ICA ont une identité et un comportement sexuel féminins.

Insensibilité partielle aux androgènes

Contrairement à la forme complète, l'IPA est extrêmement hétérogène, et recouvre un très large spectre, avec des phénotypes correspondant à tous les degrés d'insuffisance de virilisation et de perte fonctionnelle du récepteur des androgènes.

A une extrémité de ce spectre, la forme la plus sévère d'IPA est représentée par, ce que certains auteurs^(12, 24) appellent insensibilité incomplète aux androgènes. Dans cette forme, les organes génitaux sont féminins, sans ambiguïté ou marqués par une hypertrophie modérée du clitoris qui survient à la puberté. Pour Quigley et al.⁽³⁰⁾, l'apparition à la puberté de poils pubiens, même rares et même en l'absence de toute ambiguïté génitale, doit faire éliminer le diagnostic de forme complète, car la croissance des poils témoigne d'un degré de réponse aux androgènes⁽¹⁰⁾.

A l'autre extrémité, la forme la moins sévère d'IA, est représentée par le groupe des hommes stériles sans aucune ambiguïté génitale, forme connue sous le nom de syndrome d'Aiman⁽¹⁾. Il a également été décrit des insensibilités aux androgènes marquées uniquement par une gynécomastie ou un hypospadias sans conséquence sur la fertilité^(5, 15).

Entre ces formes «limites», tous les degrés d'insuffisance de virilisation sont observables. Certains patients présentent un phénotype féminin avec une clitoromégalie et/ou une discrète fusion des grandes lèvres, d'autres ont une ambiguïté génitale plus profonde qui pose de graves problèmes de choix de sexe d'élevage, choix souvent retardé, et dont on conçoit les conséquences familiales et, à terme, personnelles. Chez un certain nombre de patients, le phénotype est masculin, ne posant pas de problème d'orientation du sexe d'élevage, mais avec une virilisation très insuffisante et un phénotype comportant, à des degrés divers et selon des associations variables, micropénis, hypospadias, scrotum bifide et cryptorchidie. Ces formes d'IPA sont volontiers familiales et souvent regroupées sous le terme de syndrome de Reifenstein.

Pour ce qui concerne les organes génitaux internes, leur développement dépend là aussi du degré de résistance aux androgènes, et l'épididyme, le canal déférent et la vésicule séminale peuvent varier.

Le spectre très large des anomalies de la différenciation sexuelle rencontrée dans les IPA a conduit à la description de «syndromes» (Lubs, Rosewater, Gilbert-Dreyfus...) dont la signification est

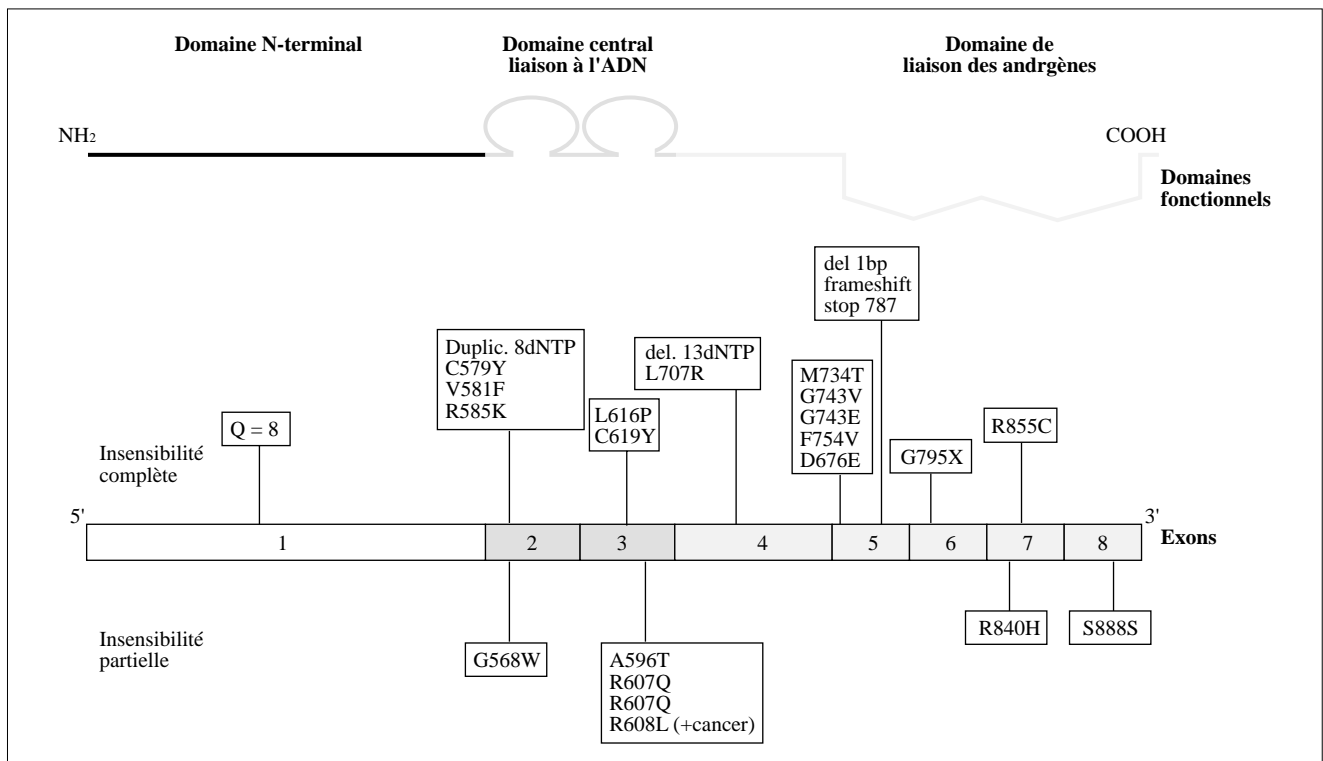


Figure 3. Mutations du récepteur des androgènes dans les insensibilités complètes et partielles aux androgènes. Exemples des mutations identifiées par notre équipe. Les 3 principaux domaines fonctionnels du récepteur sont indiqués.

limitée, s'agissant de phénotypes souvent partiellement redondants. La clarification de ce groupe des IPA, impose l'utilisation de cadres descriptifs précis comme la classification de Prader⁽²⁹⁾ ou celle plus détaillée récemment proposée par Quigley et al.⁽³⁰⁾. La plus grande rigueur dans la description des anomalies génitales est indispensable à l'élaboration d'une relation entre le phénotype et les déficits fonctionnels et structuraux du récepteur des androgènes.

b) Caractéristiques biologiques

Les investigations hormonales sont indispensables devant une suspicion d'IA, car le diagnostic différentiel avec d'autres pseudohermaphrodismes masculins est parfois délicat, si l'on se limite exclusivement aux données cliniques.

L'ICA est classiquement caractérisée, en période post-pubertaire (si les testicules sont encore présents) par des taux normaux ou élevés de T et de FSH (pour des hommes normaux), et des concentrations de LH et d'estradiol élevées ou à la limite supérieure de la normale^(11, 17). En période pré-pubertaire les taux de T et de LH sont normaux pour l'âge⁽³⁸⁾. En période néonatale, par contre, il semble que LH et T ne soit pas augmentées⁽³⁰⁾, et même que le pic de LH et T, observé vers 6 semaines chez le garçon normal, n'apparaît pas dans les ICA suggérant une sensibilisation in utero, androgéno-dépendante, de l'axe hypothalamo-hypophysaire nécessaire à la survenue du pic néonatal de LH⁽³⁰⁾.

Dans les IPA, le profil hormonal est identique à la puberté et

en post-puberté, avec LH élevée, et T et estradiol normaux ou élevés^(3, 11). Pendant l'enfance, ces taux sont normaux.

En période néonatale, contrairement à l'ICA, le taux de T et LH semblent élevés pour l'âge^(18, 27), mais peu d'études systématiques ont été réalisées.

c) Caractéristiques biochimiques: capacité de liaison des androgènes dans les fibroblastes de peau génitale

L'étude des capacités de liaison du RA pour les androgènes dans les fibroblastes de peau génitale en culture a constitué, pendant longtemps, le seul substrat biologique au diagnostic des IA et reste, à l'heure actuelle, encore utile comme technique de diagnostic. Cette méthode a permis, avant l'avènement de la biologie moléculaire, une classification biologique des IA en 4 groupes^(8, 13, 34):

- Absence de liaison aux androgènes
- Liaison quantitativement diminuée
- Liaison qualitativement anormale (thermolabilité du récepteur, constante de dissociation augmentée, altération de la spécificité de liaison)
- Liaison normale, quantitativement et qualitativement

Ainsi, il existe une importante hétérogénéité biochimique, parallèle à l'hétérogénéité clinique des IA. On ne peut toutefois mettre en évidence de corrélation directe entre la sévérité clinique de l'affection et les caractéristiques de liaison des fibroblastes de peau génitale, même si l'absence totale de liaison est en général associée à une forme complète d'IA⁽¹⁴⁾.

d) Caractéristiques génétiques

D'un point de vue génétique, ces anomalies biochimiques résultent d'anomalies géniques du RA, regroupées en trois catégories: les mutations qui altèrent la structure du gène du RA, les mutations qui altèrent la structure de l'ARNm et les mutations qui altèrent la structure primaire de la protéine⁽²³⁾.

- Les mutations qui altèrent la structure du gène du RA (macro-délétions, micro-délétions et insertions). A ce jour, une dizaine de délétions plus ou moins complètes du gène du RA ont été décrites: 9 dans des ICA et une délétion de l'exon 4 chez un patient présentant un syndrome d'Aïman (oligozoospermie). 7 micro-délétions ont été rapportées chez des ICA, avec dans 5 cas, un décalage du cadre ouvert de lecture et l'apparition d'un codon stop prématuré⁽²⁰⁾. Les insertions sont beaucoup plus rares (3 seules ont été décrites)⁽³⁰⁾.
- Les mutations qui altèrent la structure de l'ARNm (anomalie de l'épissage et codon stop). Cinq anomalies de l'épissage (une délétion dans l'intron 1 et 4 mutations des sites accepteurs bordant les introns 3, 4, 6 et 7) et 11 codons stop ont été rapportés^(28, 30, 33). Dans tous les cas, l'anomalie génique a été détectée chez des patients présentant une ICA.
- Les mutations qui altèrent la structure primaire de la protéine (substitution d'acide aminés). Les substitutions sont retrouvées sur toute la protéine avec cependant quelques particularités: dans certains cas, un même acide aminé a été retrouvé muté dans plusieurs familles non apparentées (point chauds). Il existe 11 points chauds dans le domaine de liaison de l'hormone en particulier en position 774 où l'Arg correspondant est muté en Cys (5 fois) ou en His (4 fois), en position 831 (7 fois muté). Les substitutions en position 840 et 855 sont également intéressantes car selon l'acide substitué (Cys ou His) le phénotype observé est complet ou partiel. Enfin, il est intéressant de noter que la même substitution entraîne dans certains familles une ICA ou une IPA. Il s'agit en particulier des substitutions Val-Met 743 et Val-Met 866. Ces observations confirment l'existence de facteurs épigénétiques dans la régulation de la différenciation sexuelle.

e) Diagnostic prénatal et/ou d'hétérozygotie

Les familles présentant un ou plusieurs cas d'IA sollicitent volontiers un conseil génétique que ce soit dans le cadre d'un diagnostic d'hétérozygotie ou pour un diagnostic prénatal⁽²²⁾. Deux situations peuvent être envisagées pour un fœtus 46,XY. Lorsque la mutation causale a déjà été déterminée par une étude préalable, la recherche de cette mutation sur l'ADN trophoblastique permet sans ambiguïté de réaliser le diagnostic positif ou négatif de la maladie. Lorsque la mutation n'a pas encore été identifiée, les polymorphismes du gène du RA peuvent être utilisés. C'est dire combien l'utilisation des polymorphismes du gène du récepteur des androgènes, marqueurs de l'X, est utile au diagnostic prénatal de cette affection liée à l'X. Cependant, cette méthode ne permet pas un diagnostic de certitude car on ne peut exclure une recombinaison génétique, même si les polymorphismes sont intragéniques. Ainsi, l'échographie foetale des organes génitaux externes est indispensable pour confirmer le diagnostic.

Bibliographie

1. Aïman J, Griffin JE, Gazak JM, Wilson JD, MacDonald PC. Androgen insensitivity as a cause of infertility in otherwise normal men. *New England Journal of Medicine* 1979;**300**:223-227.
2. Andersson S, Berman DM, Jenkins EP, Russell DW. Deletion of steroid 5-alpha-reductase-2 gene in male pseudohermaphroditism. *Nature* 1991;**354**:159-161.
3. Aono T, Miyake A, Kinugasa T, Kurachi K and Matsumoto K. Absence of positive feedback of oestrogen on LH release in patients with testicular feminization syndrome. *Acta Endocrinologica* 1978;**87**:259-267.
4. Bangsbo S, Qvist I, Lebech PE, Lewinsky M. Testicular feminization syndrome and associated gonadal tumors in Denmark. *Acta Obstetrica Gynecologica Scandinavica* 1992;**71**:63-66.
5. Batch JA, Evans BAJ, Hughes IA, Patterson MN. Mutations of the androgen receptor gene identified in perineal hypospadias. *Journal of Medical Genetics* 1993;**30**:198-201.
6. Boudon C, Lobaccaro J, Lumbroso S, et al. A new deletion of the 5 alpha-reductase type 2 gene in a Turkish family with 5-alpha-reductase deficiency. *Clinical Endocrinology* 1995;**43**:183-188.
7. Boudon C, Lumbroso S, Lobaccaro JM, et al. Molecular study of the 5-alpha-reductase type 2 gene in three European families with 5 alpha-reductase deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1995;**80**:2149-2153.
8. Brown TR, Migeon CJ. Cultured human skin fibroblasts: a model for the study of androgen action. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1981;**36**:3-22.
9. Chaussain JL, Roger M, Couprie C, Sultan C, Job JC. Les pseudohermaphroditismes masculins. *Pédiatrie* 1990;**45s**:57-67.
10. De Bellis A, Quigley CA, Marschke KB, et al. Characterization of mutant androgen receptors causing partial androgen insensitivity syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1994;**78**:513-522.
11. French FS, Baggett B, Van Wyk JJ, et al. Testicular feminization: clinical, morphological, and biochemical studies. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1965;25.
12. Griffin JE. Androgen resistance - the clinical and molecular spectrum. *New England Journal of Medicine* 1992;**326**:611-618.
13. Griffin JE. Testicular feminization associated with a thermolabile androgen receptor in cultured genital skin fibroblasts. *Journal of Clinical Investigation* 1979;**64**:1624-1631.
14. Griffin JE, Wilson JD. *The androgen resistance syndromes: 5-alpha-reductase deficiency, testicular feminization and related disorders*. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS and Valle D. New York: McGraw-Hill, 1989:1919-1944.
15. Grino PB, Griffin JE, Cushard Jr WG, Wilson JD. A mutation of the androgen receptor associated with partial androgen resistance, familial gynecomastia and fertility. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1988;**68**:754-761.
16. Grumbach MM, Conte FA. *Disorders of sex differentiation*. In: Wilson JD, Foster GW. Philadelphia: Saunders, 1991:853-951.
17. Imperato-McGinley J, Petterson RE, Gautier T, et al. Hormonal evaluation of a large kindred with complete androgen insensitivity: evidence for secondary 5-alpha-reductase deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1982;**39**:631-638.
18. Lee PA, Brown TR, La Torre HA. Diagnosis of the partial androgen insensitivity syndrome during infancy. *JAMA* 1986;**255**:2207-2209.
19. Leshin M, Griffin JE, Wilson JD. Hereditary male pseudohermaphroditism associated with unstable form of 5-alpha-reductase. *Journal of Clinical Investigation* 1978;**62**:685-691.

20. Lobaccaro JM, Lumbroso JM, Poujol N, et al. Complete androgen insensitivity syndrome due to a new frameshift in exon 4 of the androgen receptor gene: functional analysis of the mutant receptor. *Molecular and Cellular Endocrinology* 1995;**111**:21-28.
21. Lobaccaro JM, Sultan C. La différenciation sexuelle normale: génétique et endocrinologie moléculaire. *C R Soc Biol* 1992.
22. Lumbroso S, Lobaccaro JM, Belon C, Chaussain JL, Sultan C. *Diagnostic prénatal, diagnostic d'hétérozygotie et conseil génétique dans les syndromes d'insensibilité aux androgènes*. In: Chaussain JL and Roger M. Paris: Publi-Fusion, 1995: 39-51.
23. McPhaul MJ, Marcelli M, Tilley WD, Griffin JE, Wilson JD. Androgen resistance caused by mutations in the androgen receptor gene. *FASEB J* 1991;**5**:2910-2915.
24. McPhaul MJ, Marcelli M, Zoppi S, Griffin JE, Wilson JD. Genetic basis of endocrine disease 4. The spectrum of mutations in the androgen receptor gene that causes androgen resistance. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1993;**76**:17-23.
25. Moore RJ, Griffin JE, Wilson JD. Diminished 5-alpha-reductase activity in extracts of fibroblasts cultured from patients with familial incomplete male pseudohermaphroditism, type 2. *Journal of Biological Chemistry* 1975;**250**:7168-7172.
26. Moore RJ, Wilson JD. Steroid 5-alpha-reductase in cultured human fibroblasts: biochemical and genetic evidence for two enzyme activities. *Journal of Biological Chemistry* 1976;**251**:5895-5900.
27. Nagel RA, Lippe BM, Griffin JE. Androgen resistance in the neonate: use of hormones of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis for diagnosis. *Journal of Pediatrics* 1986;**109**:486-488.
28. Patterson MN, Hughes IA, Gottlieb B, Pinsky L. The androgen receptor gene mutations database. *Nucleic Acids Res* 1994;**22**:3560-3562.
29. Prader A. Der genitalbefund beim pseudohermaphroditismus feminus des kongenitalen adrenogenitalen syndroms. *Helvetica Paediatrica Acta* 1954;**9**:231-248.
30. Quigley CA, Debellis A, Marschke KB, Elawady MK, Wilson EM, French FS. Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives. *Endocrine Rev* 1995;**16**:271-321.
31. Sultan C, Lobaccaro JM, Belon C, Terraza A, Lumbroso S. Molecular biology of disorders of sex differentiation. *Hormone Research* 1992;**38**:105-113.
32. Sultan C, Lobaccaro JM, Lumbroso S, et al. *Molecular aspects of sex differentiation -applications in pathological conditions-*. In: Vergada C and Moguilevsky JA. Roma: Sero Symposia Publications, 1995; 21-35.
33. Sultan C, Lumbroso S, Poujol N, Belon C, Boudon C, Lobaccaro JM. Mutations of the androgen receptor gene in androgen insensitivity syndrome. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 1993;**46**:519-530.
34. Sultan C, Picar J-Y, Josso N, Migeon CJ. Incomplete androgen insensitivity syndrome. *Clinical Endocrinology* 1983;**28**:565-568.
35. Thigpen AE, Davis DL, Gautier T, Imperato MJ, Russell DW. Brief report: the molecular basis of steroid 5-alpha-reductase deficiency in a large Dominican kindred. *New England Journal of Medicine* 1992;**327**:1216-1219.
36. Thigpen AE, Davis DL, Milatovich A, et al. Molecular genetics of steroid 5-alpha-reductase-2 deficiency. *Journal of Clinical Investigation* 1992;**90**:799-809.
37. Thigpen AE, Silver R, Guileyardo JM, Casey ML, McDonnell JD, Russell DW. Tissue distribution and ontogeny of steroid 5-alpha-reductase isoenzyme expression. *Journal of Clinical Investigation* 1993;**92**:903-910.
38. Tremblay RR, Foley TP Jr, Corvol P, et al. Plasma concentration of testosterone, dihydrotestosterone, testosterone-estradiol binding globulin, and pituitary gonadotrophins in the syndrome of male pseudohermaphroditism with testicular feminization. *Acta Endocrinologica* 1972;**70**:331-341.
39. Wigley WC, Prihoda JS, Mowszowicz I, et al. Natural mutagenesis study of the human steroid 5-alpha-reductase-2 isozyme. *Biochemistry* 1994;**33**:1265-1270.
40. Wilson JD, Griffin JE, Russell DW. Steroid 5-alpha-reductase-2 deficiency. *Endocrine Reviews* 1993;**14**:577-593.
41. Wilson JD, Lasnitski I. Dihydrotestosterone formation in fetal tissues of the rabbit and rat. *Endocrinology* 1971;**89**:659-668.

Fundamentos Genético-Hormonales en la Regulación del Crecimiento Humano

J. Argente Oliver

Introducción

La complejidad biológica del crecimiento humano se encuentra genéticamente programada, siendo su patrón de herencia poligénico, al tiempo que modulada por un conjunto de factores, conocidos parcialmente, entre los que cabe destacar las influencias hormonales, nutricionales y ambientales. De la interacción de estos factores resulta el patrón de crecimiento humano. Cualquier anomalía en la información genética, en los factores hormonales o nutricionales, la existencia de alteraciones de base orgánica o mental, pueden generar afectación, más o menos severa, en el patrón de crecimiento individualmente programado.

Aunque nuestros conocimientos sobre los factores que modulan el patrón de crecimiento humano se han incrementado sustancialmente en las últimas dos décadas, aún son muchas las incógnitas y dudas existentes en lo que hace referencia tanto a los factores genéticos, como hormonales, nutricionales y ambientales.

En efecto, los extraordinarios progresos efectuados en el incremento de nuestros conocimientos en las áreas de la neuroendocrinología, biología celular, biología molecular, genética y bioquímica, nos han conducido ineludiblemente al descubrimiento, aislamiento y caracterización de hormonas y péptidos involucrados en la regulación del crecimiento humano. Así, la identificación de la somatostatina (SS), la hormona hipotalámica estimulante de la GH (GHRH), el receptor de GHRH (rGHRH), el receptor de la GH (rGH), las proteínas de transporte de la GH (GHBP), los factores de crecimiento (IGFs) y sus proteínas transportadoras (IGFBPs), el conocimiento de los péptidos sintéticos estimulantes de la liberación de GH (GHRPs), la caracterización del factor de transcripción hipofisario número 1 (Pit-1), la localización en el ser humano de los genes que codifican para GH, Pit-1, SS, GHRH, rGHRH, rGH, IGFs, e IGFBPs, entre otros, así como el incremento en los conocimientos de la neuroregulación de la GH⁽¹⁾, han contribuido de forma singular a incrementar nuestros conocimientos y a complicar intelectualmente aún más la aproximación clínica, hormonal y molecular de estudio de las anomalías del crecimiento humano. Además, la biología molecular ha contribuido al descubrimiento de nuevas enfermedades, como es el caso de la deficiencia combinada de hormonas hipofisarias (al menos de GH y PRL y, en ocasiones, además, de TSH) debida a deleciones o mutaciones del gen de Pit-1, de las deleciones en homocigosis del gen GH1, de las mutaciones del gen del rGHRH, de las

alteraciones del gen del rGH, de las anomalías del gen de IGF-I, las alteraciones de la molécula de GH, las alteraciones del rGH en algunos pacientes afectos de talla baja idiopática, entre los descubrimientos más importantes en los últimos años.

Junto a ello, la función de los nutrientes se ha conocido mejor, habiéndose desplegado una investigación intensa alrededor de nuevos marcadores nutricionales, entre otros, las proteínas de transporte de la hormona de crecimiento y de los factores de crecimiento semejantes a la insulina.

Finalmente, la mejor resolución de imagen anatómica brindada por la resonancia magnética nuclear, nos ha colocado en una excelente posición para efectuar más y mejor los diagnósticos de anomalías embriológicas causantes de deficiencias de GH, así como detectar tumores del área hipotálamo-hipofisaria, capaces de generar alteraciones severas en el patrón de crecimiento programado de un individuo.

Factores genéticos responsables de la regulación del crecimiento humano

I. Gen de la hormona de crecimiento: Se localiza en las fracciones 22-24 del brazo largo del cromosoma 17. Hasta la fecha, se han descrito cuatro formas mendelianas de déficit aislado de GH (DAGH) que varían en cuanto a la severidad del déficit, el modo de herencia y la respuesta al tratamiento sustitutivo con hormona de crecimiento.

El DAGH IA es el más severo de las formas medelianas de DAGH⁽²⁾. Si bien su incidencia se desconoce, se estima que han sido publicados en torno a 50 casos, no relacionados entre sí, en todo el mundo^(3,4).

La base molecular de esta enfermedad autosómica recesiva, en la mayoría de los casos, consiste en una deleción de ambos alelos del gen que codifica para la GH hipofisaria, GH1 (17q22-24)⁽³⁾. En efecto, la ausencia de las secuencias que codifican para la GH da lugar a una ausencia prenatal completa de la síntesis de GH y a un fenotipo severo de DAGH IA.

El diagnóstico molecular de esta entidad puede realizarse mediante el análisis del ADN genómico gracias al empleo de la técnica de Southern blot e hibridación con la sonda de GH1. El tamaño de las deleciones es heterogéneo. La más frecuente (aproximadamente en el 70% de los casos) es de 6,7 kilobases (kb). El resto de las deleciones descritas, son: 7,6 kb, 7 kb, 45 kb, y una doble deleción en el cluster del gen de GH⁽⁵⁾.

Universidad Autónoma. Departamento de Pediatría. Hospital Infantil Niño Jesús. Sección de Endocrinología Pediátrica. Madrid.

Además de las deleciones, se han descrito otras mutaciones en el gen GH1 en asociación con un fenotipo severo de DAGH IA y niveles plasmáticos indetectables de GH⁽⁵⁻⁸⁾. Todas estas mutaciones originan alelos nulos del gen GH1, dando lugar a la producción de una proteína truncada que, probablemente, es degradada intracelularmente:

1. Una mutación sin sentido («nonsense») (transición de G a A) en el codón 20 que convierte un triptófano en un codón de detención («stop codon») en el péptido señal, se ha encontrado en una familia consanguínea turca⁽⁹⁾.
2. Una mutación de empalme («splicing mutation») en el primer nucleótido del lugar de empalme del cuarto intrón del gen GH1 (transversión de G a C) se ha descrito en una familia de Arabia Saudí⁽⁶⁾. Curiosamente, un cambio diferente afectando al mismo nucleótido (transversión de G a C) se ha detectado en otra familia de Arabia Saudí. Mediante el análisis de los transcritos de ARNm del gen GH1 en linfoblastos transformados de individuos afectados, se encontró que ambas mutaciones eran capaces de activar un lugar de empalme críptico en el exón IV, 73 pb por encima del comienzo del exón IV. Dicha anomalía en el empalme resultaría de la pérdida de 24 aminoácidos del exón IV y en un cambio de lectura («frameshift») en el comienzo del exón V. La proteína mutante resultante adolecería de secuencias importantes para desempeñar una actividad biológica adecuada; sin embargo, probablemente lo que ocurre es que es degradada en la célula somatotropa y no es liberada a la circulación.
3. Se han descrito dos familias con individuos afectados de DAGH IA heterocigotos para una deleción y una mutación «frameshift» del gen GH1. En ambos casos la deleción era de 6,7 kb de tamaño y abarcaba el gen GH1 completo. En la primera familia, la mutación del otro alelo consiste en deleción de una citosina en la posición 371 en el exón II del gen GH1⁽¹⁰⁾. Esta deleción simple de una base conduce a un cambio de lectura en el péptido señal y, en consecuencia, no se sintetiza ninguno de los aminoácidos normales de la GH. La segunda mutación consiste en una deleción de dos bases (AG) en el exón III que también da lugar a un cambio de lectura y a la generación de un codón de detención prematuro en el residuo 131 del exón IV⁽⁶⁾.

El DAGH IB es la segunda forma autosómica recesiva de déficit aislado de hormona de crecimiento. En contraste con DAGH IA, se asocia con niveles plasmáticos bajos, pero detectables, de GH tras estímulos farmacológicos estándar y un fenotipo menos severo⁽⁵⁾. Los individuos afectados presentan una buena respuesta al tratamiento sustitutivo con GH, sin generar intolerancia inmune.

Todavía se desconoce el locus o loci afecto(s) y las alteraciones responsables de esta entidad clínica. Aparentemente descartados el gen GH1 y GHRH, el candidato más factible sería el gen del receptor de GHRH.

Los pacientes afectados de DAGH II presentan las mismas características clínicas y similares criterios diagnósticos que los pacientes con DAGH IB⁽⁵⁾. El modo de herencia de DAGH II es autosómico dominante, mostrado por la presencia de un padre y uno o varios hijos afectados. A diferencia de la forma IB, los estudios de ligamiento genético son compatibles con cosegregación de DAGH II con el gen GH1 en la mayoría de las familias⁽¹¹⁾.

La alteración molecular causante del déficit aislado de GH tipo II ha sido descrita en varias familias no relacionadas⁽⁹⁾. En todos los casos se trata de mutaciones en un alelo en el intrón III del gen GH1. Tres de ellas son sustituciones de un nucleótido en la secuencia 5' donante para el empalme del ARNm (IVSIII +1G ⇒ A, +2T ⇒ C y +6T ⇒ C)^(12,13). Los seis primeros nucleótidos de cada intrón están relativamente conservados y sirven para la unión del SnRNA U6 (uno de los pequeños ARNs nucleares en la maquinaria celular de empalme). Por tanto, las mutaciones afectan esta unión e impiden el empalme normal del ARNm. Otras dos mutaciones intrónicas consisten en una sustitución simple (IVSIII +34G ⇒ A) y una deleción de 18 pares de bases (IVSIII +27 del 18) que no cambian ninguna de las secuencias consenso requeridas para el empalme del ARNm⁽¹⁴⁾.

Se han descrito tres familias con DAGH III mostrando un patrón de herencia recesivo ligado al cromosoma X, en las que todos los varones afectados presentaban también hipogammaglobulinemia^(15,16).

El análisis de ligamiento en dos de estas familias sugiere que la combinación de agammaglobulinemia ligada al X (XLA) y deficiencia aislada de GH podría ser debida a una alteración genómica que afectase el gen recientemente aislado para XLA en el cromosoma Xq21.3-q22 y un locus contiguo probable necesario para la expresión de GH⁽¹⁶⁾.

Es probable la existencia de otras formas de DAGH ligadas al X. Estas alteraciones explicarían el exceso de varones afectados en relación a mujeres en los casos de DAGH. En la actualidad, existen evidencias que sugieren la presencia de varios loci en el cromosoma X capaces de intervenir en la regulación de la hormona de crecimiento. Así, se han descrito algunos pacientes con DAGH asociado a anomalías en distintas regiones del cromosoma X, incluyendo una deleción intersticial de Xp22.3 y una duplicación de Xq13.3-q21.2.

El enanismo panhipopituitario, PD, se caracteriza por presentar deficiencia de una o más de las hormonas tróficas hipofisarias (ACTH, TSH, FSH, LH), además de déficit de GH. Aunque la mayoría de los casos de panhipopituitarismo son esporádicos, se han descrito varias familias en las que se sugiere un modo de herencia autosómico recesivo (*tipo I*) y una forma ligada al cromosoma X (*tipo II*)⁽⁵⁾.

El PD IB tiene su base molecular en la existencia de mutaciones en el gen Pit1 (3p11), asociando déficit de GH, prolactina y/o TSH, habiéndose descrito varias mutaciones en humanos:

1. Mutación «nonsense» en el codón 172 (Arginina a detención)⁽¹⁷⁾.
2. Una mutación «missense» (cambio de aminoácido de Arginina a Prolina) en el dominio específico POU en el aminoácido en posición 158, ha sido encontrada en dos familias holandesas. En una de ellas, los pacientes eran homocigotos para la mutación, mientras que, en la otra familia, se asociaba a una deleción del otro alelo del gen de Pit1⁽¹⁸⁾. Esta mutación interfiere con la formación de homodímeros y reduce la capacidad de Pit1 para activar la transcripción del ADN⁽¹⁸⁾. Estos pacientes no secretan GH ni prolactina y exhiben una deficiencia parcial de TSH.
3. Una mutación «missense» de novo se ha descrito en un paciente heterocigoto con el fenotipo de enanismo panhipopituitario⁽¹⁹⁾. Esta mutación se ha localizado más allá del dominio de unión al ADN (Arginina a Triptófano). Esta proteína mutante parece tener un efecto dominante negativo que inhibe la unión al ADN de

la proteína normal. No obstante, el hallazgo de la misma mutación en otra familia japonesa en la que varios portadores no presentaban fenotipo alguno, ha puesto en cuestión la significación biológica de ese efecto dominante negativo⁽²⁰⁾.

Recientemente, hemos publicado una revisión sobre las bases moleculares del déficit familiar de GH⁽²¹⁾.

II. Gen del factor de transcripción hipofisario número 1 de la hormona de crecimiento (Pit1): Se localiza en el cromosoma 3p11⁽²²⁾. Las anomalías en dicho gen capaces de producir alteraciones severas en el crecimiento humano, han sido descritas más arriba.

III. Gen del receptor del factor hipotalámico estimulante de la hormona de crecimiento -GHRH- (rGHRH): El gen que codifica el receptor de la hormona liberadora de la GH (rGHRH) ha sido recientemente clonado y caracterizado⁽²³⁾, y asignado al cromosoma 7p14⁽²⁴⁾. Se ha descrito, además, un FRLP detectable con la enzima de restricción BamHI⁽²⁵⁾ y se ha detectado con un clon genómico en cromosoma artificial de levadura (YAC) que contiene GHRHr y dos microsatélites polimórficos que pueden servir como marcadores para el gen de GHRHr en estudios de ligamiento genético⁽²⁶⁾. Recientemente, Wajnrach et al⁽²⁷⁾, han publicado la primera demostración en el ser humano de una mutación sin sentido en el gen rGHRH causante de alteración severa del crecimiento.

IV. Gen del receptor de la hormona de crecimiento (rGH): El gen del receptor de la hormona de crecimiento (rGH) se localiza en el cromosoma 5p13-p12. Las mutaciones descritas en este gen son ciertamente heterogéneas⁽²⁸⁾, causando un síndrome de resistencia periférica a la acción de la GH por mutaciones o deleciones del receptor para esta hormona. Entre las descritas, cabe destacar: deleciones de los exones 3, 5 y 6, F96S, R43X, C38X, R217X, deleción de TT en posición 46 y mutación del codón 180 del exón 6. Asimismo, se han descrito al menos dos pacientes afectados de mutaciones en el dominio intracelular del receptor de GH⁽²⁹⁾. Las poblaciones endogámicas descritas en las provincias de El Oro y La Loja en Ecuador, presentan una anomalía homogénea en todos los pacientes⁽²⁸⁾.

Los estudios moleculares efectuados recientemente en pacientes afectados de talla baja idiopática, han sido de gran importancia. En efecto, Goddard et al. en un excelente estudio⁽³⁰⁾, han demostrado que algunos niños con talla baja idiopática pueden tener un síndrome de insensibilidad parcial a la acción de la GH debido a mutaciones en el receptor de GH.

V. Gen del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo I (IGF-I): Se localiza en el cromosoma humano número 12. Aun cuando no existe ninguna publicación demostrando anomalías genéticas en este factor de crecimiento en el ser humano, ya se ha demostrado en un paciente (comunicación personal).

No existen evidencias, en el momento actual, de alteraciones en los genes que codifican para el receptor de IGF-I ni para las proteínas de transporte de los factores de crecimiento, específicamente para IGFBP-3.

VI. Alteraciones moleculares de la GH: Recientemente, Takahashi et al.⁽³¹⁾ han demostrado en un niño con talla baja la existencia de una forma mutante de GH causada por una mutación única en el gen de GH.

En resumen, se han descrito anomalías genéticas con afectación del patrón del crecimiento humano en el hipotálamo (gen del rGHRH), en la hipófisis (Pit1 y GH1), en la propia molécula de GH (GH biológicamente inactiva) y en la periferia (anomalías del rGH y de IGF-I). Aún se ignora si podrán demostrarse anomalías en el gen del rIGF-I o de las IGFBPs, selectivamente de IGFBP-3. Por todo ello, en la actualidad, además del concepto clásico de deficiencia de GH, debe, probablemente, introducirse el de deficiencia de IGF-I, al objeto de poder efectuar diagnósticos moleculares por alteración del receptor de GH que hoy sabemos pueden documentarse.

Factores hormonales responsables de la regulación del crecimiento humano

La complejidad de los factores hormonales que intervienen en la regulación del crecimiento humano, hace que la globalidad de la patología existente en Endocrinología Pediátrica genere repercusiones directas sobre el patrón de crecimiento si aquéllas no se corrigen adecuadamente. La hormona de crecimiento, la insulina, las hormonas tiroideas, los esteroides sexuales, glucocorticoides, algunas vitaminas (preferentemente la vitamina A), algunos oligoelementos (fundamentalmente el Zn) y los factores locales de crecimiento, conforman los factores hormonales capaces de regular el patrón de crecimiento programado de un sujeto.

I. Hormona de crecimiento: La deficiencia o insuficiencia de hormona de crecimiento, ya congénita, ya adquirida, es causa de afectación severa del crecimiento del ser humano. La afectación puede localizarse en la hipófisis, debiéndose a síndromes genéticos (agenesia, hipoplasia o aplasia hipofisarias, fundamentalmente) o a tumores intraselares; en el hipotálamo, debiéndose a causas idiopáticas, radioterapia, traumatismo, cirugía, tumores o histiocitosis, entre otras; o en la periferia, como consecuencia de la existencia de una molécula de GH bioquímicamente normal pero biológicamente inactiva. Si estos pacientes no son tratados convenientemente con hormona de crecimiento exógena (biosintética en la actualidad), su crecimiento se verá seriamente comprometido, aun cuando no existan anomalías genéticas de las descritas con anterioridad, como consecuencia de que la GH hipofisaria es el principal regulador del crecimiento durante la vida extrauterina.

II. Insulina: La insulinopenia que define la diabetes mellitus dependiente de la insulina y los desafortunados ejemplos del pasado de pacientes que no recibieron dosis adecuadas de insulina en su tratamiento y que han finalizado su crecimiento con una talla baja severa, es el mejor ejemplo de la influencia de la insulina en el patrón de crecimiento humano. La insulina es capaz de actuar sobre el metabolismo celular facilitando la transferencia de nutrientes al interior de la célula. En el ser humano y en animales de experimentación, se ha comprobado que el eje GH-periferia se encuentra afectado en

los sujetos diabéticos. Además, datos de nuestro laboratorio confirman la existencia de alteraciones en la expresión de los genes de los factores de crecimiento y sus proteínas de transporte tanto en la periferia como en el hipotálamo.

III. Hormonas tiroideas: Desempeñan una función muy importante tanto en la síntesis como en la liberación de hormona de crecimiento. Además, en el cartílago de crecimiento estimulan la síntesis de enzimas en relación directa con la mineralización. Por tanto, las situaciones clínicas de hipotiroidismo e hipertiroidismo requieren un tratamiento apropiado para que el patrón de crecimiento de estos pacientes se ajuste a su potencial genético.

IV. Esteroides sexuales y glucocorticoides: Los andrógenos suprarrenales y gonadales desempeñan una acción relevante en el proceso de diferenciación y maduración sexual. Junto a ello, intervienen de forma activa en el incremento de la secreción de GH durante la pubertad, siendo capaces de estimular la proliferación celular y la síntesis de la matriz extracelular del cartílago. También los estrógenos incrementan la secreción de GH actuando sobre el eje hipotálamo-hipofisario y estimulan la síntesis de la matriz extracelular y su mineralización. Los glucocorticoides, a dosis fisiológicas, facilitan la secreción de GH. Por el contrario, a dosis altas y mantenidas, inhiben la secreción de GH en la hipófisis y la síntesis de colágeno en la matriz extracelular. Por todo ello, los cuadros clínicos de pubertad precoz central, pubertad precoz periférica, hiperplasia suprarrenal congénita, hipoplasia suprarrenal congénita, tumores suprarrenales, hipogonadismo hipogonadotropo e hipogonadismo hipergonadotropo, entre los más relevantes, requieren un tratamiento apropiado, al objeto de que el patrón de crecimiento genéticamente programado de estos pacientes se afecte lo menos posible.

V. Vitaminas: El ácido retinoico estimula selectivamente el promotor del gen de la hormona de crecimiento. Los metabolitos de la vitamina D regulan la actividad de los osteoblastos y la mineralización.

VI. Zinc: Es uno de los oligoelementos más importantes en el ser humano, como quiera que enzimas zinc-dependientes se encuentran implicadas en todas las etapas del ciclo celular y en una amplia variedad de vías metabólicas. La causa más frecuente de deficiencia severa es la acrodermatitis enteropática (enfermedad autosómica recesiva debida a un defecto parcial en la absorción de zinc).

VII. Factores locales de crecimiento: Muchos son los factores locales de crecimiento conocidos en la actualidad. Los factores de crecimiento semejantes a la insulina (IGF-I e IGF-II) son los más estudiados en el análisis del patrón de crecimiento humano. La deficiencia de IGF-I, el factor de crecimiento semejante a la insulina más importante, puede acontecer como consecuencia de un cuadro clínico de deficiencia de GH, de insuficiencia de GH, de resistencia a la acción de GH, e incluso, como consecuencia de una alteración genética del propio IGF-I. Junto a ellos, los factores de crecimiento epidérmico (EGF, TGF α , anfiregulina), los factores de crecimiento de los

fibroblastos (FGF ácido, FGF básico), los factores de crecimiento plaquetario y los factores transformadores β (TGF β 1, β 2, β 3, inhibinas, activinas, hormona antimülleriana, oncogenes) desempeñan una función relevante en el crecimiento de determinados tipos celulares.

Factores nutricionales responsables de la regulación del crecimiento humano

La nutrición ejerce su acción directa sobre las células para el mantenimiento del metabolismo, aumento de tamaño, multiplicación síntesis y secreción de sustancias. La nutrición regula de forma autocrina y paracrina la síntesis de factores tisulares estimulantes e inhibidores del crecimiento. Además, la nutrición regula de forma endocrina el crecimiento merced a la regulación de diferentes sistemas hormonales (GH, IGFs, hormonas tiroideas, insulina, GHbPs, IGFbPs, metabolismo fosfocálcico). En consecuencia, las cuadros clínicos de obesidad exógena, desnutrición y trastornos de la alimentación (anorexia nerviosa y bulimia nerviosa), se acompañan de alteraciones en la regulación del eje GH-periferia y pueden provocar alteraciones en el patrón de crecimiento de los sujetos afectos. En efecto, el patrón de secreción de GH, los niveles plasmáticos de IGFs, GHbPs e IGFbPs, se alteran en pacientes afectos de obesidad exógena y anorexia nerviosa⁽³⁹⁾.

Factores ambientales responsables de la regulación del crecimiento humano

Específicamente, la existencia de privación psicoafectiva puede desempeñar una función importante en la alteración del patrón de crecimiento programado. No obstante, en ocasiones se asocia la existencia de carencia afectiva y malnutrición, siendo complejo distinguir los efectos causados por una y por otra. En todo caso, hoy se admite que la privación psicoafectiva es capaz de originar, en algunos pacientes, hipocrecimiento, probablemente debido a la existencia de una deficiencia transitoria de GH que se corregiría al separar al niño del ambiente hostil en que se encuentra.

Comentarios finales

El crecimiento humano se encuentra genéticamente programado, estando sujeto a un patrón de herencia poligénico. Los factores hormonales, nutricionales, ambientales y emocionales, se encargan de cumplir los objetivos programados. En la actualidad se conocen diversas alteraciones en genes encargados de que se ejecute el patrón de crecimiento programado; estas anomalías pueden incluir al hipotálamo (gen del rGHRH), a la hipófisis (gen de Pit1 y gen de GH1), a la propia molécula de GH (GH biológicamente inactiva), al rGH y al IGF-I. Resta por saber si pudieran existir alteraciones en los genes del rIGF-I y de las IGFbPs, en particular el de la IGFbP-3.

La regulación hormonal del crecimiento humano es ciertamente compleja. La GH, la insulina, las hormonas tiroideas, los andrógenos, los estrógenos, los glucocorticoides, la vitamina A, los metabolitos de la vitamina D y el Zn, entre otros, desempeñan un papel relevante en la regulación del crecimiento, ya sea actuando sobre el eje

hipotálamo-hipofisario, ya sea actuando sobre el cartílago de crecimiento, ya sobre ambos.

Los factores nutricionales y, más específicamente, los marcadores nutricionales, se encuentran en intensa fase de investigación. Muy en particular, el estudio de los factores de crecimiento y sus proteínas de transporte, así como las proteínas de transporte de la GH, está proporcionando información de gran interés.

Finalmente, las situaciones de privación psicoafectiva pueden provocar situaciones de deficiencia transitoria de GH que se resolverían cambiando de medio ambiente al paciente.

Bibliografía

- Argente J, Chowen JA. Neuroendocrinology of growth hormone secretion. *Growth, Genetics & Hormones* 1994; **10**(2): 1-5.
- Illig R, Prader A, Ferrández A, Zachmann M. Hereditary prenatal growth hormone deficiency with increased tendency to growth hormone antibody formation («A type» isolated growth hormone deficiency). *Acta Paediatr Scand* [Suppl] 1971; **60**:607-612.
- Phillips III JA, Hjelle BL, Seeburg PH, Zachmann M. Molecular basis for familial isolated growth hormone deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; **78**:6372-6375.
- Vnencak-Jones CL, Phillips III JA. Hot spots for growth hormone gene deletions in homologous regions outside of Alu repeats. *Science* 1990; **250**:1745-1748.
- Phillips III JA. Inherited defects in growth hormone synthesis and action. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). *The metabolic basis of inherited disease*. 6ª ed. New York: McGraw-Hill; 1989; 1965-1983.
- Igarashi Y, Ogawa M, Kamijo T, et al. A new mutation causing inherited growth hormone deficiency: a compound heterozygote of a 6.7 kb deletion and a two base deletion in the third exon of the GH-1 gene. *Hum Mol Genet* 1993; **2**:1073-1074.
- Phillips III JA, Parks BL, Hielle JE, Plotnick LP. Genetic analysis of familial isolated growth hormone deficiency type I. *J Clin Invest* 1982; **70**:489-495.
- Phillips III JA, Cogan JD, Raskin S, Parker RA. Pedigree analysis of familial growth hormone deficiency. *Am J Hum Genet* 1992; **51**(Suppl): A1459.
- Cogan JD, Phillips III JA, Sakati NA, Frisch H, Schoeber E, Milner D. Heterogeneous growth hormone (GH) gene mutations in familial GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; **76**:1224-1228.
- Duquesnoy P, Amselem S, Gourmelem M, Le Bouc Y, Goossens MA frameshift mutation causing isolated growth hormone deficiency type IA. *Am J Hum Genet* 1990; **47**(Suppl): A1448.
- Pérez Jurado LA, Argente J, Raskin S, García F, Phillips III JA. Genetic analysis of familial isolated growth hormone deficiency type II. *Horm Res* 1992; **37**(Suppl 4): A198.
- Phillips JA III, Cogan JD, Pérez-Jurado LA, Prince MA, Miller-Davis S, Blizzard RM, Argente J, Bunday S, Francke U. *Molecular basis of autosomal dominant inheritance of familial GH deficiency*. 76th Annual Meeting of the Endocrine Society. Anaheim, CA; 1994, Abstract 320.
- Binder G, Wollmann H, Blum W, Ranke MB. Severe isolated growth hormone deficiency: Heterozygous donor splice site mutation of the GH-1 gene with skipping of the third exon. *Horm Res* 1994; **41**:78.
- Pérez-Jurado LA, Miller-Davis S, Phillips III JA, Argente J, Francke U. Mutations at intron 3 of the growth hormone (GH)-1 gene cause autosomal dominant isolated GH deficiency. *Horm Res* 1994; **41**:79.
- Fleisher TA, White RM, Broder S, Nissley SP, Blaese RM, Mulvihill JJ, Olive GY, Waldmann TA. X-linked hypogammaglobulinemia and isolated growth hormone deficiency. *N Engl J Med* 1980; **302**:1429-1434.
- Conley ME, Burks AW, Herrog HG, Puck JM. Molecular analysis of X-linked agammaglobulinemia with growth hormone deficiency. *J Pediatr* 1992; **119**:392-397.
- Tatsumi K, Miyai K, Notomi T, et al. Cretinism with combined hormone deficiency caused by a mutation in the Pit-1 gene. *Nature Genet* 1992; **1**:56-58.
- Pfäffle RW, DiMattia GE, Parks JS, et al. Mutation of the POU-specific domain of Pit-1 and hypopituitarism without pituitary hypoplasia. *Science* 1992; **257**:1118-1121.
- Radowick S, Nations M, Du Y, Berg LA, Weintraub BD, Wondirford FE. A mutation in the POU-homeodomain of Pit-1 responsible for combined pituitary hormone deficiency. *Science* 1992; **257**:1115-1118.
- Okamoto N, Wada Y, Ida S, Koga R, Ozono K, Chiyo H, Hayashi A, Tatsumi K. Monoallelic expression of normal mRNA in the PIT1 mutation heterozygotes with normal phenotype and biallelic expression in the abnormal phenotype. *Hum Mol Genet* 1994; **3**:1565-1568.
- Pérez-Jurado LA, Argente J. Molecular basis of familial growth hormone deficiency. *Horm Res* 1994; **42**:189-197.
- Ohta K, Nobukuni Y, Mitsubuchi H, et al. Characterization of the gene encoding human pituitary-specific transcription factor, Pit-1. *Gene* 1992; **122**:387-388.
- Mayo KE. Molecular cloning and expression of a pituitary-specific receptor for the growth hormone-releasing hormone. *Mol Endocrinol* 1992; **6**:1733-1744.
- Gaylinn BD, von Kap-Herr C, Golden W, Thorner MO. Assignment of the human growth hormone-releasing hormone receptor gene (GHRHR) to 7p14 by in situ hybridization. *Genomics* 1994; **19**:193-195.
- Cao Y, Wagner JK, Eblé A, Hindmarsh P, Mullis PE. BamHI RFLP for the GHRH locus. *Hum Mol Genet* 1994; **3**:682.
- Wajnrajch MP, Chua SC, Green ED, Leibel RL. Human growth hormone-releasing hormone receptor (GHRHR) maps to a YAC at chromosome 7p15. *Mammalian Genome* 1994; **5**:595.
- Wajnrajch MP, Gertner JM, Harbison MD, Chua SC Jr, Leibel RL. Nonsense mutation in the human growth hormone-releasing hormone receptor causes growth failure analogous to the little (lit) mouse. *Nature Genetics* 1996; **12**:88-90.
- Berg MA, Argente J, Chernausk S, et al. Diverse growth hormone receptor gene mutations in Laron dwarfism. *Am J Hum Genet* 1993; **52**:998-1005.
- Woods KA, Fraser NC, Rose SJ, Postel-Vinay MC, Savage MO, Clark AJL. *Molecular studies in Laron syndrome patients with normal growth hormone binding protein*. 77th Annual Meeting Endocrine Society, 1995: OR30-6 (Abstract).
- Goddard AD, Covello R, Luoh SM, Clackson T, Attie KM, Gesundheit N, Rundle AC, Wells JA, Carlsson LMS. Mutations of the growth hormone receptor in children with idiopathic short stature. *N Engl J Med* 1995; **333**:1093-1098.
- Takahashi Y, Kaji H, Okimura Y, Goji K, Abe H, Chihara K. Short stature caused by a mutant growth hormone. *N Engl J Med* 1996; **334**:432-436.
- Argente J, Barrios V, Pozo J, Muñoz MT, Hervás F, Stene M, Hernández M. Normative data for insulin-like growth factors (IGFs), IGF-binding proteins, and growth hormone-binding protein in a healthy Spanish pediatric population: age and sex related changes. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; **77**:1522-1528.

Hypoglycemia Unawareness in IDDM

C.G. Fanelli

After the introduction of insulin for the management of diabetes in 1924, attention was drawn to the phenomenon of hypoglycemia in patients with diabetes mellitus. Since then hypoglycemia has been recognized as the most important and potentially lethal side-effect of insulin treatment. Today, seventy years after the initial use of insulin, iatrogenic hypoglycemia is still a real problem in the life of people with insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). In fact, it is the limiting factor in the management of diabetes mellitus⁽¹⁾. It has been estimated that people with IDDM experience from one to two episodes of hypoglycemia a week. Ten per cent of those on conventional insulin treatment and 30% of those on intensive insulin treatment have one episode of severe hypoglycemia (coma, seizure or hospitalization) per year. Approximately four per cent of deaths of diabetics are attributed to hypoglycemia. The most important recognized factors which predispose people with IDDM to hypoglycemia are: 1) systemic hyper-insulinism due to the imperfect systems currently employed in replacing insulin in patients with IDDM, 2) defective glucose counter-regulation, a natural function of diabetes and 3) hypoglycemia unawareness.

Perception of the warning symptoms of hypoglycemia is a fundamental defense against it. In fact, recognition of the warning symptoms causes the patient to correct the impending hypoglycemia by eating. These warning symptoms of hypoglycemia (sweating, hunger, tingling, shakiness/tremor, palpitations and nervousness/anxiety) are due to the activation of the autonomic systems and are generated when the plasma glucose concentration reaches ~ 3.1 mM (~ 53 mg/dl). Normally, when patients experience these symptoms they feel the need to eat. If these symptoms are not recognized by patients, then the neuroglycopenic symptoms (warmth, weakness, difficulty in thinking/confusion, tiredness/drowsiness, faintness, dizziness, difficulty in speaking, and blurred vision) and cognitive dysfunction appear, making patients unable to carry out such necessary actions as eating in order to correct hypoglycemia and prevent its progression to severe hypoglycemia.

The clinical phenomenon of hypoglycemia unawareness is not a new one. Banting et al., Joslin et al., and Maddock described the occurrence of hypoglycemia without the autonomic premonitory symptoms in the 1920's. Further observations were later reported; however, the introduction of intensive insulin treatment in people

with IDDM has attracted greater attention to the issue of hypoglycemia unawareness.

Undoubtedly, hypoglycemia unawareness occurs mainly in diabetics who have recurrent episodes of hypoglycemia; however, the real prevalence of this phenomenon is not known. Based on an analysis of the literature, the estimated frequency of hypoglycemia unawareness is reportedly 25%, varying in relation to patients' age, duration of diabetes, autonomic neuropathy, and metabolic control. In addition, the risk of severe hypoglycemia is 10 times higher in patients with hypoglycemia unawareness as compared with patients who can perceive hypoglycemia at the onset.

The pathogenesis of hypoglycemia unawareness is not well known, most likely it is multifactorial. Gerich et al.⁽²⁾, have proposed three different pathogenetic mechanisms: 1) the central nervous system (CNS) does not recognize hypoglycemia; 2) the CNS recognizes hypoglycemia but the release of autonomic neurotransmitters (catecholamines) is not adequate to generate symptoms, or 3) peripheral tissues do not respond to autonomic neurotransmitters.

The first proposed mechanism is based on the hypothesis that the CNS adapts to hypoglycemia. In other words, frequent exposure to hypoglycemia causes the cerebral glucose transport to increase so as to meet the cerebral metabolic needs. The CNS fails to recognize systemic hypoglycemia and it does not initiate the appropriate defensive responses. Indeed, studies in animals have shown that chronic hypoglycemia increases the transport and uptake of glucose in several areas in the brain.

The second postulated mechanism is based on the observation that the response of epinephrine to hypoglycemia is reduced in diabetics with hypoglycemia unawareness and in those with autonomic neuropathy. For that reason, hypoglycemia unawareness has long been considered the direct result of diabetic autonomic neuropathy. However, the fact that hypoglycemia unawareness is often seen in young diabetics without autonomic neuropathy and also in patients with insulinoma who are not affected by any type of autonomic neuropathy militates against this hypothesis. Furthermore, in diabetics with hypoglycemia unawareness, the reduced response of epinephrine is specific for hypoglycemia. In contrast, in those with the classical diabetic autonomic neuropathy, the epinephrine response is reduced for other stimuli (e.g., exercise) as well.

The third possible mechanism postulates that hypoglycemia unawareness is caused by reduced responses to catecholamines in peripheral tissues. The increased exposure to catecholamines during recurrent hypoglycemia results in reduced sensitivity of beta-adrenergic

Division of Endocrinology, Diabetes and Metabolism. Washington University School of Medicine. St. Louis, Missouri (USA).

receptors to the catecholamines. While this hypothesis deserves consideration, it does not explain why hypoglycemic symptoms of cholinergic origin (e.g., sweating) are also reduced.

The use of human insulin has also been thought to cause hypoglycemia unawareness. This hypothesis developed when it was observed that patients who replaced animal insulin with human insulin exhibited a reduction of autonomic symptoms during hypoglycemia. However, most of the controlled studies to investigate this differential effect have shown no substantial difference. Hypoglycemia unawareness is frequent both during treatment with human and animal insulin.

It seems evident that factors like autonomic neuropathy and reduced sensitivity to catecholamines in peripheral tissues may play a contributory role in the pathogenesis of hypoglycemia unawareness. However, the adaptation of the CNS to hypoglycemia represents a critical moment in the pathogenesis of this phenomenon because it impairs the cerebral recognition of hypoglycemia (which is the first step in initiating the defensive responses). A cerebral adaptation to hypoglycemia would also explain why patients with insulinoma experience hypoglycemia unawareness.

The cerebral adaptation to hypoglycemia has been definitively demonstrated in animals. In rats the adaptive increase of cerebral glucose transport after 36 hours of hypoglycemia is sustained by a greater availability of glucose transporters GLUT-1 and GLUT-3 in the endothelial portion of the blood-brain barrier. These glucose transporters are insulin-insensitive and are responsible for the basal glucose uptake. In particular, the GLUT-1 has a relatively high affinity for glucose ($K_m = 1-2.5$ mM) and therefore provides efficient transport even under conditions of low circulating glucose.

In humans the best evidence for a cerebral adaptation to hypoglycemia can be found in experiments by Boyle et al., in which the cerebral glucose uptake, measured by means of the classic arterial-venous difference technique, was increased after 56 hours of hypoglycemia in non-diabetics⁽³⁾. Other experimental investigations in non-diabetics have shown reduced responses of symptoms and counter-regulatory hormones during experimental hypoglycemia induced 16-18 hours after a single and short episode of hypoglycemia. Therefore, these data suggest that antecedent hypoglycemia can induce the phenomenon of hypoglycemia unawareness and can be considered as the major factor involved in the pathogenesis of hypoglycemia unawareness.

It logically follows from the hypothesis that antecedent hypoglycemia causes hypoglycemia unawareness that prevention of iatrogenic hypoglycemia might reverse hypoglycemia unawareness. This is seen in patients with insulinoma who, after removal of the tumor, no longer experience hypoglycemia and the subsequent hypoglycemia unawareness⁽⁴⁾.

To test the hypothesis of the reversibility of hypoglycemia unawareness in IDDM, 16 diabetics on intensive insulin treatment and having a history of hypoglycemia unawareness were studied initially, after two weeks, after three months and after one year of meticulous prevention of iatrogenic hypoglycemia. The initial HbA1c was 5.8%. The initial symptomatic responses to experimental hypoglycemia were clearly reduced compared with those of non-diabetics. However, after only two weeks of prevention of hypoglycemia the responses improved

and were normal after three months. Their responses were still normal after one year of prevention of hypoglycemia⁽⁵⁾. The response of counter-regulatory hormones improved but did not normalize, and the overall metabolic control was definitely good as indicated by the value of HbA1c of 7.1% at one year.

These results suggest a series of considerations:

- 1) Hypoglycemia unawareness is reversible to the extent of hypoglycemia prevention. From a strictly pathogenetic standpoint, that means recurrent hypoglycemia is the cause (or the main cause) of hypoglycemia unawareness;
- 2) It is possible to maintain long-term (one year) normal awareness of hypoglycemia during intensive insulin treatment as well as a good metabolic control;
- 3) The type of insulin (human vs. animal) plays no role in the pathogenesis of hypoglycemia unawareness since patients used the same type of insulin (human) before and after entering the study;
- 4) Although the prevention of hypoglycemia normalized the symptoms of hypoglycemia, the response of counter-regulatory hormones, especially epinephrine, remained partially reduced after one year. Therefore, the release of epinephrine is not the only factor involved in the genesis of autonomic symptoms of hypoglycemia;
- 5) Since hypoglycemia unawareness is associated with a high frequency of severe hypoglycemia, the recovery of symptoms might reduce the frequency of severe hypoglycemia in these patients.

In conclusion, when subjected to recurrent hypoglycemia, the CNS utilizes a greater percentage of available glucose and can keep its function normal despite low plasma glucose concentrations. Consequently, hypoglycemia is not recognized by the brain. Hence, the autonomic symptoms are not triggered. In this scenario the risk of further and severe hypoglycemia is increased. Fortunately, meticulous prevention of hypoglycemia during intensive insulin treatment can correct the vicious cycle of hypoglycemia⁽⁶⁾.

References

- 1 Cryer PE. Hypoglycemia: the limiting factor in the management of IDDM. *Diabetes* 1994;**43**:1378-1389.
- 2 Gerich J, Mokan M, Veneman T, Korytkowski M, Mitrakou A. Hypoglycemia Unawareness. *Endo Rev* 1991;**12**:356-371.
- 3 Boyle PJ, Nagy RJ, O'Connor A, Kempers SF, Yeo RA, Qualls C. Adaptation in brain glucose uptake following recurrent hypoglycemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;**91**:9352-9356.
- 4 Mitrakou A, Fanelli C, Veneman T, Periello G, Calderone S, Platanisiotis D, Rambotti A, Rapis S, Brunetti P, Cryer P, Gerich J, Boli G. Reversibility of unawareness of hypoglycemia in patients with insulinoma. *N Engl J Med* 1993;**329**:834-9.
- 5 Fanelli C, Pampanelli S, Epifano L, Rambotti A, Di Vincenzo A, Modarelli F, Ciofetta M, Lepore M, Annibale B, Torlone E, Perriello G, De Feo P, Santeusano F, Brunetti P, Bolli GB. Long term recovery from unawareness, deficient counterregulation and lack of cognitive dysfunction during hypoglycemia, following institution of rational, intensive insulin therapy in IDDM. *Diabetologia* 1994;**37**:1265-1276.
- 6 Cryer PE. Hypoglycemia begets hypoglycemia in IDDM. *Diabetes* 1993;**42**:1691-1693.

1 ESTUDIO DE LA SUBUNIDAD ACIDO LABIL (SAL) DEL COMPLEJO TERNARIO DEL FACTOR DE CRECIMIENTO TIPO INSULINA (IGF) EN NIÑOS NORMALES, CON DÉFICIT DE HORMONA DE CRECIMIENTO (DGH) Y CON DÉFICIT DEL RECEPTOR DE LA GH (DRGH) ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO

Labarta JL^{1,2*}, Gargosky SE², Lee PDK³, Argente J⁴, Mayayo E¹,
Ferrández A¹, Guevara-Aguirre J⁵, Rosenfeld RG²

¹S. de Endocrinología, Hospital Infantil Miguel Servet, Zaragoza; ²Dpto. de Pediatría, Oregon Health Sciences University, Portland, USA; ³Diagnostic Systems Laboratories, USA; ⁴S. de Endocrinología, Hospital Niño Jesús, Madrid; ⁵Instituto de Endocrinología y Metabolismo, Quito, Ecuador.
(*F.I.S. BAE: 94/5373).

La subunidad ácido labil (SAL) es una proteína perteneciente al complejo ternario del sistema IGF formado además por IGF-I o -II y la proteína transportadora-3 del IGF (IGFBP-3). Se conoce la GH dependencia del IGF-I y de la IGFBP-3 pero no la regulación de la SAL. El objetivo del trabajo es determinar si su regulación es directamente dependiente de la GH o indirectamente vía IGF-I y estudiar su presencia en distintos líquidos biológicos.

Material y Métodos. Se examinaron los niveles de SAL mediante western immunoblot y análisis desitométrico en niños con DGH (n=4), DRGH (n=7), antes y después de doce meses de tratamiento con rhGH e rhIGF-I (donación de Pharmacia) respectivamente, en niños (n=68)/adultos (n=5) normales y en líquidos biológicos. Los resultados se expresan en relación a un suero-control.

Resultados. Se detecta la presencia de SAL como una proteína de 85 kDa en suero, plasma, líquido folicular, peritoneal y sinovial pero no en líquido seminal, amniótico, celómico extraembrionario ni orina. La SAL es edad dependiente con niveles bajos en el recién nacido y prepuberal (46% y 54%) y aumento durante la adolescencia (70%) permaneciendo constantes en la edad adulta (62%). La SAL está disminuida significativamente en niños con DGH (26%, p=0,02) y DRGH (25%, p=0,001) en comparación con niños control, si bien los valores basales muestran una cierta variabilidad. El tratamiento con rhGH en el DGH produce un incremento significativo a los seis meses de tratamiento (70%, p=0,01) que se mantiene al año (68%, p=0,006) normalizando los niveles del SAL. La administración de rhIGF-I no es capaz de incrementar y normalizar los niveles de SAL en el DRGH.

Conclusión. La SAL está regulada directamente por la GH, y no por la acción endocrina del IGF-I, y se demuestra su presencia en líquidos extraplasmáticos por ser capaz de atravesar la membrana capilar y/o ser sintetizada periféricamente.

2 UTILIDAD DE LAS DETERMINACIONES DE IGF-I, IGFBP-3 Y GHBP EN EL DIAGNOSTICO DEL RETRASO DE CRECIMIENTO

Audí L¹, Granada ML², Llopis MA², Hermoso F³, Del Valle J³,
Rodríguez-Arnao MD³, Rodríguez A³, Bel J, Sanmartí A³, Luzuriaga C³,
Gallego E³, Rivas F³, Marcos MV³, Cañete R³, Tarazona I⁴, Marín F⁴

¹Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron, Barcelona. ²Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona. ³Hospitales participantes. ⁴Dpto. Médico Lilly, Madrid.

Objetivos: valorar la utilidad diagnóstica de las determinaciones de IGF-I, IGFBP-3, GH en orina y GHBP en pacientes con talla baja (talla < P3 y vc < P25).

Material y métodos: 61 pacientes varones prepuberales fueron clasificados según criterios auxológicos y hormonales en 3 grupos: A)

Déficit clásico de GH (n=15) por las respuestas de GH a los test de hipoglucemia insulínica y clonidina inferiores a 7,5 ng/ml según la técnica de Hybritech; B) Talla baja idiopática (n=34) (respuesta de GH > 7,5 ng/ml en, como mínimo, uno de los 2 test señalados anteriormente) y C) Control (n=12). En todos ellos se realizaron 2 determinaciones de GH en orina e IGF-I (Biomérieux), IGFBP-3 (Nichols) y GHBP (unión específica y separación por HPLC).

Resultados: La comparación de los 2 grupos de talla baja (A y B) permite demostrar que no existen diferencias significativas para las medias de los valores absolutos de IGF-I y de IGFBP-3; en cambio, tras la transformación en SDS de IGF-I e IGFBP-3 existen diferencias significativas (p<0,006 y p<0,01 respectivamente). No se han observado diferencias entre grupos para la GH en orina ni para la GHBP, aunque en el grupo B existe 1 caso con GHBP < (M-2SDS), sugestivo de posible resistencia a la GH. Se han estudiado los coeficientes de correlación entre los diferentes parámetros hormonales y auxológicos. El análisis de regresión lineal múltiple permite demostrar que los mejores predictivos de la vc-SDS son el IGF-I-SDS, el pico de GH en el test de clonidina y la IGFBP-3-SDS. El análisis de concordancia de los parámetros hormonales duplicados señala coeficientes de correlación intraclass para el IGF-I (0,904), la GHBP (0,731), la IGFBP-3 (0,589) y la GH en orina (0,589). Se han valorado las curvas ROC de los parámetros hormonales estudiados para determinar el punto de corte óptimo que maximice la sensibilidad y especificidad de las pruebas.

Conclusiones: En la serie estudiada los parámetros hormonales que mejor permiten diferencia los niños con talla baja y déficit clásico de secreción de GH son IGF-I en SDS seguido de la IGFBP-3 en SDS. Las concentraciones de GHBP han permitido detectar en el grupo sin déficit de GH un 2,9 % de posibles resistencias a la GH.

3 VARIABILIDAD DE LAS CONCENTRACIONES DE GH EN PRUEBAS DE ESTIMULACION AGUDA DE LA SECRECION DE GH EN FUNCION DE 5 IMMUNOENSAYOS DISTINTOS

Audí L¹, Casamitjana R², Granada ML³, Maurí M⁴, Navarro MA⁵,
Potau N⁶, Rodríguez-Espinosa J⁷, Valls C⁸

¹Hospital Vall d'Hebron, Barcelona. ²Hospital Clínic, Barcelona. ³Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona. ⁴Hospital General de Alicante. ⁵Ciudad Sanitaria de Bellvitge, Hospitalet del Llobregat. ⁶Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebró, Barcelona. ⁷Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. ⁸Hospital Sant Joan de Deu, Barcelona.

Objetivos: Estudiar la variabilidad de las concentraciones de GH detectadas en sueros procedentes de pruebas de estimulación aguda de la secreción de GH según los inmunoensayos actualmente utilizados en los principales Hospitales públicos del área de Barcelona y Alicante.

Material y Método: en los sueros procedentes de un total de 86 pruebas de estimulación aguda de la secreción de GH se midió la concentración de hGH mediante 5 inmunoensayos distintos (Biomérieux, Farnos, Hybritech, Nichols y Sorin). Los resultados obtenidos en el suero con concentración máxima para cada prueba (pico de estimulación) han sido comparados mediante el test de Wilcoxon. Así mismo se han estudiado las correlaciones entre los distintos ensayos y se han calculado los porcentajes de resultados inferiores a distintos límites.

Resultados: El estudio de comparación del pico máximo alcanzado por la concentración sérica de GH muestra los siguientes resultados: Farnos= 19,7±10,8 ng/ml (M±DS); Sorin= 15,9±8,5; Biomérieux= 11,5±8,5; Nichols= 10,0+/-6,0; Hybritech= 9,3±5,1. Los resultados de Farnos son significativamente más elevados que los de los otros 4 im-

immunoensayos; los de Sorin son inferiores a Farmos pero superiores a los otros 3 restantes; los de Biomérieux son inferiores a Farmos y Sorin pero superiores a Nichols e Hybritech; los de Nichols son inferiores a Farmos, Sorin y Biomérieux pero superiores a Hybritech y, finalmente, los resultados de Hybritech son inferiores a los de todos los demás. Ningún ensayo da resultados estadísticamente similar al de otro. En consecuencia, los porcentajes de respuestas inferiores a distintos límites varían significativamente entre los 5 immunoensayos.

Conclusiones: Los immunoensayos comercialmente disponibles no permiten aplicar los mismos criterios para la delimitación de la posible adecuación de la secreción de Gh. Ello es debido a las diferencias existentes entre los diversos estándares internacionales todavía utilizados, a las distintas especificidades de los anticuerpos policlonales o monoclonales utilizados y la heterogeneidad molecular de la GH circulante en suero.

4

TALLA FINAL EN NIÑOS CON TALLA BAJA IDIOPÁTICA Y VELOCIDAD DE CRECIMIENTO DISMINUIDA TRATADOS CON HORMONA DE CRECIMIENTO

López Siguero JP, Martínez-Aedo Ollero MJ, Moreno Molina JA
Endocrinología Pediátrica. Departamento de Pediatría. Hospital Infantil. Málaga.

Objetivos: 1) Evaluar la eficacia del tratamiento con GH sobre talla final en 20 varones con talla baja idiopática. 2) Valorar la influencia de algunos factores auxológicos en la talla final.

Pacientes y Metodología: Estudio longitudinal controlado con un grupo histórico. Criterios de inclusión en ambos grupos: 1) Talla inicial < -2 DS. 2) Velocidad de crecimiento previa (VCP) < -1DS. 3) Edad ósea (RCC TW2) < 11. 4) GH normal (estímulo). 5) Exclusión de otras causas de talla baja. Al inicio se incluyeron 25 niños en el grupo tratado, retirándose 5 durante el seguimiento. Los resultados se comparan intra e intergrupo con t-Student pareada y no pareada respectivamente. Se realiza un análisis multivariante (Regresión por pasos) considerando la talla final (TF) como variable dependiente y como independientes: Edad inicial (EI), Talla inicial en SDS (TI), Talla diana en SDS (TD), Pronóstico de talla inicial en SDS (PTI), Edad de inicio pubertad (EIP), Ganancia de talla puberal (GTP) y Velocidad de crecimiento al primer año (VCI).

Resultados: Los resultados descriptivos, en media (DS), y de comparación entre los grupos se muestran en la tabla I. Existió una diferencia significativa entre TD y TF en el grupo control ($p=0,0001$) y no significativa en el grupo tratado ($p=0,12$). No hubo diferencias significativas entre PTI y TF en el grupo control ($p=0,72$) y si en el trata-

Tabla I

	Control (n=44)	Tratado (n=20)	Diferenc
EI	10,7(2,2)	11,4(1,3)	NS(p=0,17)
TI	-2,38(0,4)	-2,84(0,52)	p=0,0004
TD	-1,45(0,6)	-1,66(0,50)	NS(p=0,19)
PTI	-2,01(0,68)	-2,17(0,71)	NS(p=0,42)
VCP	3,4(0,62)	3,5(0,67)	NS
EIP	13,25(1,1)	13,52(1,27)	NS(p=0,39)
GTP	23,7(3,7)	25,15(5,4)	NS(p=0,22)
TF	-2,01(0,7)	-1,46(0,7)	p=0,006

Tabla II

	Control		Tratado	
	F	P	F	P
EI	18,1	0,0002	8,1	0,01
TI	45,1	0,0000	18,0	0,001
PTI	8,6	0,006	9,8	0,009
TD	-	-	58	0,0000
EIP	5,9	0,02	5,6	0,03
GTP	29	0,0000	34,1	0,0001
VCI	-	-	16,0	0,002
Modelo	17,9	0,0000	21,4	0,0000
		R ² =0,76		R ² =0,93

do ($p=0,0000$). La TF superó significativamente a la TI, tanto en el grupo control ($p=0,004$) como en el tratado ($p=0,0000$). Los resultados de la regresión por pasos se muestra en tabla II.

Conclusiones: 1) La talla final en el grupo tratado mejoró significativamente tanto en el análisis longitudinal como con respecto al grupo control. 2) Los factores auxológicos considerados explican el 93% de la variación de la talla final, sobre todo la talla diana y la ganancia de talla puberal.

5

RETRASO CONSTITUCIONAL DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO: ESTUDIO RETROSPECTIVO DE 108 CASOS

Soria J, Valle A, Mayayo E, Labarta JL, Martínez M, Ferrández A
Unidad de Endocrinología Pediátrica. H. Infantil «Miguel Servet» Zaragoza.

Introducción: Con el fin de analizar algunas características de esta entidad y el posible beneficio de las medidas terapéuticas sobre la talla alcanzada, se han comparado los casos tratados con los no-tratados.

Material y métodos: Nº total de casos: 108 (No tratados: 75, Tratados con hGH: 21, Tratados con oxandrolona: 12). Edad 1ª visita: 10±3,5 a. Varones 64%, mujeres 36%. Talla, edad ósea (G-P): En SDS con respecto a Centro Andrea Prader hasta los 11 a. y E. Zürich > 11 a. Límites puberales: E. Zürich. Tratados hGH: 0,54 U/Kg/s. Tratados con oxandrolona: 0,039 mg/Kg/d.

Resultados: Talla: control 1º: -2,4±0,5. Inicio pubertad: -2,2±0,5. Fin. Pub.: -1,7±0,6 ($p<0,001$). Fin crecimiento: -1,3±0,8 ($p<0,01$), n=41 (TH: -1,6±0,7, N.S.). Edad ósea: Control 1º: -2,3±0,8. Inicio pub.: -1,7±0,7 ($p<0,001$). Fin pub.: -0,8±1,0 ($p<0,001$). **Pronósticos de crecimiento (PC):** control 1º: -1,2±0,6. Media PC prepuberales: -1,4±0,6 (NS). Inicio pub: -1,2±0,6 (NS). Media PC puberales: -1,2±0,6 (NS). Fin pub: -1,3±0,7 (NS). **Pubertad niñas:** B2: 12,7±0,5 a ($p<0,001$). B5: 15,7±1,0 ($p<0,001$). M: 14,2±0,7 a. ($p<0,05$). B2-B5: 2,9±0,9 a (NS). B2-M: 1,4±0,5 ($p<0,001$). **Pubertad niños:** Testes 4 cc: 13,2±1,1 a ($p<0,001$). Testes adulto: 16,4±1,9 ($p<0,001$). Testes 4 cc-adulto: 3,1±1,6 a. (NS). GH: media prepuberal 14,8±10,09 ng/ml; media puberal 14,08±9,1. **Factores mal pronóstico Talla Final:** Antecedentes familiares de RCCD ($p<0,001$), talla baja en control 1º ($p<0,001$), PC bajos ($p<0,001$), ΔB2-M corto ($p<0,001$), sexo femenino ($p<0,01$), madre tardana ($p<0,01$), madre con baja talla ($p<0,01$). **Tratados hGH:** Control 1º: -2,6±0,5. T Def: -1,5±0,7. TDef-TH: -0,06±0,5. NS vs grupo evolución espontánea. **Tratados oxandrolona:** Control 1º: -3,1±0,9. T Def: -2,3±0,8. TDef-TH: -0,3±0,8. NS vs grupo similar no tratado.

Conclusiones: El RCCD puede ser sospechado antes de la puber-

tad pero sólo confirmado con el paso de los años. Algunos no-respondedores de GH prepuberales muestran una normalización de la respuesta durante la pubertad. El PC permanece constante a lo largo de los años. Las tallas finales más bajas están correlacionadas con los antecedentes familiares, especialmente los casos con madre con talla baja y retraso de la maduración, período B2-M corto, talla inicial baja y bajos PC. La talla final de los casos no tratados no muestra diferencias significativas respecto a los casos tratados con hGH u oxandrolona.

6

HIPOFISITARISMO CONGÉNITO COMO EXPRESIÓN DE ANOMALIA DE LA LÍNEA MEDIA

Parejo R, San Millán J, Barrio R, Roldán B, Moreno JC, Ros P, Alonso M

Endocrinología Pediátrica y Radiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

La alta incidencia de anomalías morfológicas de la región hipotálamo hipofisaria (HH) en el hipofisitarismo congénito (HC) es cada día más evidente. El origen de estas alteraciones parece ser congénito, formando parte del síndrome displásico septo-óptico esquisencefálico.

Objetivo: Analizar las alteraciones morfológicas cerebrales y la función hipofisaria en pacientes con HC.

Pacientes y métodos: Estudiamos 18 pacientes (16 V, 2 M.), con edad media al estudio de 14,6 a. (4,2 - 22,6 a), y al diagnóstico de 7,1 a. (1,8 - 15,3). El motivo de consulta fue: talla baja en 12, hipogluce-mia en 3, amaurosis en 2 y criptorquidia en 1 caso.

Estudiamos la función de la adeno y neurohipófisis y la morfología cerebral, con especial énfasis de la región HH (tamaño hipofisario, tallo y localización de neurohipófisis) con RM en T1 y T2.

Resultados: El único paciente con RM normal presentó déficit aislado de GH. Ocho pacientes con alteración morfológica exclusiva de la región HH presentaban déficit GH, TSH, LH, FSH y ACTH (este déficit en 7/8). Y nueve pacientes con alteraciones cerebrales asociadas (agenesia o hipoplasia de cuerpo caloso, ausencia del septum pellucidum, hipoplasia de quiasma y/o nervios ópticos, platibasia y esquisencefalia) presentaban déficit de GH 9/9, TSH 6/9, ACTH 4/9 y LH/FSH 2/4, con 5 pacientes no valorables por la edad.

Conclusiones: 1º. La anomalía de la región HH en el HC es casi constante. Frecuentemente se asocian otros defectos cerebrales. 2. La alteración de la función de la adenohipófisis es más intensa en los casos con afectación exclusiva de la región HH.

Hipótesis: La intensidad de la afectación endocrinología podría estar en relación con el diferente momento en que se produce el insulto embriológico.

7

EL TRATAMIENTO CON rhGH EN CATALUÑA: ESTUDIO OBSERVACIONAL DE LOS TRATAMIENTOS FINALIZADOS

Gilabert A, Audí L, Lloveras G, Martí C, Rodríguez F, Vicens E, Vilardell E, Webb S, Serra J, Sedano E

Consejo Asesor sobre la utilización terapéutica de la hormona de crecimiento y sustancias relacionadas. Servicio Catalán de la Salud. Barcelona.

En base al registro de tratamientos autorizados con rhGH por el Consejo Asesor sobre la utilización terapéutica de la hormona de crecimiento y sustancias relacionadas del Servicio Catalán de la

Salud desde 1988 (total autorizaciones = 2378; incidencia acumulada 1988-95 = 23,9 casos/10⁵ hab. 0-14 años; tratamiento vigentes y prevalencia a 31/12/95 = 664 y 62 casos/10⁵ hab. 0-14 años) se han estudiado las principales características clínico-epidemiológicas y los resultados al final de la terapéutica de 649 casos. Las causas principales de finalización del tratamiento son: talla final o próxima a la final (29,6%), talla adecuada pero aún con potencialidad de crecimiento (25,4%), respuesta insuficiente (20,5%), voluntad del paciente (9,5%), no cumplimiento (4,6%), y reacciones adversas (0,7%). Del estudio detallado del grupo que finaliza el tratamiento a talla final o próxima a la final (n=162) se observan los siguientes resultados: a) Correlación lineal positiva de la SDS talla final con la SDS talla inicio (r=0,381; p<0,001) y con la SDS talla diana (r=0,321; p<0,001); b) El incremento de SDS talla medio estimado es entre 1,4 y 1,5 SDS (IC95%), el cual se produce principalmente durante el primer año cuando la velocidad de crecimiento es máxima; c) El 41,4% de la variabilidad del incremento de SDS talla al final del tratamiento puede explicarse por el modelo de regresión múltiple siguiente: $\Delta\text{SDS talla} = -0,33 + 0,29 \text{ SDS talla diana} - 0,68 \text{ SDS talla inicio}$. Por otro lado, el grupo de tratamientos finalizados con una respuesta insuficiente ($\Delta\text{SDS talla medio} = 0 \pm 0,5 \text{ SDS}$) presenta una mejor SDS talla al inicio, peor SDS talla diana, menos diagnósticos de déficit múltiple y déficit clásico de GH, más diagnósticos de déficit parcial de GH y otras causas de talla baja, y más casos de talla baja familiar.

8

METABOLISMO ÓSEO EN PACIENTES CON DÉFICIT AISLADO IDIOPÁTICO DE HORMONA DE CRECIMIENTO DE INICIO PUBERAL. RELACION CON EL TRATAMIENTO CON HORMONA DE CRECIMIENTO

Enrubia M, Gussinyé M, Vargas D, Del Río L, Yeste D, Audí L, Carrascosa A

Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebrón. Universidad Autónoma. Barcelona.

La densidad mineral ósea (DMO) a nivel de columna lumbar medida por DEXA, los valores plasmáticos de IGF I, IGFBP3, marcadores de metabolismo óseo (fosfatasa alcalina, osteocalcina, colágeno I, telopéptido y deoxipiridinolina) y GH urinaria fueron valorados en 4 grupos de pacientes con déficit aislado idiopático de GH.

En el grupo A (36 pacientes prepuberales) la DES de DMO antes de iniciar la terapia con GH fueron $-1,59 \pm 0,6$ (p<0,01 vs controles). En el grupo B, n=34, les DES de DMO al finalizar el tratamiento con GH (talla adulta) fueron $-0,34 \pm 1,0$ (p<0,05 vs grupo A). En el grupo C, n=25, las DES de DMO en la edad adulta $19 \pm 4,4$ meses después de finalización de la terapia con GH, fueron $-0,51 \pm 1,1$. En el grupo D las DES de DMO en la edad adulta $64,6 \pm 24,3$ meses tras finalizar la terapia con GH fueron $-0,84 \pm 0,56$. El tratamiento con GH duró 4 ó más años en los grupos B, C, D y un incremento significativo (p<0,01) de una ó más DE de altura fue observado. El número de pacientes con DMO inferiores a -1 DE fue: 78%, 29%, 41% y 63% para los grupos A, B, C y D respectivamente.

Un incremento significativo en los valores de IGF I, IGFBP3, GH urinaria, y marcadores de metabolismo óseo fue observado durante el tratamiento con GH, seguido de una disminución progresiva tras su finalización.

En conclusión, nuestros resultados muestran que el metabolismo óseo está claramente influenciado por la terapia con GH en los pacientes deficitarios de GH.

METABOLISMO OSEO EN ADOLESCENTES DE SEXO FEMENINO CON ANOREXIA NERVIOSA

Vargas D, Audí L, Enrubia M, Gussinye M, Carrascosa A
Hospital Materno-Infantil Vall de Hebrón. Universidad Autónoma. Barcelona.

Se ha estudiado el metabolismo óseo en pacientes de sexo femenino con anorexia nerviosa, en 3 situaciones clínicas distintas: A- malnutridas y amenorreicas; B- renutridas pero amenorreicas; C- renutridas y con ciclos menstruales regulares.

	Grupo A	Grupo B	Grupo C
Número	34	20	19
Edad(a) (M±DS)	16,9±1,6	17,2±1,8	17,6±1,8
IMC (SDS)	-2,1±1,6	0,1±0,7*	-0,04±0,6*
Amenorrea (meses)	14,0±9,0	19,0±12,0	0
Menstruaciones (meses)	0	0	10,0±0,6
DMO (SDS)	-1,03±1,6	-1,11±1,2	-0,8±0,8
IGF-I (ng/ml)	218±97	294±110*	297±88*
E2 (pg/ml)	10,7±11,4	30,8±14,6*	53,9±42,3**
SHBG (mmol/l)	78±34	58±26*	57±22*
OST (ng/ml)	4,8±2,3	7,5±4,4*	5,9±2,8
FAO (ng/ml)	13,8±5,2	19,2±5,8*	20,1±3,7*
PINP (ng/ml)	45,8±20,0	95,3±56,4*	99,0±26,4*
PICP (ng/ml)	146,4±64,5	192,9±62,4*	146,8±37,4**
ICTP (ng/ml)	12,0±9,9	8,0±3,9	6,4±1,5*
oDoxy (nmol/Creat)	8,7±4,4	7,8±4,2	6,6±2,7*

*p<0,05 versus grupo A **p<0,05 versus grupo B.

En el grupo A el IGF-I está disminuido y los marcadores de formación ósea están dentro de los límites de la normalidad, mientras que los marcadores de resorción ósea son elevados, indicando un desacoplamiento en el remodelado óseo, a favor de la resorción. En esta situación la secreción de estradiol es muy baja. Cuando las pacientes han recuperado peso (grupo B), el IGF-I ha aumentado significativamente así como el estradiol mientras que la SHBG ha disminuido. El patrón de remodelado óseo ha cambiado por un aumento en la formación ósea y una tendencia a la disminución de la resorción. En el grupo C, cuando las pacientes han recuperado la función cíclica ovárica, los marcadores de resorción ósea han disminuido significativamente y el estradiol ha aumentado de nuevo; los marcadores de formación ósea mantienen niveles similares (excepto el PICP) como consecuencia del mantenimiento de los niveles de IGF-I. La DMO no ha cambiado significativamente aunque tiende a aumentar en C. En resumen, nuestros resultados subrayan la importancia de la nutrición y de los estrógenos en el metabolismo óseo.

DENSIDAD MINERAL OSEA EN ADOLESCENTES CON TRASTORNOS ALIMENTARIOS

Muñoz MT¹, Morande G², García-Centenera JA³, Hervás F³, Argente J¹
Universidad Autónoma. Hospital Niño Jesús. ¹Secciones de Endocrinología y ²Psiquiatría. Hospital Santa Cristina. ³Sección de Endocrinología. Madrid.

Aunque la osteopenia es una consecuencia grave de los estados

de malnutrición, los mecanismos de esta pérdida de masa ósea no están bien establecidos.

Objetivo: Estudiar los efectos de los trastornos alimentarios en pacientes con anorexia nerviosa (AN) y bulimia nerviosa (BN) sobre la densidad mineral ósea (DMO).

Sujetos y Métodos: Se estudian 38 pacientes afectas de AN con amenorrea secundaria (edad media: 17,4±1,5) (Grupo I), 8 pacientes con AN y amenorrea primaria (edad 15,3±1,7) (Grupo II) y 8 con bulimia nerviosa y ciclos menstruales regulares (edad media: 19±1,6) (Grupo III). Las variables clínicas estudiadas incluyeron: índice de masa corporal (IMC), meses de amenorrea e intervalo entre la menarquia y la aparición de la amenorrea. Se determinaron los niveles en plasma de calcio, fósforo, fosfatasa alcalina tartratoresistente, PTH, osteocalcina y estradiol. La DMO se determinó con un aparato Hologic QDR 2000, a nivel de columna lumbar (L2-L4).

Resultados: La DMO expresada en gramos/cm² era significativamente más baja en los grupos I y II con respecto al grupo control (p<0,0001), y estaba más disminuida en el grupo II que en el grupo I (p<0,001). En el grupo I, 20 pacientes mostraban una DMO menor de 2 DE respecto a la media, en el grupo II todas las pacientes estaban por debajo de 2 DE y en el grupo III se encontraban dentro de los límites de la normalidad. Aquellas pacientes del grupo I que llevaban más de tres años con amenorrea tenían una DMO significativamente más baja (p<0,05) que las que llevaban igual o menos de tres años.

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
DMO (L2-L4)	0,840±0,08	0,724±0,03	1,015±0,13

Conclusiones: 1) Las pacientes con AN presentan una disminución significativa de la DMO. 2) Dicha disminución es más intensa en aquellas pacientes con amenorrea primaria, lo que sugiere que además que los factores nutricionales, la falta de exposición a los estrógenos es uno de los factores determinantes en la génesis de la osteopenia.

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE ESTROGENOS EN LA DENSIDAD MINERAL OSEA EN ADOLESCENTES CON ANOREXIA NERVIOSA (AN)

Muñoz MT¹, Morandé G², García-Centenera JA³, Hervás F³, Argente J¹
¹Secciones de Endocrinología y ²Psiquiatría. Hospital Niño Jesús. Universidad Autónoma. ³Sección de Endocrinología. Hospital Santa Cristina. Madrid.

Se estima que el 50% de los pacientes afectas de AN exhiben osteopenia severa. Basados en el hecho de que el tratamiento con estrógenos previene la pérdida de masa ósea en las mujeres menopáusicas, planteamos la hipótesis de que dicho tratamiento puede mejorar la osteopenia en los pacientes afectas de AN.

Objetivo: Determinar si la administración de estrógenos mejora la DMO en pacientes con AN afectas de osteopenia.

Sujetos y Métodos: Se han estudiado 38 pacientes afectas de AN (edad media: 17,4±1,5 años) con amenorrea secundaria (2±1,1 años), antes y después de la administración de estrógenos y gestágenos durante un período de un año. Se determinaron los niveles de FSH, LH, estradiol, IGF-I, T3, calcio, fósforo, fosfatasa alcalina tartratoresistente, PTH, y osteocalcina. La densidad mineral ósea (DMO) se determinó con un aparato Hologic QDR 2000 a nivel de columna lumbar (L2-L4).

Resultados: La DMO expresada en gramos/cm² fue significativamente más baja en estas pacientes con respecto al grupo control (p<0,0001), observándose una DMO por debajo de 2 DE respecto a la media en 20 de ellas. De las 38 pacientes, 22 completaron el tratamiento durante un año, no observándose cambios significativos en la DMO

después del tratamiento con respecto al inicio del mismo. Los niveles de PTH, osteocalcina y fosfatasa alcalina tartratoresistente estaban dentro de los límites normales. Por el contrario, los niveles de estradiol presentaron un incremento significativo y los niveles de T3 e IGF-I permanecían disminuídos con respecto al grupo control (ver Tabla).

	DMO(L2-L4) (g/cm ²)	Estradiol (pg/ml)	IGF-I (ng/ml)	T3(ng/ml)
Antes tto.	0,840±0,08	30±17	345±113	0,8±1,8
Tras tto.	0,847±0,09	103±12*	349±84	0,9±0,1

*p<0,001

Conclusión: El tratamiento con estrógenos no mejora la DMO en mujeres con AN, al menos durante el primer año de tratamiento.

12

DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN PACIENTES CON SÍNDROME DE TURNER. RELACION CON LA TERAPIA ESTROGÉNICA

Gussinyé M, Enrubia M, Ibañez L, Audí L, Yeste D, Carrascosa A
Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebrón. Universidad Autónoma. Barcelona.

La densidad mineral ósea (DMO) fue medida por DEXA en la columna lumbar de 18 pacientes con síndrome de Turner al llegar a la talla adulta y comparada con 148 controles de similar edad y sexo. Tres pacientes presentaron pubertad espontánea (grupo A) y en los otros 15 la pubertad fue inducida entre los 11 y 13 años de edad con estradiol oral (2,5-5-10 ug/d/2 años seguida de estrógenos y progestágenos para mantener ciclos regulares).

Las DE de DMO valorada a los 15,8±1,8 años de edad en el grupo A y a los 18,8±2,9 años de edad en el grupo B fueron -0,2±0,6 y -1,7±0,94 respectivamente (p<0,001). En el grupo B 6 pacientes tenían valores de DMO inferiores a -2 DE.

Las DE de altura adulta fueron -3,03±1,01 y -3,2±1,01 en los grupos A y B respectivamente.

En 7 pacientes del grupo B la terapia estrógeno-progestágena administrada por vía oral fue cambiada por la administración de estrógenos en forma de parches cutáneos (estraderm 100/3 días) y progestágenos orales los 10 últimos días del ciclo. Un incremento significativo (p<0,05) fue observado en todos los pacientes a los 6-10 meses de realizar el cambio.

En conclusión nuestros resultados muestran valores normales de DMO en pacientes con pubertad espontánea y disminuídos en pacientes con pubertad inducida, independientemente de la altura alcanzada por estos pacientes. Además muestran un incremento de DMO al cambiar el régimen terapéutico con estrógenos.

13

DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN PACIENTES CON HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA FORMA PERDEDORA DE SAL (HSC)

Gussinyé M, Enrubia M, Potau N, Yeste D, Audí L, Del Río L, Carrascosa A
Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebrón. Universidad Autónoma. Barcelona.

La densidad mineral ósea (DMO) fue valorada a nivel de la columna lumbar L2-L4, mediante DEXA en dos grupos de pacientes con HSC y comparada con los valores de una población normal de simi-

lar edad y sexo (n=471). Todos los pacientes con HSC estaban en tratamiento con glucocorticoides y mineralcorticoides y la supresión suprarrenal fue considerada adecuada según criterios clínicos y hormonales.

Grupo A: 15 pacientes prepuberales, 5 niños y 10 niñas; edad: 5,41±2,4 años. **Grupo B:** 24 pacientes adultos, 4 hombres y 21 mujeres; edad: 22,6±2,8 años. Las dosis medias de glucocorticoides (mg/d/m² sc) recibidas desde el diagnóstico hasta el momento de la valoración de la DMO fueron: 21,2±2,2 en el grupo A y 23,0±2,6 en el grupo B. Las DS de altura fueron 0,07±1,16 en el grupo A y -1,3±0,7 en el grupo B, en el momento de valoración de la DMO.

Las DS de DMO fueron 0,02±1,36 en el grupo A y 0,81±1,56 en el grupo B. Los valores de DMO del grupo B difirieron significativamente (p<0,05) de los del grupo A y de los de la población normal de similar sexo y edad. El número de pacientes con DMO inferior a -1 DS fue de 13% en el grupo A y 42% en el grupo B.

En resumen nuestros resultados muestran valores normales para la altura y la DMO en los pacientes prepuberales y valores disminuídos en los pacientes adultos. Estos datos sugieren que la corticoterapia prolongada, incluso a las dosis bajas utilizada en estos pacientes puede tener efectos adversos sobre el crecimiento y mineralización ósea.

14

EL INCREMENTO DE IGF-I LIBRE COMO RESPONSABLE DEL CRECIMIENTO NORMAL EN LOS PACIENTES PREPUBERALES CON OBESIDAD EXÓGENA

Barrios V, Pozo J, Muñoz MT, Argente J
Universidad Autónoma. Departamento de Pediatría. Hospital Niños Jesús. Sección de Endocrinología. Madrid.

Introducción. Los niños obesos muestran un crecimiento normal pese a presentar una marcada disminución de la secreción de hormona de crecimiento (GH). Los mecanismos fisiopatológicos que subyacen a esta aparente contradicción se desconocen. Los niveles de IGF-I, principal mediador de los efectos estimulantes del crecimiento de la GH, se han encontrado, según los estudios: aumentados, normales e, incluso, disminuídos; sin embargo, poco se sabe acerca de los niveles de IGF-I libre (IGF-I-L) que, se supone, sería la fracción biológicamente activa del IGF-I.

Objetivos: 1. Determinar los niveles de IGF-I-L en pacientes prepuberales afectos de obesidad exógena. 2. Investigar si existe una relación entre los niveles de IGF-I-L y otros componentes del eje IGFs [IGF-I total, IGF-II y proteínas de transporte (BPs)].

Pacientes y métodos: Se determinaron los niveles plasmáticos de IGF-I tras extracción de BPs (RIA, Nichols®, USA), IGF-I-L (RIA, DSL®, USA), BP-1 (EIA, Medix Biochemica®, Finlandia), BP-2 (RIA, DSL®, USA) y BP-3 (RIA, Mediagnost®, Alemania), en 12 pacientes obesos (IMC>+2 DE para la edad y sexo) y se compraron (t de Student) con los obtenidos en 40 sujetos prepuberales normales con IMC entre ±1 DE para la edad y sexo.

Resultados:

	IGF-I (ng/mL)	IGF-I-L (ng/mL)	IGF-II (ng/mL)	BP-1 (µg/L)	BP-2 (ng/mL)	BP-3 (mg/L)
Control	251±27	0,4±0,04	545±15	10,6±1,2	339±23	3,4±0,1
Obesos	268±17	0,7±0,1*	805±61**	4,7±1,0*	152±8**	4,0±0,3*

Media±EE; *p<0,05; **p<0,001

Conclusiones: 1. El eje de los IGFs se encuentra alterado en los pacientes obesos prepúberes. 2. La disminución de BP-1 y BP-2 podría ser la causa de los niveles plasmáticos elevados de IGF-I libre. 3. El incremento de IGF-I libre podría ser, a su vez, el responsable del crecimiento normal y, a través del mecanismo de retrocontrol negativo, de la hiposecreción de GH.

15

17 AÑOS DE SCREENING NEONATAL DEL HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO (HC). EVOLUCION LONGITUDINAL DEL CD/CI: ANALISIS DE LOS FACTORES IMPLICADOS

Mayayo E¹, Puga B², Valle A¹, Labena C², Labarta JL¹,
Fernández A¹

¹Unidad Endocrinología Pediátrica. Hospital Infantil «Miguel Servet». Zaragoza.
²«Centro Andrea Prader». D.G.A. Zaragoza.

Introducción. Existe la controversia de si el tratamiento precoz de HC detectado por screening neonatal logra restaurar completamente o no el posible daño producido en el desarrollo del SNC ya sea adquirido prenatalmente o durante el corto período postnatal hasta su instauración. El objetivo de este estudio, continuación del realizado en 1990 es evaluar la evolución del CD/CI de los pacientes detectados en el Hospital Miguel Servet de Zaragoza durante los 17 años de funcionamiento del Programa y analizar los posibles factores involucrados.

Pacientes y métodos. 36 pacientes: 27 niñas y 10 niños. Etiología: agenesia: 21; ectopia: 14. Edad comienzo tratamiento: 14,2±5,9 días. CD/CI: T. Brunet Lezine: 3m (n:12); 6m (n:19); 9m (n:19); 18m (n:22); 24m (n:25). T. McCarthy: 3a (n:20); 4a (n:25); 5a (n:25); 6a (n:27); T. Wisc: 7a (n:21); 8a (n:20); 9a (n:21); 10a (n:19); 11a (n:13); 12a (n:14); 13a (n:10); 14a (n:7); 15a (n:3). T. Wais: adultos. Resultados en SDS (E.C. «A. Prader». Zaragoza). Parámetros: niveles séricos de T4 y de TSH al diagnóstico, etiología, índice clínico, edad comienzo tratamiento, dosis inicial de LT4, maduración ósea (epifisis distal del femur mm²), tiempo de normalización TSH, CI padres (n:20) y F. socioeconómico (E. Graffar) (n:26).

Resultados: CD/CI total: T. Brunet-Lezine entre -0,5 y 0,4 SDS. CD superior en pacientes que en controles a los 18 meses (p<0,005). T. McCarthy entre -0,3 y -0,4 SDS. Inferior CI en pacientes a los 6 años (p<0,05). T. Wisc: entre -0,04 y -1,1 SDS. Inferior CI en pacientes que en controles desde los 7 a los 14 años (p<0,05). CD/CI Areas parciales: inferior en pacientes que en controles en diversas áreas de forma continua desde los tres a los seis años y especialmente desde los 7 años: CI verbal: a los 7, 10, 11, 12, 13 años (p<0,05-0,01) y CI manipulativo desde los 7 a los 14 años (p<0,05-0,01). Factores pronósticos: los pacientes con nivel sérico de T4 menor de 2 mcg/dl. tienen menor CD/CI total que los que tienen nivel de T4 menor de 2: 2; 3; 4; 6; 9; 10; 11 años (p<0,05-0,001). Correlación significativa (p<0,05) entre nivel de T4 y CD/CI: 3; 4; 6; 10; 11 años (r: 0,47 a 0,74). Se afectan también diversas áreas parciales. La edad de comienzo del tratamiento entre ambos grupos es similar. Otros parámetros como el nivel de TSH al diagnóstico, índice clínico, maduración ósea, dosis inicial de LT4, tiempo de normalización de TSH y F. Socioeconómico tienen influencia muy parcial. No influye la etiología. Edad comienzo tratamiento: relación paradójica. Relación entre CI madres y CD/CI pacientes (p<0,05): 18m; 3; 4; 6; 8; 9; 10; 11; 12; 13 años (r: 0,41 a 0,78).

Comentario: Los niños afectados de HC detectados por screening neonatal y tratados precozmente tienen, en conjunto, inteligencia normal, aunque no suelen alcanzar su potencial intelectual, especialmente los niños que tienen un menor nivel de T4 al diagnóstico. Ello podría ser de origen prenatal, quizás por posible diferencia de paso trasplacentario de tiroxina madre-feto de unos casos a otros, e influye en la vida post-natal en conjunción con otros factores relacionados o no con la enfermedad entre los que destacan los genético-ambientales como el CI materno. Se precisan estudios posteriores para evaluar la eficacia del plan de optimización del programa de screening propugnado por el Grupo de Trabajo de la S.E.E.P. de la A.E.P.

16

ANALISIS DE LOS NIVELES PLASMATICOS DE IGFBP-2 EN DIFERENTES PATOLOGIAS: INTERÉS CLINICO

Barrios V, Pozo J, Muñoz MT, Argente J

Universidad Autónoma. Departamento de Pediatría. Hospital Niño Jesús.
Sección de Endocrinología. Madrid.

La proteína transportadora de los factores de crecimiento similares a la insulina tipo 2(IGFBP-2) está conformada por 289 a.a. Transporta IGF-II con mayor afinidad, ocupando un papel intermedio en la captación de IGFs, entre la regulación a corto plazo de la IGFBP-1 y a largo de la IGFBP-3. Sus principales reguladores parecen ser la insulina y el IGF-I, lo que sugiere su implicación en determinadas patologías en la que se encuentran afectados estos factores.

Objetivos: 1. Analizar el posible interés clínico de esta proteína transportadora en el déficit total de hormona de crecimiento (GH), anorexia nerviosa, obesidad y DMID. 2. Valorar si el tratamiento o la normalización ponderal afectan a las tasas plasmáticas de IGFBP-2.

Pacientes y métodos: Se estudiaron los niveles de esta proteína en 4 pacientes prepuberales (Tanner I) afectados de déficit total de GH y después del tratamiento durante 6-12 meses con GH exógena; 21 con anorexia nerviosa en un estadio puberal Tanner V al inicio de su enfermedad, después de recuperación ponderal parcial (>10%) y al año de evolución; 12 obesos prepúberes (Tanner I), a los 6 meses tras experimentar una reducción ponderal de al menos un 7% y 12 meses pérdida de peso y en 48 pacientes de los diferentes estadios puberales afectados de DMID, con una evolución media de su diabetes de 3±0,4 años. En este grupo se analizó, asimismo, si el grado de control metabólico de la enfermedad (inadecuado, HbA1>9% y adecuado, HbA1<9%) modifica los niveles de IGFBP-2. Las concentraciones de IGFBP-2 se determinaron por RIA (DSL®, USA).

Resultados: Los niveles de IGFBP-2 se encuentran elevados en el déficit de GH (p<0,001) y se normalizan sus tasas plasmáticas después de la administración de GH. Los pacientes con DMID presentan tasas elevadas (p<0,001). Los pacientes con anorexia nerviosa y obesidad se comportan de forma contrapuesta. Los niveles están elevados en la anorexia (p<0,05, ANOVA) y disminuidos en la obesidad (p<0,05, ANOVA) y tienden a normalizarse en ambos casos tras el período de evolución.

Conclusión: La IGFBP-2 puede ser un marcador biológico de interés en el diagnóstico y seguimiento de la deficiencia de GH, obesidad, anorexia nerviosa y diabetes mellitus insulino-dependiente.

CARACTERIZACION DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO TIPO INSULINA (IGFs) Y DE SUS PROTEINAS TRANSPORTADORAS (IGFBPs) EN CONEJAS GESTANTES: LA PLACENTA COMO ORGANNO REGULADOR

Labarta JL^{1,2,*}, Gargosky SE², Kelley KM², Nason KS², Binder ND², Mayayo E¹, Ferrández A¹, Rosenfeld RG²

¹Sección de Endocrinología, Hospital Infantil Miguel Servet, Zaragoza;
²Departamento de Pediatría, Oregon Health Sciences University, Portland, USA.
(*F.I.S. BAE: 94/5373).

Los IGFs juegan un papel importante en los cambios metabólicos que ocurren durante la gestación (G) con objeto de satisfacer las necesidades nutricionales del feto. El objetivo del presente trabajo es estudiar el eje IGF-IGFBPs e identificar los órganos encargados de su regulación en conejas (C) gestantes. Material y Métodos. Las C (n=7) fueron mantenidas en animalario y se obtuvieron muestras de sangre antes y seriadamente durante una G esperada de 30 días; tras el sacrificio se extrajeron tejidos fetales y maternos. Se analizaron los niveles de IGF-I, -II (RIA) e IGFBPs (western blot), su distribución en los complejos de alto (150 kDa) y bajo (44 kDa) peso molecular (cromatografía de exclusión), la caracterización de las IGFBPs (actividad proteolítica de IGFBP-3, estudios de deglicosilación) y el lugar de síntesis de IGF-II, IGFBP-3 e IGFBP-1 (hibridación in situ).

Resultados. Los niveles de IGF-I (ng/ml) (n=4) antes de la G son de 498±32, ascienden en el día (d) 21 de G a 832±160 (p<0,02) y descienden al final a 341±49. Los niveles de IGF-II (ng/ml) (n=5) pasan de 85±14 antes de la G a 16,295±2,488 (p<0,001) el d23 y descienden a 3.335±954 (p<0,05) al final. Existió una ganancia de peso total de 4,03±0,06 kg a 4,47±0,07 debido al aumento de peso de la unidad feto-placentaria. La forma molecular de IGF-II es la proteína madura de 7 kDa. La IGFBP-3 y las IGFBPs de 31 y 27 kDa (n=3) descienden inicialmente (d4-12), ascienden posteriormente y paralelamente a los niveles de IGF-II (d21-25), y disminuyen al final de la G. Las concentraciones de IGF-I e IGF-II (n=3), expresadas como el porcentaje del total, indican que antes de la G el IGF-I aparece fundamentalmente en el complejo de 44 kDa (46%) mientras que el IGF-II va ligado en su mayoría (46%) al complejo de 150 kDa. En el d24, el IGF-I (49%) y especialmente el IGF-II (73%) circulan en el complejo de 150 kDa. Al final de la G (d30), tanto el IGF-I (49%) como el IGF-II (45%) aparecen ligadas al complejo de 44 kDa existiendo un aumento de los IGFs en la forma libre de 7 kDa. La distribución de las IGFBPs (n=3) demuestra que antes de la G la IGFBP-3 y una IGFBP no glicosilada de 30 kDa aparecen en el complejo de 150 kDa y el resto de IGFBPs en el complejo de 44 kDa. Este patrón, pero con un incremento de todas las IGFBPs, persiste en el d24. Al final de la G existe un descenso de todas las IGFBPs, tanto en el complejo de 150 como en el de 44 kDa, coincidiendo con la presencia de actividad proteolítica de IGFBP-3. Los niveles de ARN para IGFBP-3 (2.6 kb) y para IGF-II (4.4 kb) se expresan en la placenta, mientras que el hígado es el tejido productor de IGFBP-1 (2.4 kb).

Conclusión. Durante la gestación de las conejas a) existe un aumento significativo de IGF-II, y menor de IGF-I, paralelamente a un incremento de IGFBPs; b) aparecen importantes cambios en el complejo de 150 kDa, secundariamente al aumento de IGF-II e IGFBP-3 y a la aparición de una nueva IGFBP de 30 kDa, que modularían las acciones de los IGFs y c) el IGF-II y la IGFBP-3 se sintetizan en la placenta siendo así el órgano regulador del eje IGF.

LA LAPAROSCOPIA EN LAS SITUACIONES INTERSEXUALES

Olivares P, Gracia Bouthellier R, Tovar JA

Hospital Infantil «La Paz». Madrid.

La laparoscopia permite la observación, biopsia y resección gonadal en la situación intersexual, incluso durante las primeras semanas de vida, facilitando así el manejo médico del cuadro y la asignación de un sexo civil.

En nuestro centro se han investigado por vía laparoscópica 55 casos de situación intersexual o genitales ambiguos: 4 por disgenesia gonadal mixta, 2 pseudohermafroditismos masculinos, 2 hermafroditismos verdaderos y el resto diversas cromosopatías. Además de los estudios cromosómicos, endoscópicos y radiológicos, la observación laparoscópica de los restos müllerianos y gónadas, permitió la biopsia de las mismas. Cuando se sospechó la presencia de tejido disgenético (hermafroditismo verdadero o disgenesia gonadal mixta), o el hallazgo laparoscópico era discordante con el sexo cromosómico y fenotípico, se realizó la extirpación de las gónadas, para prevenir su malignización y completar la adaptación del paciente al sexo asignado. Así, hemos detectado precozmente dos casos de Gonadoblastoma, uno de ellos bilateral, en un recién nacido y en un lactante.

La laparoscopia puede ser utilizada para el diagnóstico y tratamiento de los casos de situación intersexual incluso en niños muy pequeños, ya que con un mínimo acceso y postoperatorio corto, podemos obtener una completa visualización con posibilidades de adecuada manipulación gonadal.

EVOLUCION DE LA INCIDENCIA DE LA DIABETES MELLITUS TIPO I EN MALAGA DURANTE 12 AÑOS

López Siguero JP, Martínez-Aedo Ollero MJ, Moreno Molina JA
Endocrinología Pediátrica. Departamento de Pediatría. Hospital Infantil. Málaga.

Objetivos: 1) Estudiar la evolución de la incidencia de la Diabetes Mellitus tipo I (DMID) en niños menores de 14 años en la provincia de Málaga en dos períodos de tiempo: 1982-1987 (A) y 1988-1993 (B). 2) Calcular la prevalencia de la enfermedad al final del período.

Pacientes y Metodología: La recogida de los casos se realizó con dos fuentes. La primera se basó en la notificación de los nuevos casos de enfermedad por todos los hospitales de la red pública de la provincia, y la fuente secundaria en el listado de pacientes de la Asociación de Diabéticos de Málaga. Durante el período de tiempo considerado se han registrado 437 niños diabéticos. La estimación de la probabilidad de casos perdidos se ha realizado mediante el método captura-recaptura, resultando un nivel de seguridad de 93,8% para la primera fuente y de 98,8% para el registro. Se han considerado las siguientes variables: edad de inicio, sexo, fecha de diagnóstico, temperatura media mensual y forma de comienzo.

Resultados: La edad media en el diagnóstico fue de 8,3 (3,5) años, mayor en el período B 8,7 (3,4) que en el A 7,8 (3,5), con p=0,003. Los casos se presentaron con más frecuencia en el grupo de mayor edad (10-13 años) con el 43% de los casos. Hubo una correlación inversa significativa entre la temperatura media mensual y el número de casos, r=-0,59 p=0,04. La incidencia global durante todo el período fue de 14,3 casos/10⁵ en niños menores de 14 años. En el período A la incidencia fue de 11,8 casos/10⁵ y en el período B de 16,85/10⁵, con un au-

mento significativo en el B (10,65 contra 18,85) para las niñas (p=0,008). La prevalencia al final del período fue de 0,78 pacientes diabéticos/10³ niños menores de 14 años. Aunque la forma de comienzo más frecuente fue la hiperglucemia con cetosis, observamos un aumento significativo de la cetoacidosis durante el período B (p=0,01).

Conclusiones: 1. Hemos observado un aumento de la incidencia de DMID en niños menores de 14 años de un 42,3% entre dos períodos de 6 años (1982-1987 y 1988-1993). 2. La prevalencia en este grupo de edad fue de 1 paciente por cada 1282 niños menores de 14 años.

20

HIPOGLUCEMIAS: PRESENTACION, IDENTIFICACION Y MANIFESTACIONES CLINICAS EN LA DIABETES TIPO I INFANTO-JUVENIL

Sola A¹, Oyarzábal M¹, Irureta A², Aliaga M¹, Chueca M¹, Iceta A¹
¹Endocrinología Pediátrica. Hospital Virgen del Camino. ²Policlínica de Guipúzcoa*. Pamplona. San Sebastián.

La hipoglucemias (HG) son la complicación aguda más frecuente en la DMID infanto-juvenil y en ocasiones son mal o no identificadas. Conocer su prevalencia y sus características es el objetivo de este trabajo.

Material y Métodos: Estudio prospectivo n=71 DMID ≤ 17 años, con recogida durante 2 meses: n° de HG [a] sintomáticas y comprobadas bioquímicamente: glucemia ≤ 54 mg/dl b) bioquímicas: glucemia > 54 mg/dl c) sintomáticas: con síntomas y determinación de glucemia > 54 mg/dl] y sus características. N° de HG recogidas: 739 (x:10,4±8,7). Los pacientes se hacen una media de 3-4 glucemias diarias, incluyendo valores aislados nocturnos (frecuentes a las 24 horas y algunos de madrugada) con una x: 111,96±25 mensual. Características de la muestra: 39 M/32V, T° evolución x 4,77±3,5 años; edad x actual 12,07±3,7 años; edad x debut 7,30±3,7 años; HbA1c anual x: 7,67±1,2%; HbA1c actual x: 7,88±1,5%; dosis x insulina: 0,74±0,33 U/Kg/día; en remisión n:6. Antecedentes de HG severa: 22 niños han tenido al menos un episodio durante su tiempo de evolución (rango 0,5-12 años).

Resultados: De los 71 niños el 56,3% (n 40) identifican bien la sintomatología, 38% (n 27) lo hacen de forma pobre y el 5,6% (n 4) no aprecian síntomas. Predominan los pacientes (26/71) que reconocen la HG sintomática y lo confirman bioquímicamente; 21 niños la reconocen sólo con síntomas, siendo la glucemia entre 54-72 mg/dl, y 13 son bioquímicas.

HG reales son el 73% (45,8% grupo a, 28% grupo b); el 26,1% de las HG son sintomáticas con glucemias límites (grupo c).

Síntomas de las HG:

Neuroglucopénicos	%	%	Adrenérgicos
mareos	39,4	40,8	hambre
debilidad	22,5	38	temblor
irritabilidad	7	19,7	transpiración
somnolencia	7	18,3	palidez

Síntoma principal: Único en 13 niños y el mismo siempre, sin diferencias entre neuroglucopénicos y adrenérgicos. Las HG son más frecuentes por la mañana (46,8%), que por la tarde (26,1%) o de noche y madrugada (13,8% en ambos casos). No hay explicación en 55,07% de las HG y todas se corrigen fácilmente.

Las HG son independientes del sexo, T° de evolución y control metabólico; pero no de la edad actual ni de la edad al debut (más frecuentes en menores de 5 años t=2,07 p<0,05 y aquellos que debutaron antes t=3,84 p<0,005). Los pacientes que tienen antecedentes de HG severa tienen más HG bioquímicas de forma significativa X²: 34,04 p<0,001; sus HG son más frecuentes en la madrugada X²: 8,48 p<0,05 y sin causa aparente X²: 18,36 p<0,001.

Conclusiones: Elevada frecuencia de hipoglucemias leves y con escasa o nula sintomatología (40%) sin estimar posibles HG nocturnas no identificadas.

La relación con antecedentes de HG severa es evidente y además con peor identificación. Es necesario estudiar los mecanismos de contrarregulación en estos niños.

21

PREVALENCIA DE HIPOGLUCEMIA NOCTURNA (HN) EN EL NIÑO Y ADOLESCENTE CON DMID

López MJ¹, Oyarzábal M², Barrio R³, Hermoso F¹, López JP⁵,
 Rodríguez M⁴, Blasco L¹, Gastaldo E¹

¹Unidades de Endocrinología Pediátrica del Hospital Clínico Universitario de Valencia y Valladolid. ²Virgen del Camino de Pamplona. ³Ramón y Cajal de Madrid. ⁴Miguel Servet de Zaragoza. Hospital de Sagunto y ⁵Carlos Haya de Málaga

Se considera que la hipoglucemia nocturna es más frecuente de lo que realmente es apreciado por el niño diabético. Objetivo. Valorar su incidencia y factores influyentes de forma sistematizada realizando estudio multicéntrico de 7 hospitales.

Material y Métodos: 117 niños-jóvenes diabéticos (61/M y 56/F), edad 1-18 años (GI ≤ 7a = 23; G2 > 7 < 12a. = 42 niños y G3 > / = 12a. = 52 adolescentes). Tiempo de evolución ≥ 1a., n° glucemias capilares/mes > 60. Se requiere la aceptación familiar del estudio.

Protocolo: Realización de 3 glucemias capilares nocturnas (Entre las 00h y las 06h) 3 días/semana, en la primera semana de cada mes, durante 3 meses seguidos (27 valoraciones). Se facilita hoja de anotaciones. Si existe algún valor de glucemia ≤ 54 mgr% (HN) se recoge además su posible causalidad y síntomas si los hubiere.

Resultados: El 80% de los diabéticos estudiados tiene algún valor nocturno < 70 mgr% y en el 54% de ellos (35/M y 28/F) está en HN; el 41% detecta más de 2 HN. En su mayoría, 72,3% encuentran causa justificada pero únicamente 6/63 refiere sintomatología. No hay claro predominio horario, aunque su incidencia es algo superior a las 00h y las 06h que a las 02, 03, 04h. El 73,9% de los niños del G1 tiene alguna HN vs el 57/1% del G2 y el 40,4% en el G3 (RR 3,08). Tanto la Hb A1c media del año, como la inmediata es significativamente menor en aquellos con HN frente a los que no tienen HN (7,3% y 7,4% vs 8 y 8,3%; p<0,001). Sin embargo no hay diferencias significativas ni en el Tp de evolución, ni en el tratamiento insulínico, ni en el n° de glucemias/mes (105 vs 96,75) ni en relación con hipoglucemias severas anteriores. Se detecta mayor n° de valores hipoglucémicos antes de cenar o antes de desayunar entre la población HN negativa que en la afectada (tratamiento dietético corrector). Las medias de glucemias de 2h anteriores a los valores patológicos son significativamente más bajas que las glucemias que se siguen de valores normales pero su rango no es determinante cara a la prevención de una HN.

Conclusiones: 1. Se demuestra una alta incidencia de HN (54%) en la población estudiada, no asociada aparentemente a una mayor tendencia a la hipoglucemia severa. 2. La población de mayor riesgo estaría constituida por los menores de 7 años y por los de mejor control

metabólico. 3. Es necesaria la recomendación de un mayor control nocturno e instruir adecuadamente a los padres de este riesgo.

22

SEGUIMIENTO LONGITUDINAL DEL RIESGO LIPÍDICO EN ADOLESCENTES DIABÉTICOS

Oyarzábal M, Chueca M, Sola A, Iceta A, Aldaz Y, Echarte G

Unidad de Endocrinología Pediátrica. Hospital Virgen del Camino. Pamplona.

Objetivo: Análisis descriptivo longitudinal durante los últimos 5 años de lípidos, apolipoproteínas y Lipoproteína a (Lp[a]) en jóvenes diabéticos (comparados con nuestra población de referencia) y, específicamente conocer la evolución de los pacientes que estaban inicialmente en riesgo lipídico.

Material y métodos: Población diabética: 80 diabéticos (41 V; 39 M); edad actual = 17,54±2,88 años; edad al debut = 9,25±3,67 años; t° evolución = 7,95±3,99 años. Microalbuminuria (intermitente 14, 3 persistente); retinopatía (10), LMA (39). Se comparan los valores de lípidos, Apolipoproteínas y Lp[a] con nuestra población de referencia (n=5830), expresándose los valores en SDS para el estudio estadístico.

año	Colesterol mg/dl	TG mg/dl	HDL mg/dl	LDL mg/dl	Lp[a] mg/dl
1991	179±29,73	65,3±23,29	56,05±12,5	109,5±25,7	20,54±19,28
1995	160,1±27,2	57,4±21,7	48,3±11,5	98,2±30,2	19,46±24,65

LDL/HDL	Col/HDL	ApoA mg/dl	ApoB mg/dl	Apo A/B	HbA1c anual %
2,0±0,6	3,31±0,7	150,7±33,0	87,4±28,6	1,93±0,97	8,23±1,38
2,1±0,8	3,36±0,8	138,9±27,4	77,7±17,1	1,88±0,56	7,73±1,06

-Test estadísticos: Test de Wilcoxon y U de Mann Whitney. Test de t pareada y X^2 .

Resultados: 1) El control metabólico mejora significativamente durante el período 1991 al 1995 $p<0,05$ $t=3,57$, siendo ésta mejoría en las mujeres (HbA c 8,2% 1991 vs 7,6% 1995, $p=0,004$ $t=3,1$); también los varones mejoran pero no significativamente. 2) El Colesterol y Triglicéridos (SDS) mejoran de forma significativa en el tiempo del estudio, sin embargo empeora el SDS HDL-Col significativamente en ambos sexos. El resto de parámetros estudiados no reflejan diferencias significativas. 3) Los pacientes con complicaciones en el año 95 no tienen diferencias en la evolución de los lípidos y lipoproteínas respecto a los pacientes no complicados. 4) Grupos con riesgo lipídico:

año	Lp[a]>30 mg/dl	Col>200 mg/dl	LDL/HDL>2,2	Col/HDL>4
1991	20	23	26	17
1995	17	7	34	22
	n.s.	$p<0,005$	n.s.	n.s.

Por sexos no hay diferencias significativas, salvo para la mejoría en varones en el riesgo Col>200 mg/dl / $p<0,05$ $X^2=5,22$).

Conclusiones: El seguimiento longitudinal de los pacientes, demuestra que la mejoría de algunos valores lipídicos (colesterol y triglicéridos), está contrarrestada por el empeoramiento del HDL-Col y es este factor el que condiciona que los pacientes se mantengan en grupo de riesgo a pesar de la significativa mejoría metabólica.

La influencia de otros factores sobre el empeoramiento del HDL

(tabaco, falta de ejercicio físico y no consumo suficiente de grasas monoinsaturadas) debe ser tenido en cuenta.

23

ESTRES OXIDATIVO EN NIÑOS Y ADOLESCENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO I

Carrascosa A, Ruíz E, Gussinyé M, Domínguez C

Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebrón. Unidad de Investigaciones Biomédicas. Universidad Autónoma. Barcelona.

La presencia de estres oxidativo y su relación con el desarrollo de complicaciones ha sido establecido en pacientes adultos con diabetes tipo I. Sin embargo no existen datos en poblaciones pediátricas.

El estres oxidativo fue valorado mediante las determinaciones plasmáticas de malondialdehído (MDA), vitamina E, actividad total antioxidante del plasma (AAT) y superoxidodismutasa eritrocitaria (SOD), en 24 diabéticos prepuberales al debut de la enfermedad (DD) y en 30 diabéticos adolescentes (DA) con un período de evolución entre 5 y 15 años sin complicaciones conocidas de microangiopatía. Sesenta niños y adolescentes sanos de similar edad y sexo fueron utilizados como controles.

En los DD las determinaciones fueron realizadas a los 7 días del debut, cuando estaban clínicamente estabilizados con dosis de insulina 0,7-1 U/Kg, y perfiles glucémicos entre 80 mg/dl y 240 mg/dl, al menos durante los tres últimos días.

Un incremento significativo ($p<0,001$) en relación a los controles fue encontrado en los DD y en los DA para el MDA y la SOD, siendo los valores más elevados en los DA que en los DD ($p<0,01$). No se encontraron cambios significativos en los otros dos parámetros estudiados. No se encontraron correlaciones significativas entre los parámetros estudiados y el grado de control (HbA1c y fructosamina).

En resumen nuestros datos muestran que ya en los estadios tempranos de la diabetes mellitus existe un aumento de la actividad oxidativa ligada a la lipoperoxidación, actividad que se incrementa con la evolución de la enfermedad.

24

PREVALENCIA DE LA NEFROPATIA DIABÉTICA EN UN GRUPO DE DIABÉTICOS TIPO I CON DEBUT PREPUBERAL

Arroyo JA¹, Rigla M¹, Ortíz MA¹, Ballarín J², Calero F¹, Mercé J³, Pou JM¹

¹Servs. Endocrinología y Nutrición, ²Bioquímica: Hosp. Sant Pau. ³Ser. Nefrología, F. Puigvert. Universitat Autònoma de Barcelona.

Se evaluó la evolución y prevalencia de la microalbuminuria así como el grado de control de la diabetes tipo I analizando los niveles de HbA1c actuales y durante los primeros 5 y 10 años de evolución de la diabetes, en un grupo de 168 diabéticos tipo I edad: 14±4,8 a. IMC: 21±2,4. Tiempo de evolución de DMI: 14,4±9 a. Porcentaje de fumadores 34,6%. Se evaluó la presencia de microalbuminuria (M) por inmunoturbimetría, así como el grado de control de la diabetes. Se apreció la presencia de M en un 13,2% de los pacientes, presentaban Nefropatía diabética instaurada (ND) (M>200 µg/minuto) un 4,5%. Analizando la distribución por el tiempo de evolución de la DM I, entre los 0-5 años se observó en un 2,5% la presencia de M (20-300 µg/minuto), al 10º año de evolución alcanza a un 6,4%. La incidencia año a partir de los 10 años hasta los 15 de evolución es de un 1,8% pa-

cientes/año, descendiendo a 0,5% entre los 15 y 20 años. La presencia de Nefropatía Diabética (ND) aparece a partir de los 12 años de evolución alcanzando en el grupo de más de 20 años un 19,7%. La prevalencia total de M+Macro es de 17,5%. No se apreció diferencia entre la edad de debut en los dos grupos pero el tiempo de evolución en M/ND era superior ($p=0,005$). No existía diferencias en la HbA1c en el momento actual, en los 5 y 10 primeros años de evolución la HbA1c media fue de $7,4\pm 0,23\%$ y $7,3\pm 0,78\%$ en DM 1 sin M vs $7,9\pm 1,02\%$ y $8,3\pm 1,04\%$ en los pacientes con M/ND ($p<0,002$ y $0,0001$). La tensión arterial sistólica y diastólica fue significativamente superior en los DM1 con ND, existiendo una tendencia en la M ($p<0,0001$ y $0,058$). El programa insulínico intensificado fue de un 79 y 82% en el grupo con/sin M/ND. La prevalencia de la M+ND fue de un 17,5% en nuestros pacientes. La presencia de M/ND se correlaciona con un peor control en los diez primeros años de evolución de su proceso, presentando una TA más elevada. Un mal control de la diabetes en el inicio del proceso es un factor de riesgo importante para desarrollar M y ND.

25

NIVELES DE INHIBINA SÉRICA EN ADOLESCENTES HIPERANDROGÉNICAS: VALORES BASALES Y RESPUESTA A LA ESTIMULACION AGUDA CON UN AGONISTA DE LA GnRH

Potau N, Ibáñez L, Riqué S, Gussinyé M, Carrascosa A
Hospital Universitario Materno-Infantil Vall d'Hebró. Barcelona.

La inhibina es una glicoproteína gonadal que inhibe la liberación de FSH y LH. Se ha especulado que en el síndrome del ovario poliquístico (SOPQ) los niveles elevados de inhibina modificarían la secreción de gonadotropinas hipofisarias. Otros estudios señalan que en el SOPQ los niveles de inhibina son similares a los de la fase folicular en mujeres normales. Hemos determinado los niveles de inhibina total, gonadotropinas y estradiol (E2) antes y después de la administración de una dosis única del análogo de la GnRH acetato de leuprolina ($500\ \mu\text{g sc}$) en 32 adolescentes con hiperandrogenismo ovárico funcional (HOF, edad: $18,2\pm 2,6$ a.) y en 23 controles. El diagnóstico de HOF se basó en la presencia de trastornos menstruales y de una respuesta anormal de la 17-hidroxiprogesterona ovárica al análogo. Los niveles basales de inhibina fueron significativamente inferiores en las pacientes que en los controles ($52,8\pm 7,8$ vs $87,1\pm 11,8$ U/L, $p=0,01$). La administración del análogo produjo un aumento similar de FSH en pacientes y controles y un mayor aumento de E2 en las pacientes ($p=0,001$ vs controles). Los niveles de inhibina post-estimulación fue-

ron similares a los basales en las pacientes y sufrieron un incremento no significativo en los controles ($52,3\pm 6,0$ vs $101,3\pm 12,9$ u/l, respectivamente). Los niveles de inhibina y E2 pre y post-estimulación mostraron una correlación positiva sólo en los controles ($r=0,7$; $p=0,0009$ y $r=0,7$; $p<0,0001$). No se encontró correlación entre los niveles de inhibina y de gonadotropinas ni en pacientes ni en controles.

Los niveles bajos de inhibina en el HOF probablemente reflejan el estado ovulatorio de estas pacientes, con ausencia de un folículo dominante y de ovulación subsiguiente. La supuesta disregulación del citocromo P450c17a como causa del HOF podría modificar la función paracrina de la inhibina en el control de la producción gonadal de andrógenos y subsiguientemente, de estrógenos.

26

VARIABILIDAD EN LA EXPRESION DEL DÉFICIT DE 11 β -HIDROXILASA EN UNA MISMA FFAMILIA. EFECTO DEL TRATAMIENTO PRENATAL

Vicens-Calvet E, Potau N, Gussinyé M, Castelló F, Yeste D, Carrascosa A

Hospital Universitario Materno-Infantil Vall d'Hebró. Barcelona.

Caso 1. Un niño con fenotipo masculino de 3,5 a. fue visitado por talla alta, edad ósea avanzada (E.O.) (10 a.), pubarquia prematura y criptorquidia. Ninguna patología anterior. Ex. Complementarios: cariotipo 46 XX, genitales internos femeninos y valores altos de 17-OH-Progesterona: 5.144 ng/ml (17-OHP), 11-Desoxicortisol: 50,0 ng/ml (11-DC), $\Delta 4$ -Androstendiona: 3.107 ng/ml (4A) y Testosterona: 156,4 ng/dl (T). No hipertensión. Se estableció el diagnóstico de déficit de 11 β -Hidroxilasa (11-OHD), siendo tratado con hidrocortisona. Después de estudio psicológico exhaustivo se conservó el sexo masculino y se extirparon los genitales internos. A los 12 a. está en P50 y la E.O. es de 14,5a. Los siguientes embarazos se trataron con Dexametasona (Dex) (el segundo fue un aborto, el tercero una niña sana y el cuarto el caso nº2).

Caso 2. Niña recién nacida con sólo discreta fusión de labios menores, hipertrofia de clítoris y seno urogenital. Análisis: 17-OHP 4.795, 11-D 53,4, 4A 1.218 y T 138,4. A pesar del diagnóstico de 11-OHD se presentó un cuadro típico de pérdida de sal a la segunda semana que fue controlado con ClNa (3 mmols/Kg) y 9- α FF (0,04 mg/d) además de hidrocortisona (6 mg/d). Esta niña demuestra la eficacia de la Dex. en prevenir la masculinización de los genitales externos y la posibilidad de un síndrome de pérdida de sal en la 11- β OHD, debido a una fisiopatología no bien establecida (inmadurez renal, déficit asociado de Aldosterona, etc.).

1

EXPRESION DEL SISTEMA DE LOS FACTORES SIMILARES A LA INSULINA EN CULTIVOS DE CONDROCITOS FETALES EPIFISIALES HUMANOS

García-Ramírez M, Andaluz P, Vargas D, Carrascosa, Audí L
 Unidad de Investigaciones Biomédicas y Servicio de Pediatría Hospital Materno Infantil Vall d'Hebron. Barcelona.

Los condrocitos que forman parte del cartílago de crecimiento presentan diferentes fenotipos según la zona a la que pertenecen (de reposo, proliferación o hipertrofia). Las características fenotípicas difieren por la síntesis que realizan de algunas proteínas de la matriz y factores de crecimiento, así como su regulación por hormonas y factores paracrinos. Entre ellos, hemos estudiado la expresión del sistema formado por los factores similares a la insulina, IGF-I e IGF-II, sus receptores y proteínas de transporte (IGFBPs) utilizando como modelo condrocitos purificados del cartílago epifiseal fetal humano mantenidos en cultivo bajo diferentes condiciones.

Los cultivos primarios o subcultivos de condrocitos en HAM-F12 + 10% FBS retuvieron in vitro un estado de diferenciación similar al de la zona proliferativa a juzgar por la presencia de colágeno específico tipo II. La producción de IGF-I e IGF-II siguió un patrón muy significativo, siendo máxima en los primeros días del cultivo cuando la densidad celular era menor. También a baja densidad se detectó una mayor producción de IGFBP-3 en el medio, decreciendo antes de la confluencia celular. Estos datos indican una asociación entre la concentración de proteína y el nivel proliferativo de las células. Sin embargo los niveles de expresión del RNAm específico para la IGFBP-3 aumentaron en relación a la densidad celular, no correlacionándose estrictamente con la concentración de proteína en el medio. El diferente patrón detectado en la expresión del RNAm específico y la producción de proteína podría estar indicando para la IGFBP-3 un mecanismo de regulación en parte independiente de la síntesis del RNA.

2

VALORACION DE UN TEST DE FUNCION PINEAL CON L-TRIPTOFANO EN NIÑOS

Gómez Vida J, Moreno F, Molina A, Narbona E, Ruiz C, Fernandez JM, Muñoz A

Departamento de Pediatría del Hospital Universitario de Granada.
 Grupo de Investigación N°114 (Plan Andaluz de Investigación).

Justificación y Objetivos: Conocida la vía metabólica a través de la cual se producen los metoxi-indoles, destacando de una forma particular la N-Acetil-5-Metoxi-Triptamina (melatonina), nos planteamos en la presente aportación realizar un test de función pineal mediante la administración oral de L-triptófano, valorándose la respuesta pineal mediante la producción hormonal de melatonina y urinaria de los metabolitos de la vía de kynurenina.

Material y Métodos: Se estudian 85 preescolares ingresados por una patología leve, sin antecedentes patológicos de interés, los cuales quedaron divididos en cuatro grupos (G) en función de los siguientes criterios: 1. Momento del día (Grupo día (GD): 09.00-12.00 h.) y (Grupo noche (GN): 21.00-24.00). y 2. La administración o no de una dosis oral de 20 mg/Kg de L-triptófano (Grupo con estímulo-GE) y (Grupo sin estímulo-GC). En todos los casos se obtuvieron dos muestras sanguíneas, una en condiciones basales (09.00 y 21.00 horas) para los grupos D y N respectivamente y otra a las tres horas (12.00-24.00), para la de-

terminación de melatonina mediante RIA. Los datos fueron analizados mediante la aplicación de un test de comparación de medias para muestras apareadas y no apareadas.

Resultados: Expresados en pg/ml.

	Día		Noche	
	Control	Problema	Control	Problema
Muestra(1ª)	48,50±20,33	60,50±26,28	53,36±14,76	11,00±0,58
Muestra(2ª)	47,73±18,57	36,33±11,14	46,09±10,34	50,76±18,51

Conclusión: Tras la administración de triptófano la glándula pineal es capaz de responder con incrementos significativos en la producción de la aMT cuando éste es administrado durante las horas nocturnas. Aspecto que guarda una estrecha relación con la actividad de las enzimas limitantes (NAT e HIOMT).

3

VALORACION DE LA RESPUESTA PINEAL (TASAS DE aMT) TRAS UN ESTIMULO CON CIPROHEPTADINA

De Goicoechea A, López-Canti L, Fernández JM, Molina A, Ruíz C, Peña F, Muñoz A

Departamento de Pediatría Hospital Universitario de Granada.
 Grupo de Investigación N°114 (Plan Andaluz de Investigación).

Justificación y Objetivos: Han sido descritas conexiones neurales y endocrinas entre la secreción de GH y aMT, habiéndose descrito incluso un mecanismo directo capaz de relacionar ambas secreciones como el efecto supresor que al aMT tiene sobre la somatostatina, permitiéndose de esta manera una mayor liberación de pulsos de GH por parte de la hipófisis. Por otra parte es conocida como a través de terminaciones serotoninérgicas es posible aumentar la secreción de GH. En consecuencia es posible estudiar la respuesta de la glándula pineal a estímulos anti-serotoninérgicos como pueden ser la administración de ciproheptadina, en este trabajo nos propusimos valorar la respuesta en dos grupos de pacientes en edad pediátrica a un estímulo con ciproheptadina.

Material y Método: Se han estudiado 30 pacientes en edad pediátrica los cuales se dividieron para su estudio en dos grupos; un grupo día (GD: N=15 niños) y un grupo noche (GN: N=15 niños), a los cuales se les administró una dosis de ciproheptadina (previo consentimiento informado de padres o tutores) de 2,66 mg/m² (un tercio de la dosis diaria habitualmente empleada como tratamiento según indicaciones terapéuticas), obteniéndose muestras sanguíneas para la determinación de aMT (mediante técnica de RIA) en condiciones basales (08.00 y 20.00 antes de la administración) y a las 10.00, 13.00 y 15.30 horas en el GD y a las 22.00, 01.00 y 03.30 horas en el GN. En el análisis estadístico de los datos se empleó un análisis de la varianza de dos vías y soporte informático mediante el paquete estadístico BMDP.

Resultados:

	Basal	Primera	Segunda	Tercera	F(hora)
GD	17,44±16,09	21,11±14,60	25,71±49,13	183,10±123,50	34,29
GN	15,68±10,35	26,66±18,74	10,83±9,91	222,15±198,74	p<0,0001

Conclusión: A la luz de estos resultados y considerando los conocimientos que se tienen de la fisiología pineal es evidente que: a) Existen

vías serotoninérgicas para la producción pineal de aMT, las cuales pueden ser modificadas mediante la administración de ciproheptadina. b) Este mecanismo descrito no guarda relación con la variación circadiana de la actividad glandular y en consecuencia habrá que recurrir a otra explicación distinta del estímulo de los B-receptores existente en la membrana del pinealocito.

4

MODULACION DE LOS NIVELES PLASMATICOS DE IGFBP-2 DURANTE EL DESARROLLO HUMANO

Barrios V, Argente J

Universidad Autónoma. Departamento de Pediatría. Hospital Niño Jesús. Sección de Endocrinología. Madrid.

La proteína transportadora de los factores de crecimiento similares a la insulina tipo 2 (IGFBP-2) está conformada por 289 a.a. Transporta IGF-II con mayor afinidad, lo que parece indicar su función en la regulación de este factor de crecimiento. Sus niveles son estable a lo largo del día y mayores que los de IGFBP-1 y sensiblemente menores que los de IGFBP-3, sugiriendo su papel intermedio en la captación de IGFs, entre la regulación a corto plazo de la IGFBP-1 y a largo plazo de la IGFBP-3.

Objetivos: 1. Determinar los valores normales de esta proteína transportadora durante el desarrollo humano. 2. Investigar si los niveles de IGFBP-2 se correlacionan con otros componentes del sistema IGF.

Pacientes y Métodos: Se estudiaron los niveles plasmáticos de estos parámetros en una población de 55 recién nacidos sanos a término y 221 niños y niñas sanos en los distintos estadios de Tanner (I-V). IGFBP-2, IGF-I libre e IGF-II se determinaron por RIA (DSL®, USA), IGF-I total por RIA (Nichols®, USA), IGFBP-3 por RIA (Mediagnost®, Alemania) e IGFBP-1 por EIA (Medix Boichemica®, Finlandia).

Resultados: Los niveles de IGFBP-2 (ng/ml) se encuentran elevados en el recién nacido y disminuyen drásticamente ($< 0,001$) en niños Tanner I, manteniéndose estables durante el desarrollo. En ningún caso se evidencia dimorfismo sexual (ver Tabla adjunta).

Grupo	Niño	Niña
Recién nacido	1665±526 (n=27)	1578±323 (n=28)
Tanner I	365±139 (n=24)	315±173 (n=25)
Tanner II	276±123 (n=24)	260±107 (n=19)
Tanner III	255±97 (n=26)	328±170 (n=18)
Tanner IV	337±167 (n=24)	309±122 (n=20)
Tanner V	202±82 (n=17)	185±61 (n=24)

Los niveles de IGFBP-2 solo correlacionan de forma inversa con IGF-I total en el recién nacido. Sin embargo, durante la vida extrauterina, muestran una correlación inversa con IGF-I e IGFBP-3 y directa con IGF-II e IGFBP-1.

Conclusiones: 1. Los niveles plasmáticos de IGFBP-2 están elevados en el momento del nacimiento y, posteriormente, disminuyen, mostrándose estables durante el desarrollo. 2. Esta proteína muestra una correlación con los otros componentes del sistema estudiados durante la vida extrauterina, por lo que su determinación podría ser de interés en pacientes afectados de patología del crecimiento.

5

CAMBIOS EN EL ESTADO NUTRICIONAL, IGF-I, IGFBP1, E IGFBP3 EN NIÑOS AFECTOS DE CANCER TRATADOS CON ACETATO DE MEGESTROL (AM)

Azcona C, López de Mesa R, Sánchez-Carpintero R, Crespo E, Sierrasesúmaga L

Dept. Pediatría Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona. Navarra.

El AM es un derivado sintético de la progesterona utilizado en pacientes adultos afectados de cáncer y SIDA para tratar la anorexia y pérdida de peso. Recientemente hemos realizado un estudio piloto que demuestra el beneficio del AM en revertir la anorexia y mejorar el estado nutricional en niños afectados de tumores sólidos. El objetivo de este es valorar la utilidad del IGF-I, IGFBP1 e IGFBP3, en un ensayo doble-ciego randomizado, placebo-control, en niños afectados de tumores sólidos, anorexia y pérdida de peso, tratados con AM. Hemos estudiado 27 niños (15 niñas y 12 niños), de edad media 13,89±2,69, que fueron randomizados en grupo tratado (n=15) y grupo control (n=12), para recibir AM (5mg/Kg/día) o placebo, respectivamente durante 30 días. La valoración del estado nutricional se realizó mediante parámetros antropométricos: pliegues subescapular y tricípital, perímetro braquial, peso e índice de masa corporal. El apetito se valoró mediante una escala categórica de 1 a 5 y la calidad de vida con la escala de Lansky. Los niveles séricos de IGF-I, IGFBP1 e IGFBP3 fueron medidos por IRMA, DSL® (Immunoradiometric Assay, Diagnostic System Laboratories). Los datos fueron recogidos antes y 30 días después del tratamiento con AM. El análisis estadístico fue realizado mediante test de comparación de dos medias si las variables tenían una distribución normal y test de Wilcoxon y de U de Mann-Whitney en caso contrario. Para estudiar la relación entre las variables cuantitativas se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson. En el grupo tratado todas las determinaciones antropométricas así como el apetito y la calidad de vida mejoraron ($p < 0,01$) tras los 30 días de tratamiento con AM. El IGF-I e IGFBP3 aumentaron ($p < 0,01$). En el grupo control se observó una disminución ($p < 0,01$) del pliegue subescapular, peso, índice de masa corporal, apetito y calidad de vida. Existen diferencias significativas ($p < 0,01$) entre el grupo control y tratado para todas las variables estudiadas excepto para IGFBP1 ($p = 0,05$), así como una correlación significativa entre los cambios observados en el peso e IGFBP3 ($p < 0,05$; $r = 0,5$). Concluimos que el AM es un potente estimulante del apetito, con repercusión objetiva y subjetiva sobre el estado nutricional de los niños con cáncer afectados de anorexia y pérdida de peso. Proponemos la utilización de IGF-I e IGFBP3 como indicadores bioquímicos para monitorizar el estado nutricional y la respuesta al AM en niños afectados de cáncer.

6

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS NIVELES SÉRICOS IGF-1, IGFBP-1 E INSULINA DE 0-6 MESES EN RN A TÉRMINO, PRETÉRMINO, CIR I MACROSÓMICOS

Zapico M, Díaz J, Gracia R, Grande C

Univ. Autónoma de Madrid, Servicio de Endocrinología Infantil y Dpto. de Bioquímica, Hospital «La Paz» Madrid.

Objetivos: 1. Estudio de las modificaciones de los niveles séricos de IGF-1, IGFBP-1 e insulina desde el nacimiento hasta el 6º mes de vida en niños nacidos a término con PAEG, niños prematuros (27ª-36ª

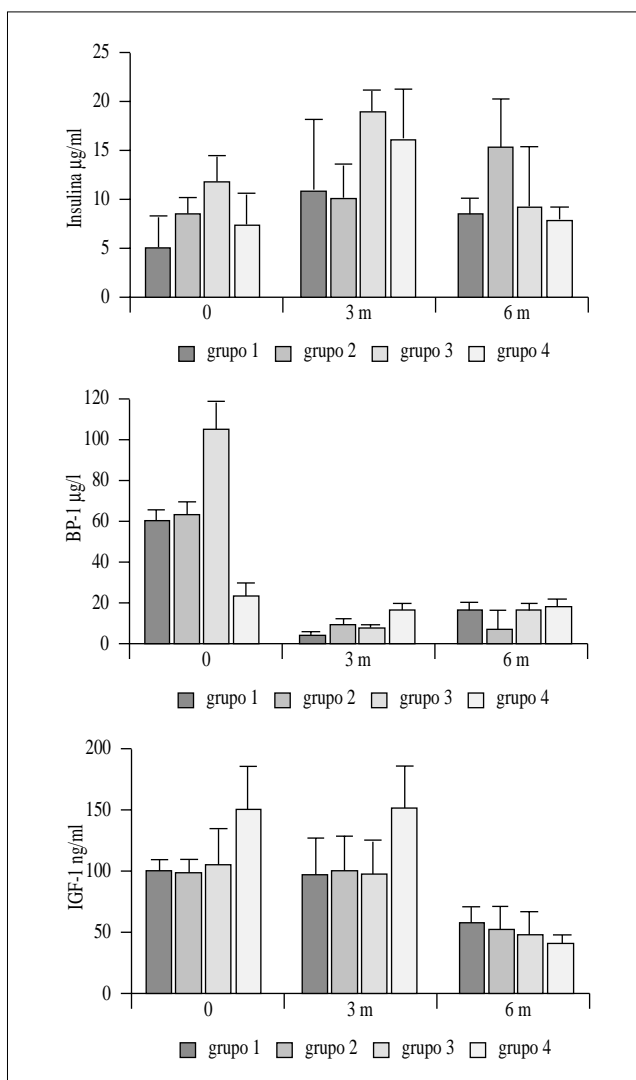
sem.gest.), niños nacidos a término con retraso del crecimiento intrauterino (CIR) y niños macrosómicos. 2.- Análisis comparativo de los niveles séricos de IGF-1, IGFBP-1, e insulina hallados al nacer, 3º y 6º mes de vida en los cuatro grupos mencionados anteriormente.

Material y Métodos: Se realizaron extracciones sanguíneas al nacer (sangre de cordón), eº y 6º mes para las determinaciones hormonales en 98 niños nacidos a término de PAEG (grupo 1), 33 niños nacido prematuramente con PAEG (grupo 2), 25 niños nacidos con CIR (peso y talla menor al perc.10, grupo 3) y 16 niños con peso y talla menor al perc. 97 (grupo 4).

La determinación de los niveles circulantes de Insulina (Sorin) e IGF-1 (Nichols Institute Diagnostics B.V.) se realizó por RIA y los de IGFBP-1 (Medix Biochemica) por enzimoimmunoanálisis.

Para el estudio estadístico se utilizó el test de Kruskal-Wallis y el test de Student para el análisis comparativo de las medias entre más de dos grupos y entre dos grupos respectivamente.

Resultados:



Conclusiones: 1. Los niveles circulantes de IGF-1 hallados en el grupo 4 a los 0 y 3º mes fueron significativamente más elevados que en el resto de los grupos. ($P < 0,05$ y $P < 0,05$). 2. El grupo de los niños con CIR presentaron al nacer concentraciones séricas de IGFBP-1

significativamente más elevadas que en el resto de los grupos ($p < 0,01$). Las IGFBP-1 descendieron en todos los grupos el 3er. y 6º mes. 3. En todos los grupos, menos en el 2, se observó un incremento de los niveles circulantes de Insulina al 3er. mes, para posteriormente descender al 6º mes.

7

ALERGIA CUTANEA A HORMONA DE CRECIMIENTO BIOSINTÉTICA: UN EFECTO SECUNDARIO DEL TRATAMIENTO

De Dios L, Prieto J, Lorente F, Alvarez E, Cedeño J, Alonso J

Unidad de Endocrinología Pediátrica. Hospital Universitario de Salamanca.

Introducción: Walker y cols. publican en 1992 (Pediatrics, volumen 90, nº1) el caso de una paciente que desarrolló una urticaria generalizada por hormona humana recombinante del crecimiento (Humatrope, Eli Lilly and Company) señalando que las reacciones alérgicas sistémicas al medicamento como urticaria, angioedema o anafilaxia no habían sido descritas hasta ese momento en la literatura. Anteriormente se habían notificado reacciones adversas a disolventes del medicamento.

La incidencia de alergia a GH exógena es escasa pero es una posibilidad que debe tenerse en cuenta. Presentamos el caso de un niño que sufrió dicho efecto secundario.

Observación Clínica: Niño de 9 años diagnosticado de hipopituitarismo idiopático con déficit demostrado de GH; se instaura tratamiento con hormona de crecimiento biosintética recombinante (Humatrope) 2 U. diarias. Después de 28 días de su administración presenta un exantema maculopapuloso, muy pruriginoso que forma una placa extensa en tronco, dorso y plano anterior y raíz de extremidades inferiores y otra placa menos extensa en región parotídea y retroauricular, acompañándose de tumefacción articular. Anteriormente no había presentado episodios similares.

Se retira la medicación y, una vez curado su exantema, se procede a realizar estudio alergológico con exposición controlada al medicamento; seis horas después de la exposición presenta prurito generalizado seguido de la aparición de lesiones eritematosas, habonosas, por todo el cuerpo similares a las que el niño había padecido anteriormente. Es tratado con antihistamínicos y esteroides con lo que mejora rápidamente.

Días después se le somete nuevamente a estudio para discernir si el problema de su hipersensibilidad era debido al disolvente. Las pruebas cutáneas al mismo (m-cresól al 0,3% y glicerina al 1,7%) resultan negativas.

Ante esta nueva comunicación de alergia a hormona del crecimiento consideramos de interés, como señalan Walker y cols. el tener presente la posibilidad de reacciones alérgicas agudas en el curso de tratamiento con hormona de crecimiento.

8

MASA MUSCULAR CARDIACA EN NIÑOS TRATADOS CON GH VERSUS NIÑOS CONTROL

Manrique MH, Méndez Fernández M, Selva E

Hospital Militar Universitario «Gómez Ulla»

Introducción: La importancia fisiológica de la GH en la estructura y función cardíaca es desconocida. Algunos casos de fallo cardíaco han sido diagnosticados en pacientes con hipopituitarismo previo no reconocido.

Objetivo: Estudiar la masa cardíaca del ventrículo izquierdo en niños tratados con GH.

Material: 129 niños que consultaron por retraso de crecimiento. De ellos, 34 recibieron GH.

Métodos: Cálculo de la masa del ventrículo izquierdo (MVI) mediante ecografía. Análisis de la varianza para edad, sexo y tratamiento.

Resultados:

A. Niños: 21 tratados con GH y 54 no.						
Edad años	MVI (gr)		MVI/m ²		gr de MVI/kg de peso	
	Tratados		Tratados		Tratados	
	si	no	si	no	si	no
1-4 a	44	37	36	30	3,29	2,9
4-6 a	55	53	45	43	3,93	2,87
6-8 a	94	84	75	68	2,88	2,59
8-10 a	111	65	89	53	3,54	2,43
10-12 a	117	86	94	69	2,5	2,7
Media	92	65*	74	52**	3	2,7***

B. Niñas: 13 tratadas con GH y 38 no.						
Edad años	MVI (gr)		MVI/m ²		gr de MVI/kg de peso	
	Tratadas		Tratadas		Tratadas	
	si	no	si	no	si	no
1-4 a	58	44	47	36	3,6	2,6
4-6 a	48	78	39	63	3	3
6-8 a	83	61	67	47	2,6	2,3
8-10 a	75	63	62	51	2,5	2,5
10-12 a	85	86	69	71	2,18	2,83
Media	77	59	62	53	2,49	2,48

Conclusión: Los niños tratados presentan un MVI mayor que los controles, * y ** p<0,01; *** p<0,1. En las niñas no se encontraron estos hallazgos.

9

TALLA FINAL EN NIÑOS CON DÉFICIT DE GH (DGH)

Gómez Gila A, Del Valle Núñez CJ, Ramírez Tortosa JA
H.I.U. «Virgen del Rocío». Sevilla.

Presentamos los datos auxológicos finales de 19 pacientes (8M y 11 H) con DGH idiopático (12 con DGH aislado y 7 con déficit múltiple).

Los primeros años recibieron HGH extractiva tres veces/semana por vía I.M. y, desde 1985, HGH recombinante 6-7 veces/semana por vía S.C.. La dosis media de HGH fue de 0,68±0,02 y de 0,56±0,08 U/kg/semana al inicio del tratamiento y de la pubertad, respectivamente. Se trataron hasta que, con una edad cronológica media (EC) de 16,7±1,2 años, cesaron el crecimiento o éste se redujo a una velocidad de crecimiento (VC) < a 2 cm/año.

La EC media al inicio del tratamiento era de 7,84±2,74 años y la talla media de -3,38±1,26 SDS.

La VC media durante el 1er. año de tratamiento (3,30±2,51 SDS) fue significativamente superior (p<0,001) a la del año previo al tratamiento (-2,04±1,07 SDS).

La talla final alcanzada por todos los pacientes (x=160,5±10,1 cm) es significativamente superior (p<0,05) a la pronosticada al inicio del tratamiento por el método TW₂ (x=150,9±6,4 cm). Este parámetro expresado en SDS es de -1,28±1,32 SDS, siendo muy similar en hombres (-1,22±1,32 SDS) y en mujeres (-1,36±1,41 SDS), y no existe diferencia significativa con la talla diana media (-1,53±0,9 SDS).

10

TALLA FINAL TRAS TERAPIA CON GH

Rica I, Beltrán de Heredia P, Merino I, Sobradillo B, Loridan L, Martul P

Endocrinología Infantil. Hospitales de Cruces y Basurto. Bizkaia.

Objetivo: Estudio de la talla final (TF) alcanzada en un grupo de pacientes con insuficiencia de hormona del crecimiento (GH). Detección de variables predictivas de dicha TF en función del tipo de diagnóstico, talla diana (TD) o aspectos relacionados con el tratamiento.

Pacientes y métodos: Hemos estudiado una muestra de 49 pacientes (58% niños y 42% niñas), tratados con GH a dosis de 0,6 UI/Kg/semana durante una media de 4,3±2,2 años. La edad de inicio del tratamiento fue de 11,1±2,5 años, con una edad ósea de 8,7±2,5 siendo prepuberales el 82%. Se practicó un test de generación de IGF-1 con determinación basal y tras 5 días de administración de GH. La estatura del grupo previa al tratamiento expresada en SDS para estándares de referencia locales (Hernández y col.) era de -2,6±0,9 y su índice de masa corporal se situaba entre los percentiles 25-50. Los pacientes se encuadraron en 4 diagnósticos: déficit aislado de GH (33%), panhipopituitarismo (20%), déficit neurosecretor (26%) y déficit transitorio (21%). Para valorar la relación entre talla final y talla diana creamos la variable diferencia de talla (DIF-TALLA: final-diana). El estudio estadístico se ha efectuado con el programa SPSS-PC+ (estadística descriptiva, comparación de medias y proporciones, test de correlación simple).

Resultados (datos expresados con x±DE): La velocidad de crecimiento durante el primer año de tratamiento expresada en SDS fue de 2,8±3,6. No existe diferencia estadísticamente significativa entre la TF alcanzada por el grupo (158,4±7,6 cms; I.C. 95%: 156,3-160,6) y la TD (159,8±7; I.C. 95%: 157,8-161,8). El test de generación de IGF-1 (UI/ml) mostró un incremento en porcentaje respecto al valor basal de 341,5±297%. No encontramos diferencias estadísticamente significativas en la TF media alcanzada en los 4 tipos de diagnósticos. La variable DIF-TALLA se correlaciona de forma significativa con la TD (r=-0,35) y con la velocidad de crecimiento durante el primer año (r)0,41).

Conclusiones: 1. La talla adulta alcanzada en este grupo de pacientes con insuficiencia de GH es similar a su talla genética. 2. Una respuesta inicial al tratamiento con mejor velocidad de crecimiento durante el primer año, guarda relación con la eficacia de la terapia, entendiéndose como tal la consecución de la talla diana. 3. No hemos encontrado valor predictivo de respuesta al tratamiento en base al test de generación de IGF-1. 4. La edad de inicio de tratamiento puede justificarse por la escasez de suministro de GH en los pacientes más antiguos y por la frecuencia de déficits adquiridos.

11

OBESIDAD Y FACTORES DE CRECIMIENTO

Cabrinety N¹, Ajram J¹, Martín JC¹, Gussinyé M², Bedos A³

¹Servicio de E. Pediátrica H. Sagrat Cor. Barcelona. ²Servicio de Endocrinología Pediátrica H. Valle Hebrón. Barcelona. ³Laboratorio hormonal General LAB-H. Sagrat Cor. Barcelona.

Objetivo: Presentar los resultados obtenidos de T3, T4, TSH, IGF1 e IGFBp3 en un grupo de niños obesos prepuberales, que fueron sometidos a seguimiento y tratamiento durante 1 año.

Material y métodos: Estudiamos a n=36 niños obesos, n=20 hembras con E.M=8,3 y E.O= 8,6 con VC mayor P50 e IMC mayor P97

y en E.P. (A1 P1 S1); y n=16 varones con edad media= 10,6 y E.O=10,10 con VC mayor P50 e IMC mayor P97 y E.P (A1 P1 G1 2cc/2cc).

Se realizaron controles a los 0,6 y 12 meses de T3, T4, TSH, IGF1 e IGFBP3.

Los resultados fueron analizados estadísticamente según análisis de la multivarianza.

Resultados: Al inicio, antes del control de la obesidad se observaron valores de T3 y T4 normales (T3 1,9 ng/ml y T4 6,1 pg/ml), y valores de TSH 5,7 mcu/ml que fueron más altos que los valores normales para la edad, siendo la diferencia significativa estadísticamente ($p < 0,01$). No se encontraron diferencias significativas entre sexos IGF1 480 ng/ml y IGFBP3 3,1 mg/l ($p < 0,05$).

A los 6 meses ya en control de su obesidad con $Vc > p50$ los valores de T3, T4 y TSH fueron: T3 2,1 ng/ml, T4 7,1 pg/dl y TSH 4,8 mcU/ml y la IGF1 490 NG/ML y la IGFBP3 3,2 ng/l no estadísticamente significativo en relación al anterior con un $p < 0,05$.

En relación a la IGF1 pudo observarse en un grupo de 10 niños, 6 varones y 4 mujeres un aumento estadísticamente significativo. IGF1 620 ng/ml sin modificar estadio puberales ni VC con $p < 0,001$. A los 4 meses ± 1 aumentaron su VC a 10 cm por año con inicio de la pubertad.

A los 12 meses con VC mayor a 75 p. e IMC=50 los valores obtenidos fueron: T3, T4 y TSH normales y la IGF1 475 ng/ml con IGFBP3 2,9 ng/l sin ser estadísticamente significativo entre sexos.

Conclusiones: En niños con obesidad nutricional desde la primera infancia presentan en la prepubertad un aumento de la lipogénesis con disminución de la lipólisis por resistencia periférica a las insulinas (como puede observarse por la mala respuesta a la estimulación de GH por hipoglucemia insulínica). Observamos un aumento no patológico de la TSH con discreta disminución de receptores de T3 que se normalizaron al control de la obesidad. Asimismo la IGF1 es alta.

En el grupo de niños obesos pudimos constatar que la IGF1 no es indicadora de la VC anterior sino a la posterior a la determinación.

12

PATRON LIPIDICO Y SU RELACION CON LOS NIVELES DE INSULINA SÉRICA EN NIÑAS CON HISTORIA DE PUBARQUIA PRECOZ

Ibáñez L, Chacón P, Potau N, López D, Gussinyé M, Carrascosa A
Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebrón. Barcelona.

Las adolescentes con historia de pubarquía precoz (PP) presentan hiperinsulinismo en comparación con adolescentes normales, que en algunos casos es de inicio prepuberal. En estadios poblacionales, el hiperinsulinismo se ha asociado a alteraciones de los lípidos y de las lipoproteínas. Por consiguiente, hemos determinado el perfil lipídico en 53 niñas con PP en distintos estadios puberales (Tanner I-V) y en 40 controles de edad ósea e índice de masa corporal similar, correlacionando los niveles de lípidos con los patrones de secreción insulínica después de una sobrecarga oral de glucosa (SOG).

Los niveles de colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol, apolipoproteína (Apo) A1, Apo-B, Apo C-II, Apo C-III, Apo E y lipoproteína (a) [LP (a)] fueron similares en pacientes y controles en el mismo estadio puberal. Sin embargo, las niñas con PP presentaron niveles más elevados de triglicéridos a lo largo de la pubertad que los controles ($p=0,03$; $p=0,04$ y $p < 0,05$ en los estadios II, III-IV y V de Tanner, respectivamente) y valores más bajos, aunque no significativamente distintos, de HDL colesterol y de la relación HDL/Lp(a). Los niveles de insulina basal y la insulina media sérica después de la SOG

se correlacionaron positivamente con los niveles de triglicéridos en pacientes y controles ($r=0,44$; $P=0,0006$ y $r=0,4$; $p=0,0009$, respectivamente). No se encontró correlación entre los lípidos y las cifras séricas de andrógenos o estrógenos.

Las niñas con PP presentan niveles más elevados de triglicéridos que las niñas normales desde el inicio del desarrollo puberal. Los niveles de insulina sérica parecen ser el mayor determinante del patrón lipídico, mientras que las cifras de andrógenos y estrógenos no parecen ejercer una influencia directa. Dado que el hiperinsulinismo y la hipertrigliceridemia son factores de riesgo cardiovascular, es aconsejable el seguimiento longitudinal del perfil lipídico de las niñas con PP después de finalizar la pubertad.

13

VALORACION CLINICO-BIOLÓGICA DE LAS PUBARQUIAS PREMATURAS

Perez P, Prieto J, Martín E, Martínez E, Alvarez E, Cedeño J
Unidad de Endocrinología Pediátrica. Hospital Universitario de Salamanca.

Se recogen 25 casos de niñas que acuden durante 1995 a la consulta de Endocrinología por primera vez o a revisión clínica por presentar vello púbico antes de los ocho años.

Material y Métodos: Se establecen 3 grupos: I. Niñas diagnosticadas de adrenarquía (A) 7. II. Niñas diagnosticadas de adrenarquía exagerada (AE) 11 (valores de DHEA-S y androstendiona superior al rango normal). III. Niñas diagnosticadas de hiperplasia suprarrenal congénita no clásica (HSC) 7 (déficit de 21 OH-asa)

Resultados:

Antropometría	Talla	Edad ósea	Peso	P.tricipital	P. subescapular
I	+0,61 D.S.	+0,34 años	+0,4 D.S.	+0,3 D.S.	+0,26 D.S.
II	+1,66 D.S.	+1,1 años	+1,12 D.S.	+1,1 D.S.	+1,01 D.S.
III	+1,73 D.S.	+2,02 años	+1,4 D.S.	+1,88 D.S.	+2,3 D.S.

Clinica asociada	I	II	III
Leucorrea	3	6	3
Axilarquia	1		2
Hipertrofia clítoris		7	4
Boton mamario		2	
Aumento vello		1	2
Acné			3
Pubertad precoz			2
Hemorragia genital			1

Valoraciones hormonales	I	II	III
DHEA-S (µg/dl)	66,6	137,4	177,2
Androstendiona (ng/ml)	0,55	0,82	1,43
17-OH progesterona (ng/ml)	0,5	1,3	17,7
Synacthen (pico máximo):			
DHEA-S (µg/dl)		140,7	172
Androstendiona (ng/ml)		1,24	1,7
17-OH progesterona (ng/ml)		4,15	36,8
11-DOC (ng/ml)	4,07	4,38	4,3
LH (mU/ml)	1,61	1,2	0,2
FSH (mU/ml)	2,26	3,6	1,1
Estradiol (pg/ml)	16,7	36,8	27,4

Conclusiones: 1. En el grupo I (32%) no se ven modificaciones hormonales, la talla, edad ósea y el panículo adiposo están ligeramente incrementados respecto a valores medios. 2. El grupo II (44%) se caracteriza por el aumento ligero de andrógenos suprarrenales no compatible con déficit enzimático. En el período puberal será preciso despistaje de hiperandrogenismo ovárico. El crecimiento se encontró avanzado y el panículo adiposo aumentado respecto al grupo I. 3. En el grupo III se encuentran los datos antropométricos más aumentados, valores hormonales característicos y asociaciones clínicas.

14

**OBESIDAD INFANTIL:
COMPOSICION CORPORAL Y GASTO ENERGETICO
EN REPOSO (GER)**

Lama M¹, Carrera P², Scherer J¹, Oliver A², Pinedo M¹,
Gracia R²

¹Unidad de Nutrición pediátrica. ²S. Endocrinología pediátrica.
Hospital Infantil La Paz. Universidad Autónoma de Madrid.

La obesidad infantil es un trastorno que repercute negativamente en la edad adulta. Esta repercusión es más negativa cuanto más precoz es el inicio.

Objetivo: Analizar la composición corporal el GER población pediátrica con obesidad.

Material: Se estudian 30 pacientes (14 niños y 16 niñas) con IMC-MAYOR2DS, separados en 2 grupos (p=0,00001). Grupo A: Menores de 10 años (6 niños y 4 niñas), E. media: 8,19±1,95 años. Grupo B: Tras la segunda revisión: 20 pacientes (8 niños y 12 niñas), E. media: 15,63±2,13 años.

Métodos: Bioimpedancia (BIA): Se utilizan fórmulas de la literatura. Antropometría (S) medición de 4 pliegues cutáneos fórmula de Densidad corporal (Durnin) y de masa corporal grasa (MCG). GER: calorimetría indirecta (Calorimet) tras 12 horas de ayuno.

Resultados: Los niños del grupo B representaron una talla inferior a los del grupo A (p=0,02), con un peso superior aunque no significativamente. La composición corporal comparada con el patrón de normalidad por BIA fue: A: MCG 196±40 %, MCM: 229±80,3 %, ACT (agua corporal total) 119±9 %, ACEx (agua extracelular): 116±61 %. B: MCG 288±33 %, MCM: 133±72 %, ACT (agua corporal total) 128±29 %, ACEx (agua extracelular): 132±39 %. Con S: A: MCG:241±40 %, MCM 202±70 %. B: MCG: 270±29,3 %, MCM 142±80 %. No hay diferencias significativas entre A y B, aunque A presentó mayor talla, mayor MCM, menor MCG. GER/Kg, MCM (kcal/Kg MCM): A:39,3±5; B: 34±6 (p=0,03). GER/Kg (Kcal/Kg peso): A: 27±3,8; B:20±2,9 (p=0,0001). P.Actividad metabólicas: A: 92±11 %, B: 91±12 %. GER tuvo una correlación estadísticamente significativa con MCM (BIA) con una p < a 0,0001.

GER media: 1541±307 Kcal/24h. (R=949 - 2252) MCM: 63±8 % P (R=47% a 75%)

Conclusión. 1. Hay una buena correlación entre GER y MCM por BIA en ambas poblaciones. 2. Aunque la actividad metabólica es similar, los niños menores de 10 años presentan un gasto energético por kilo de peso y por Kg de MCM superior al presentado por los niños mayores. 3. La adiposidad es mayor en los niños mayores de 10 años. A esta edad la talla no es superior a la media para su edad.

15

REBROTE ADIPOSO Y OBESIDAD INFANTIL

Rica I¹, Areitio G², San Martín MA, Sánchez E, Sobradillo B
Endocrinología infantil (Dpto. Pediatría) Hospitales de ¹Cruces y Basurto.
²Departamento de Economía Aplicada (UPV). Bilbao. Bizkaia.

La obesidad exógena está relacionada con un incremento de la morbi-mortalidad en la población adulta en función de su asociación a diversas patologías severas. La obesidad infantil conlleva un riesgo variable de mantenerse en la edad adulta que es mayor si la obesidad aparece o persiste en edades tardías de la infancia o durante la pubertad. Rolland-Cachera en 1984 relacionó la obesidad en la adolescencia con la edad del rebrote adiposo (ERA) que en el estudio de crecimiento francés aparecía en torno a los 6 años.

Objetivo: Establecer la edad del rebrote adiposo en nuestra población. Valorar la relación de dicha variable con la presencia de obesidad a los 12 años de edad.

Metodología y sujetos: Se ha determinado la ERA en una cohorte longitudinal de 200 niños, controlados desde el nacimiento hasta los 13 años de edad, que forman parte del estudio de crecimiento de Bilbao (Hernández y cols.). Definimos dicha variable en cada sujeto en función del índice de masa corporal (IMC) y del pliegue susecapular (PS), identificando la edad en la cual cada uno de estos índices muestra el valor inferior. Los datos antropométricos se recogieron trimestralmente durante el primer año de vida y de forma semestral hasta su finalización.

El estudio estadístico se ha realizado con el paquete SPSS.PC+ (estadística descriptiva, análisis de la varianza y regresión simple). Para valorar la relación entre la ERA y la presencia de obesidad puberal hemos subdividido la muestra en 3 categorías para cada sexo, en función del IMC a los 12 años (Delgados: IMC ≤ P₂₅; Normales: IMC = P₂₅₋₇₅; Sobre peso-obesidad: IMC ≥ P₇₅).

Resultados: 1.- En niñas la ERA es de 5,09±1,9 años para el IMC y 5,8±2,1 para el PS. En los niños la ERA es de 5,6±1,9 años para el IMC y de 6,4±1,8 para el PS. 2.- En ambos sexos el grupo de sujetos con una ERA más temprana tiene un IMC mayor a los 12 años (ANOVA, p<0,01). El subgrupo de niños/as con mayor IMC a los 12 años tienen como media una ERA respecto al IMC significativamente más precoz (ERA: 4±1,1 años para niñas y 4±1,6 en niños). 3.- Existe una correlación negativa estadísticamente significativa en ambos sexos entre la ERA y el IMC a los 12 y 13 años (coeficientes de correlación comprendidos entre -0,45 y -0,57).

Conclusiones: 1. La edad del rebrote adiposo, en base al IMC en nuestra población, es anterior a la descrita en el estudio de crecimiento francés. 2. La aparición precoz de la ERA es un factor de riesgo para la presencia de sobre peso, obesidad durante la pubertad.

16

**SEGUIMIENTO DURANTE UN AÑO DE LA OBESIDAD NUTRICIONAL
EN UNA CONSULTA DE ENDOCRINOLOGIA PEDIATRICA**

Huber E, Goicoechea A, González Y, Liemlahi S, Fernández García JM
Hospital Universitario de Granada. Unidad de Endocrinología infantil.

Objetivo: Valoración de los resultados obtenidos durante un año en nuestros pacientes pediátricos con obesidad nutricional.

Material y método: Revisión de 78 niños obesos controlados en la Unidad de Endocrinología Pediátrica del Hospital Universitario de Granada. Excluida otra causa endocrinológica de obesidad, se proce-

dió en todos ellos a una valoración somatométrica y nutricional, determinándose: Peso, Talla, Pliegues cutáneos (PT, PB, PSE, PSI) y Perímetro Braquial. Índices antropométricos: P/T, P/T2, P/T3, índice ponderal, densidad corporal y porcentaje de grasa corporal. Como método estadístico se utilizó el test-t (Student).

Resultados: De los 78 pacientes estudiados, solamente 57 de ellos acuden a más de una revisión; 25 niños acuden menos de 6 meses y 32 niños más de 6 meses. Entre los parámetros analizados se obtuvo indicios de significación en:

	Inicio		<6 meses		6 meses-Iaño	
	Media	SDS	Media	SDS	Media	SDS
PT	25,356	5,681	22,764	5,117	21,153	7,119
P/T3	19,065	2,371	17,869	2,377	17,755	2,724
D.C.	1,017	0,011	1,020	0,010	1,023	0,014
% G.	36,840	5,008	35,473	4,643	34,038	6,548

Conclusiones: Ante la falta de continuidad en el seguimiento de nuestros pacientes con obesidad nutricional, podemos decir que aunque no conseguimos una reducción evidente de peso si logramos detener la misma y modificar tejido adiposo a favor de un incremento de sus estructuras magras.

17

¿LOS VALORES LIPOPROTEICOS A LOS 4 AÑOS ESTAN ASOCIADOS CON LOS QUE TENIAN EN SANGRE DE CORDON?

Aragón A, Alonso LA, Martínez-Campos M, Bastida S, Sánchez-Muniz F, Cuenca R, Perea S, Ureta A
Servicio de Pediatría. Hospital Virgen de la Salud. Toledo.

El screening de los niveles de colesterol en sangre de cordón ha sido propuesto como método para identificar hipercolesterolemias. Su detección precoz implicaría un tratamiento preventivo de futura enfermedad cardiovascular.

Material y Métodos: De una muestra de 705 niños se determinaron los valores lipoprotéicos en sangre de cordón. 36 tuvieron el colesterol total (CT) mayor de 100 mg/dl (Grupo hipercolesterolémico); 39 tuvieron alteraciones distintas al colesterol (Grupo displipémico); el resto de niños (Grupo control) no tenían ningún valor alterado.

Se describen los valores lipoprotéicos de 21 niños del grupo hipercolesterolémico y de 17 niños del grupo control a las 4 años de edad. Estudiamos las asociaciones, mediante regresión lineal múltiple, entre los valores lipoprotéicos a los 4 años de edad con los de sangre de cordón datos dietéticos-antropométricos de los padres y niños a los 4 años, y valores lipídicos de los padres.

Resultados: valores lipídicos en mg/dl.

	En sangre de cordón		A los 4 años de edad:	
	Control	Hipercol.	Control	Hipercol.
CT	62,8±14,1	117,3±18,6	186,7±38,4	203,6±57,5
TG	38,4±11,8	50±27	59,6±16,5	65,7±20,9
LDL	26,5±12,1	67,5±26	126±33,3	140±57,1
HDL	24,1±9,4	39,7±14,8	48,8±10,8	50,5±8
Apo A1	71,7±12,1	59,1±31,9	167,7±24,2	168,7±24,4
Apo B	27,0±6,4	36,3±13,4	104,8±28,8	112,9±39

Se encuentra una asociación estadísticamente significativa, entre los valores de colesterol total ($R^2 = 0,4746$; $p < 0,0162$), Apo B

($R^2 = 0,5706$; $p < 0,0233$), y HDL ($R^2 = 0,2954$; $p < 0,0236$) a los 4 años y los mismos de sangre de cordón.

Conclusiones: 1. Encontramos asociación entre los valores de colesterol total, apo B y HDL en sangre de cordón y a los 4 años de edad. 2. Aunque se precisen más estudios, la determinación algunos lípidos en sangre de cordón puede predecir sus valores futuros.

18

HIPOCRECIMIENTO Y ENFERMEDAD CELIACA

Oyágüez P, Glez. Herrero M, Garrote JA, Calvo C, Mtnez. Sopena MJ
Departamento de Pediatría. Hospital Universitario. Valladolid.

El diagnóstico de enfermedad celíaca (EC) ofrece pocas dudas cuando se establece la sospecha a edad temprana, con sintomatología malabsortiva. Los cambios actuales en la valoración de la incidencia de la enfermedad y su menor expresividad clínica, determinan que pacientes afectados de EC sean diagnosticados en consultas de endocrinología. En el estudio de hipocrecimiento se incluye la práctica de Ac anti gliadina y antiendomiso, tras una época en la que la biopsia intestinal (BI) era el único método dco. sobre 98 BI practicadas a hipocrecidos, efectuamos en su día 1 dco de EC (1,02%); sobre 263 determinaciones de IgA antiendomiso, practicadas en el protocolo de hipocrecimiento en una época posterior, se han diagnosticado 5 pacientes (1,9%).

En un intento de diferenciar criterios auxológicos de EC clásica frente a pacientes con menor sintomatología, hemos recogido datos de 65 enfermos, considerando 2 grupos, según el dco se haya efectuado <3 y entre 3 y 10 años. La comparación de ambos grupos muestra significación tan sólo para el % peso/talla e IMC. La afectación de talla es similar. El grupo 3 lo forman los 4 pacientes monosintomáticos despistados.

Grupo	Edad (dec)	Talla (DS)	% P/Talla	IMC (DS)
1 (n=50)	1,26±0,05	-1,13±0,19	-18,60±1,34	-2,13±0,15
2 (n=15)	5,83±0,55	-1,10±0,28	-6,26±1,94	-0,66±0,17
3 (n=5)	13,41±0,81	-2,18±0,07	-0,35±4,33	-0,57±0,26

Se analiza a partir del dco, la situación auxológica evolutiva de ambos grupos, al final del período sin gluten y de la provocación, así como durante la exención definitiva, aportando los datos de maduración ósea, la relación respectiva con la talla diana y el cumplimiento del pronóstico de talla en los pacientes con talla definitiva.

Comentario: El hipocrecimiento en la EC, muestra expresividad clínica individual, instaurándose de forma evolutiva. La afectación ponderal sólo es significativa en el componente de la infancia (esquema de Kalberg) y la práctica sistemática de IgA antiendomiso en los protocolos de hipocrecimiento, permite despistar formas monosintomáticas.

19

RELACION ENTRE LA MADURACION OSEA (M.O.) Y MEDICIONES PLANIMÉTRICAS AUTOMATIZADAS (MPA)

Suanes Cabello A, Cañete Estrada R
Hospital Universitario «Reina Sofía». Córdoba.

Introducción. Nuevos procedimientos informáticos permiten recuperar el estudio de las mediciones en las imágenes óseas para valoración de la M.O.

En este trabajo hemos analizado la relación de varias de éstas medidas con la M.O. (método TW2) y algunos datos auxológicos.

Material y Métodos. Se han determinado por un programa informático de análisis de imagen el Área, Perímetro (Prm), Radio medio (Rmd), Radio máximo (Rmx), Radio mínimo (Rmn) y Diámetro (Dmt) en las imágenes óseas de 200 radiografías de mano y muñeca izquierdas, pertenecientes a niños (as) entre 2 y 18 años.

Se estudia la relación entre datos auxológicos (peso y talla) de los niños, y la valoración de la M.O. por los 3 scores del TW2 (TW-20 huesos, RUS y CARPO) con las medidas planimétricas. Se obtiene el coeficiente de correlación lineal parcial (eliminando la edad) entre las variables.

Resultados. Los coeficientes más significativos ($p < 0,05$) han sido:

Area/Peso:	0,268	Area/Talla:	0,484
Prm/talla:	0,501	Parm/TW-20:	0,742
Prma/RUS:	0,613	Prm/CARPO:	0,700
Rdm/TW-20:	0,730	Rdm/RUS:	0,598
Rmx/RUS:	0,598	Dmt/CARPO:	0,697

Conclusiones. Las MPA evaluadas se correlacionan mejor con la M.O. (TW2) que con los datos auxológicos (peso, talla).

Estos datos indican la posible utilidad de las MPA para valorar la M.O.

20

ESTUDIO DE LA MADURACION OSEA (M.O.) POR VALORACION AUTOMATIZADA DE MORFOMETRIA OSEA

Suanes Cabello A, Cañete Estrada R
Hospital Universitario «Reina Sofía». Córdoba.

Introducción. Los cambios en el tamaño óseo se identifican con el crecimiento, en tanto que los de la forma se consideran como indicadores de la M.O. Se estudia la adecuación de varias fórmulas, que valoran cambios morfológicos, para la evaluación de la M.O.

Material y Métodos. Se valoran 200 radiografías de mano y muñeca izquierdas de niños(as) entre 2 y 18 años por análisis automatizado de imagen. Se determinan varias fórmulas que valoran la separación de la forma circular: $FFC = 4 \cdot \text{ÁREA} / \text{Perímetro}^2$; $P-A = \text{Perímetro}^2 / \text{Área}$; $R-A = \text{Área rectángulo mínimo inscrito} / \text{Área total hueso}$.

El coeficiente de correlación parcial (excluyendo la edad) relaciona las fórmulas descritas, datos auxológicos y la M.O. (TW2).

Resultados. Se obtienen coeficientes de correlación parcial significativos ($p < 0,05$) para:

FFC con: $\text{Peso}/\text{TW-20}/\text{CARPO}: -0,267/0,245/0,348$;

P-A con: $\text{Talla}/\text{TW-20}/\text{RUS}/\text{CARPO}: 0,264/0,466/0,379/0,475$;

R-A con: $\text{Talla}/\text{TW-20}/\text{RUS}/\text{CARPO}: 0,258/0,461/0,344/0,491$.

Conclusiones. Las fórmulas evaluadoras de cambios de forma se correlacionan mejor con la M.O. (TW 2) que con los datos auxológicos (peso, talla). Esto indica su posible utilidad en la evaluación de la M.O..

21

DIABETES INSÍPIDA Y SÍNDROME CONSTITUCIONAL. FORMA DE PRESENTACION DE UN TUMOR DE CÉLULAS GERMINALES

Romero I, Bastero R, López Bermejo A, Luna C, Gallego ME,
Sánchez del Pozo J, Lledó G

Dpto. de Pediatría. Sección de Endocrinología y Nutrición Pediátrica. Hospital 12 de Octubre. Madrid.

Introducción: Presentamos el caso de un paciente con un tumor in-

tracraneal de la región hipotálamo-hipofisaria y pineal que debuta como una diabetes insípida inadvertida durante 6 meses, y un cuadro constitucional diagnosticado previamente como posible anorexia nerviosa.

Caso clínico: Motivo de consulta: Varón de 14 años que presenta desde hace 6 meses astenia, anorexia, pérdida de peso progresiva (20 Kg.), dolor epigástrico frecuente, y cambio de la conducta con disminución de su actividad habitual. Cuatro meses antes se realiza estudio en otro centro hospitalario (analítica de sangre y orina, radiología de tracto intestinal completo, y esofagogastroenteroscopia con biopsia intestinal, que son normales; hormonas tiroideas normales, $\text{FSH} < 0,1$, $\text{LH} 2'5$) en el que se descarta patología gastrointestinal, polidipsia compulsiva (4-6 litros/día), con poliuria y nicturia, desde el inicio del cuadro. No presenta sintomatología neurológica.

Antecedentes personales y familiares: sin interés. PRN: 3'800Kg, Talla de RN: 52 cm.

Exploración: Peso: 36,200Kg. ($< p3$). Talla 162,2 cm (p50). BMI: 14,4. Estado nutricional caquéctico, con escaso panículo adiposo. Palidez y sequedad de piel y mucosas. Gingivitis. Pápulas hiperqueratósicas-xeróticas parcheadas en tronco y miembros. ACP normal. Abdomen depresible, sin masas ni visceromegalias, con dolor epigástrico a la palpación. Desarrollo puberal: Tanner III con moderada involución de caracteres sex. 2º. Neurológico; nistagmo horizontal bilateral y vertical de la mirada hacia arriba, e hippus papilar. Fondo de ojo normal.

Pruebas complementarias: Hemograma: anemia normocrómica. Bioquímica: normal. Natremia: 150 mEq/L. $\text{Osmol}_{\text{plasma}}: 263 \text{ mOsm/L}$; $\text{Osmol}_{\text{orina}}: 66 \text{ mOsm/L}$. $\text{Dens}_{\text{orina}} < 1,005$. RMN craneal: múltiples lesiones intracerebrales que se realizan con contraste en región pineal e hipotalámica global con afectación de tallo e hipófisis, techo y velo medular del IV ventrículo. RMN columna vertebral: normal. LCR: 110 cel/L mononucleadas con características de malignidad. Alfafetoproteína elevada en LCR (279 uI/ml) y en sangre (290 ml/ml). Beta-HCG negativa en sangre y LCR. Hormonas tiroideas: normales. Gonadotropinas: FSH: 1,0 mUI/ml; LH indetectable. Prolactina: pte. Testosterona basal 20 ngr./ml. Cortisol basal: 3,3 microgr./dl. y noche: 3,5 microgr./dl. con ritmo anulado. Cortisoluria_{24h}: 29 microgr. (normal 90-260). ACTH basal 50 pgr/ml. Pendiente de otras determinaciones hormonales.

Juicio diagnóstico: Tumor intracraneal de cel. germinales con deficiencias hormonales 2ª (diabetes insípida central, hipogonadismo hipogonadotropo, y probable hipofunción suprarrenal).

Evolución: Al iniciar tratamiento con desmopresina intranasal desaparece la polidipsia-poliuria y se normaliza la natremia y la osmolaridad sérica y urinaria. Igualmente inicia terapia nutricional y tratamiento quimioterápico.

Comentario: La diabetes insípida tiene como etiología más frecuente los tumores de la región hipotalámica (craneofaringioma, disgerminomas, gliomas ópticos, e histiocitosis de células de Langerhans), siendo forma habitual de presentación de éstos, junto con otros trastornos hipotálamo-hipofisarios, precediendo incluso años a la aparición de síntomas neurológicos.

22

PSEUDOTUMOR HIPOFISARIO Y DIABETES INSÍPIDA CENTRAL: NECESIDAD DE UNA ACTITUD EXPECTANTE

Caimari M¹, Ferragut J¹, Calvé C¹, Taboada D²

¹Hospital Son Dureta y ²Clínica Femenía. Palma de Mallorca.

Presentamos una niña de 10 años con síntomas típicos de diabetes

insípida, cefalea frontal y visión borrosa. Una vez confirmado el diagnóstico, la respuesta positiva al test de DDAVP demostró el origen hipofisario. La TAC cerebral fue normal. Por RMN se evidenció aumento de tamaño de hipófisis, ensanchamiento del tallo hipofisario e infundíbulo (5mm), abombamiento del diafragma sellar y desaparición de la señal hiperintensa de la neurohipófisis. Ello sugería tumoración de la neurohipófisis e infundíbulo (histiocitosis, germinoma, etc.). Los marcadores tumorales fueron negativos en suero y LCR, no pudiendo objetivarse otra patología. No existía afectación de la hipófisis anterior.

Se decidió una actitud expectante. Sucesivas RMN (2,8 y 18 meses después de la inicial) mostraron una reducción progresiva del tamaño de la hipófisis, normalización del infundíbulo y del diafragma sellar.

Creemos que en los casos de D.I. central sin etiología tumoral claramente definida es necesaria una espera prudente, difiriendo la cirugía. La resolución espontánea del caso confirma el carácter no maligno (posiblemente debido a infundíbulo-hipofisitis autoinmune) del cuadro. La D.I. suele ser definitiva.

23

ABSCESO HIPOFISARIO. PRESENTACION DE UN CASO

Aguirre A¹, Sobradillo B¹, Del Val CH¹, Salazar J², Zaballa J¹, Indiano J¹
¹Servicio de Pediatría y ²Servicio de Neurocirugía del Hospital de Basurto. Bilbao.

El absceso hipofisario es un proceso poco frecuente, especialmente durante la infancia. Habitualmente suele ser un diagnóstico intraoperatorio.

Caso Clínico: Paciente de 14 años de edad, que ingresa por un proceso de 15 días de evolución que cursa con fiebre, cefaleas occipitales que ceden bien con paracetamol, polidipsia llamativa, pérdida de peso, astenia, anorexia y amenorrea (un mes). A las 24 horas de su ingreso la fiebre desapareció, confirmándose la existencia de una diabetes insípida, así como un hipotiroidismo e hipogonadismo: T4 libre: 9 pmol/l (VR=11-24 pmol/l) TSH: 0,10 mcU/ml. Estradiol: 22 pg/ml. LH: <2 mU/ml. FSH: 4,6 mU/ml. ACTH basal: 9 pg/ml y tras hipoglucemia insulínica: 10 pg/ml. GH basal: 5,3 ng/ml, pico máximo de GH tras hipoglucemia insulínica: 17,6 ng/ml. Prolactina: 50,8 ng/ml (2-20 ng/ml). En la RNM se aprecia una masa intrasellar de 2x1x1,5 cm. con un centro hipodenso rodeado de una pared gruesa con pequeñas prominencias que prostruyen hacia el interior líquido. Fue intervenida accediendo por vía transfenoidal, encontrando un contenido purulento. El estudio histológico no evidenció la existencia de células tumorales. Los cultivos fueron negativos. La evolución postoperatoria fue satisfactoria, normalizándose parcial y progresivamente la función hipofisaria.

Discusión: El tiempo de evolución desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico en los casos publicados es muy variable oscilando desde 5 días a 20 años. La importancia de hacer un diagnóstico preoperatorio es importante fundamentalmente para iniciar tratamiento antibiótico precozmente y acceder por vía transfenoidal para evitar la diseminación del pus si se practica craneotomía. Los síntomas sugerentes de un absceso hipofisario son: fiebre, cefaleas, vómitos, alteraciones visuales, meningitis de repetición, y dentro de la afectación endocrinológica los más frecuentes son la diabetes insípida y las alteraciones menstruales. No obstante en nuestro caso el síndrome febril fue poco significativo ya que cedió espontáneamente, por lo que ante

un cuadro sugestivo de tumor hipofisario, con una imagen compatible con una masa quística o tumoración necrosada, si ha existido fiebre (aunque no sea constante), hay que pensar en la posibilidad de que se trate de un absceso hipofisario.

24

HIPERPROLACTINEMIA EN UN VARON ADOLESCENTE

Abadia I, Soria J, Vila C, Gussinyé M, Potau N, Carrascosa A
Hospital Universitario Materno Infantil Vall d'Hebron. Barcelona.

El motivo de la comunicación es el diagnóstico precoz de un macroprolactinoma en un varón adolescente, muy poco frecuente antes de los 20 años de edad, y discutir su forma de presentación.

Se trata de un joven de 15 11/12 años de edad, que nos fue remitido por su pediatra endocrinólogo por escaso desarrollo sexual (P2 G2, 10/10 cc.). La 1ª exploración (habían transcurrido 3 meses desde la exploración realizada por su pediatra) presentaba un desarrollo puberal de P2 G2 25/30cc, Talla de 163,7 cm (-1,4 DS), IMC 26,4 (+1,8DS), Edad ósea 13 años, imberbe y voz infantil.

Exploraciones complementarias: Testosterona basa 103 ng/dl, Megatest: Glicemia 79/28 mg/dl, GH 0,3/0,3 ng/ml, LH 1,9/8,6 IU/L, FSH 2,4/3,2 IU/L, Cortisol 17/23 mg/dl, TSH 3/11 mUI/L, Prolactina 546/637 ng/ml. No presentaba picos nocturnos de LH-FSH. RMN cerebral se observa un macroadenoma que ocupa toda la hipófisis.

Evolución: Se realiza el diagnóstico se macroprolactinoma, iniciándose tratamiento con bromocriptina a 20 mg/día, a los 15 días la prolactinemia era de 14 ng/ml y la testosterona de 375 ng/dl, a los 4 meses en adenoma se había reducido a la mitad y el desarrollo puberal era de G3-4 P3 25/30cc, la velocidad de crecimiento pasó de 3,8 a 6 cm/año.

Comentario: La hiperprolactinemia inhibe inicialmente la esteroidogénesis gonadal, y sólo cuando ocupa toda la hipófisis inhibe la secreción de gonadotropinas, esto nos explicaría el gran desarrollo testicular junto con un estancamiento de desarrollo genital que se reinstaura al normalizarse la prolactinemia.

25

ACROMEGALOIDISMO CON HIPOFISITIS Y AUSENCIA DE TALLO HIPOFISARIO

Ramírez J¹, De la Rubia L¹, Villó N¹, Ramos P², Herrero MG², Blanco J¹, Frías G²

¹Servicio de Pediatría. ²Servicio de Radiodiagnóstico. Hospital «Príncipe de Asturias». Alcalá de Henares. Madrid.

Introducción. El acromegaloidismo es un cuadro en el que se produce un crecimiento anormal con alteración de determinadas proporciones corporales, que recuerdan a la acromegalia, con niveles de GH normales.

Caso. Niña remitida a los 13 años y medio de edad por retraso puberal. Parto vaginal de nalgas. Manos y pies grandes desde el nacimiento. Talla elevada desde siempre. Ausencia de síntomas de hipotiroidismo o insuficiencia adrenal. No cefaleas. Tallas elevadas en familia paterna. En el examen físico se aprecia frente olímpica con ligero prognatismo y pabellones auriculares prominentes. Ligero aumento de grasa en cintura escapular. Peso 58,5 Kg. (+0,82 DS). Talla 167 cm (+1,3 DS). Segmento superior 74 cm. e inferior de 93 cm. SS/SI: 0,79. Talla de pie 43 (30cm). Examen neurológico normal. Niveles hor-

monales: ACTH 31 pg/ml; Testosterona 200 pg/ml; T4L 0,46 mg/dl; IGF-I 53 ng/ml; IGFBP-3 0,49 mg/dl; DHAS-S 7 µg/dl. Test de tolerancia oral de glucosa (TTOG) normal. Ausencia de respuesta de TSH (5,4 ⇒ 4,35 µUI/l) y Prolactina (16,4 ⇒ 14,3 ng/l) tras TRH. Nula respuesta del cortisol (0,7 ⇒ 0,6 µg/dl) a la insulina. Cortisol tras primación con ACTH: 0,9 ⇒ 11,5 µg/dl. Ausencia de respuesta de LH (<0,6 mUI/ml) y FSH (2,9 ⇒ 2,5 mUI/ml) tras LHRH. Ausencia de respuesta de los test dinámicos de GH:

	Basal	15	30	60	90	Un
GOTT	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	ng/dl
GRF	0,1	0,7	1,6	2	1,1	ng/dl
INSULINA	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	ng/dl
CLONIDINA	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	ng/dl

Cariotipo: 46XX. Edad ósea 11 años y medio. RMN: ausencia de tallo hipofisario y neurohipófisis ectópica. A la edad de 18 años su talla es de 180,5 cm (+3DS).

Conclusión. Hasta ahora se habían descrito diversas alteraciones hormonales en el acromegaloidismo, habiéndose sugerido una disfunción del eje H-H. En este caso se ha evidenciado una ausencia del tallo hipofisario con hipopituitarismo y neurohipófisis ectópica. El factor de crecimiento, diferente de la GH, responsable del crecimiento somático en nuestro caso, es independiente del eje H-H.

27

PUBERTAD PRECOZ CENTRAL EN NIÑAS: RESULTADOS TRAS TRATAMIENTO CON ANALOGOS GnRH

Suarez MD, Holgado MA, Agustín MC, Sánchez R, Moreno C, Espigares R, Barrionuevo JL

Hospital Materno Infantil. U. Endocrinología Pediátrica. Granada.

Objetivo: Valorar los efectos del tratamiento con análogos GnRH sobre los cocientes ET/EO, EO/EC, pronóstico de talla adulta (PTA), velocidad de crecimiento (V.C.).

Pacientes y Métodos: Se han estudiado 14 niñas diagnosticadas de Pubertad Precoz Central (E.C. media de consulta de 7,47 y E.O. media de 10), basándonos en los siguientes criterios: aparición precoz de caracteres sexuales secundarios (< 8 años), ecografía genital con características y dimensiones de útero y ovarios correspondientes a edad puberal (volumen ovárico > 2cc), respuesta puberal al test de LH-RH (pico medio FSH: 16,67, y pico medio de LH: 49,12), niveles puberales de estradiol plasmático (media 39,4) y V.C. acelerada (P > 97).

Las pacientes fueron tratadas con Triptorelina Depot I.M. a dosis medias de 80 mcgr/kg c/28 días durante al menos dos años.

Para la PTA se ha utilizado el método de Bayley-Pineau, para la EO el método de Greulich-Pyle y para la V.C. las tablas de Tanner-Whitehouse.

Resultados: 1º Disminución de la V.C. tras dos años de tratamiento (en 9 de las niñas V.C. < P₃, en el resto V.C. entre P₆₈ y P₉₀), con disminución del cociente EO/EC, y sin detrimento del cociente ET/EO. 2º PTA tras dos años de tratamiento similar a la estimada al inicio del mismo.

Conclusiones: No hemos evidenciado que el tratamiento con Triptorelina mejore el PTA en nuestra serie de pacientes (con una edad media al inicio del tratamiento relativamente alta: 8,4). Sin embargo se logra frenar la aceleración de la edad ósea así como la progresión de los caracteres sexuales secundarios y la aparición de la menarquia.

29

UTILIDAD DE LA RESONANCIA NUCLEAR MAGNÉTICA (RNM) EN EL DIAGNOSTICO DE PATOLOGIA HIPOTALAMO HIPOFISARIA CONGÉNITA

Albisu M, E. Vazquez, Lucaya J, Vicens-Calvet E, Gusinyer M, Potau N, Carrascosa A

Hospital Materno Infantil. Valle de Hebron. Barcelona.

Introducción: La RNM se ha demostrado como la técnica de imagen más adecuada para la evaluación de la región selar y supraselar, por su capacidad multiplanar, su mayor capacidad de contraste de los tejidos blandos y su carácter poco invasivo. Con dicha técnica se han puesto de manifiesto anomalías anatómicas en patología hipofisaria considerada «idiopática». Presentamos los resultados de la RNM de 10 pacientes afectados de Síndrome de Kallman.

Pacientes: 10 (8 varones, 2 mujeres) diagnosticados entre 1 semana de vida y 11 años. 8 presentan déficit múltiple (ACTH, TSH; GH, LH y FSH) y 2 presentan déficit de GH y gonadotropinas. El segundo grupo lo constituye 3 pacientes que presentan hipogonadismo y anosmia.

Método: Se ha practicado la RNM entre los 4 y 18 años, mediante una unidad magnética (Magnetom of Impact Siemens).

Resultados: En los 8 pacientes afectados de déficit múltiple se evidencia la triada de: adenohipófisis hipoplásica, transección del tallo y neurohipófisis ectópica. Los 2 pacientes con déficit de GH y gonadotropinas presentan adenohipófisis hipoplásica sin transección del tallo. En los tres pacientes con S. De Kallman se evidencia ausencia de bulbos y tractos olfatorios con normalidad de la hipofisis.

Conclusión: La RNM es una técnica útil para ayudar en el diagnóstico de la patología congénita hipotálamo hipofisaria.

30

FIBROADENOMA DE MAMA EN UNA NIÑA DE 17 MESES

García Fraile ML, Díaz Lázaro J, González Ipiña M, Molina Rodríguez MA, Gracia Bouthelier R

Servicio de Endocrinología. Hospital Infantil «La Paz». Madrid.

Introducción. Los tumores de mama en la infancia y adolescencia son raros; el fibroadenoma es el más frecuente en mujeres jóvenes y adolescentes. El tipo juvenil representa el 2-7% de ellos.

Caso clínico. Niña de 17 meses que consultó por tumefacción de mama izda. de 2 meses de evolución que aumentaba progresivamente de tamaño. En la exploración, en mama izda. se apreció una masa de 5 cm. de diámetro, dura, no dolorosa, no adherida, con el pezón ligeramente retraído, la aréola no pigmentada y con dilatación venosa superficial. No se palpaban adenopatías.

Exploraciones complementarias: Test de LH-RH, RX de tórax y ecografía pélvica fueron normales. En ecografía y mamografía se vio una imagen homogénea, ovalada, de bordes nítidos. En la PPAF, la imagen citológica podía corresponder a fibroadenoma juvenil o a tumor fillodes. Se extirpó la tumoración respetando la glándula mamaria.

El estudio anatomopatológico confirmó que se trataba de un fibroadenoma juvenil de mama.

Comentario: El fibroadenoma juvenil de mama es excepcional antes de la menarquia, no habiéndose descrito ningún caso de tan corta edad.

HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA NO CLÁSICA: SIETE OBSERVACIONES

E. Martín, J. Prieto, P. Martín, E. Alvarez, J. Cedeño,
E. Martínez

Unidad de Endocrinología infantil. Hospital Universitario. Salamanca

La hiperplasia suprarrenal congénita no clásica (HSCNC) por déficit de 21 hidroxilasa es uno de los defectos autosómicos recesivos más frecuentes en el ser humano. Presentamos seis niñas con este diagnóstico y una con defecto de 11-hidroxilasa.

Pacientes y material: Se estudian siete niñas de edades comprendidas entre 4,7 y 8,6 años cuyo motivo de consulta fue: pubarquia -4-, hemorragia vaginal -1-, talla elevada -1- y botón mamario -1-. Se realiza antropometría y exámenes complementarios: Prueba de estimulación con ACTH (Synacthen), test LH-RH, valoraciones de ACTH, renina, aldosterona, testosterona total y libre, estradiol, cortisol, citología vaginal, ecografía pelviana y suprarrenal y en alguna niña, tipaje HLA B14, test de frenado con dexametona y TAC abdominal.

Resultados: En todos los casos se encontró pubarquia prematura.

Tabla I. Antropometría

Casos clínicos:	1	2	3	4	5	6	7
Edad decimal (años)	7,2	8,4	7,8	8,6	7,1	4,7	6,7
Talla (desv.est.)	+2,3	+1,2	+1,5	+3,1	+2,0	+1,3	+1,5
Edad ósea (incr.años)	+3,0	+2,1	+2,2	+2,4	+2,2	+1,0	+1,8

Tabla II. Resultados de estudio hormonal suprarrenal

Caso clínico n	1	2	3	4	5	6	7
17-OH-Progesterona (ng/ml)	12,5	26,5	7,7	18,0	10,0	44,8	4,5
T.Synacthen (17-OH-prog.)	15,6	29,9	11,2	39,0	14,0	86,6	5,6
DHEA-(meg/dl)	680,0	165,0	253,0	227,0	133,0	122,0	
Androstendiona (ng/ml)	1,7	1,14	0,94	1,6	0,9	3,1	0,6
ACTH (pg/ml)	75,8	70,9	77,5	44,6	108,3		45,6
Cortisol (meg/dl)	22,6	21,6	25,6	27,6	27,2		6,0
11-Deshoxicortisol (ng/ml)	2,7	3,1	5,94	2,4	3,5		11,3
Renina (meg/ml/h)	1,46	1,63	1,12		0,4	2,0	4,83
Aldosterona (pg/ml)	125	147	265	-	226	-	307

En los dos casos en que se realizó tipaje HLA se encontró el haplotipo B14.

Comentarios: 1. La forma de expresión clínica de las HSC NC suele ser la aparición de pubarquia prematura asociada a edad ósea acelerada y talla alta. 2. El caso de hemorragia vaginal se puede explicar por la aromatización periférica de los andrógenos. 3. En dos casos se asoció pubertad precoz; entre un 15-30% de las pubertades precoces se producen en niñas con HSC NC. 4. El diagnóstico se basa en el estudio de las hormonas suprarrenales y en el test de ACTH. 5. La hidrocortisona es el tratamiento de elección, medicación que puede ser sustituida por dexametona en dosis única nocturna cuando cesa el crecimiento.

EMPLEO DE MARCADORES POLIMORFICOS DEL TIPO DE MICROSATÉLITES EN EL DIAGNOSTICO MOLECULAR DEL DÉFICIT DE 21-OH

Ezquieta B, Varela JM, Jariego C, Oliver A, Martín G,
Martín-Delgado MP, Gracia R

Servicio de Bioquímica. Svcio. de Endocrinología Pediátrica. Hospital «La Paz». Madrid.

El diagnóstico prenatal y tratamiento de la hiperplasia suprarrenal congénita debido a la deficiencia de la enzima esteroide 21-Hidroxilasa (21-OH) es efectivo en la reducción de la ambigüedad de las niñas afectas. Es screening de nueve mutaciones puntuales, deleciones y conversiones en el gen de la 21-OH, permite la caracterización de la mayoría de las mutaciones, aunque entre un 6-12% de los cromosomas no llegan a caracterizarse (Wilson et al. 1995, S. Clin. Endoc. Metab. 80, 1635-40).

En el presente estudio se ha desarrollado el tipaje de microsatélites en la región HLA para determinar la utilidad de estos marcadores en la identificación indirecta de alelos enfermos. Los microsatélites son regiones de ADN formados por repeticiones en tandem, generalmente del dinucleótido Citosina-Adenosina (CA), en número variable dentro de la población normal (Gyapay et al, 1994, Nat. Genet 7º, 246-280) Para el estudio de 23 familias afectas, hemos utilizado los microsatélites descritos por Génethon: D6S439 en la región clase II, en 5' y 3' respecto al gen CYP21B, que codifica por la enzima 21-OH. Para aumentar la informatividad del estudio se ha usado otro macrosatélite adicional en 3' (TAP1).

La heterocigosidad de estos marcadores ha permitido la caracterización mediante análisis indirecto, de todos los alelos estudiados (porcentajes %). El diagnóstico directo confirmó en cada caso la correcta asignación de los alelos enfermos en las familias estudiadas.

TRATAMIENTO PRENATAL DE LA HIPERPLASIA ADRENAL CONGÉNITA POR DÉFICIT DE LA 21-HIDROXILASA

Rodríguez MD¹, Moreno M¹, Dulín E², Ezquieta B³, Cañizares A¹,
Arnao MDR¹

¹S. Endocrinología Pediátrica. ²Lab. Metabolopatías, S. Bioquímica. H.G.U. Gregorio Marañón. ³Unidad de Genética Molecular. H. La Paz, Madrid

La Hiperplasia Adrenal Congénita por déficit de la 21- hidroxilasa (21-OHD) en sus formas clásicas produce virilización del feto femenino, además de las posibles alteraciones en el metabolismo hidrosalino. El grado de virilización de los genitales externos de estas recién nacidas puede ocasionar incluso una incorrecta asignación de sexo masculino y precisar cirugía correctora. Presentamos el caso de una niña afectada de 21-OHD diagnosticada y tratada intraútero.

Caso clínico: El caso índice de la familia es el primer hijo varón, diagnosticado en el período neonatal de 21-OHD con pérdida salina. La madre, asintomática, en la 6ª semana de gestación de su 2º embarazo, inicia tratamiento de DXM oral (0,5 mg/8h, equivalente a 20 ug/kg/día). En la 9ª semana se extrae por amniocentesis una biopsia corial: cariotipo fetal 46XX, análisis del DNA del CYP21 con una conversión i2G, idéntica al hermano afecto. Se continúa tratamiento con DXM, disminuyendo la dosis a 0,5 mg/12h. en la 20ª semana. El in-

cremento total de peso fue 12 kg, no desarrolló edemas, hipertensión, intolerancia a hidratos de carbono ni otros efectos secundarios, a excepción de estrías rojas en glúteos y abdomen. La aceptación psicológica fue excelente. Los controles hormonales se correspondieron con la supresión adrenal. En la semana 41 se produjo un parto eutócico. Se obtiene una recién nacida con peso 3.170 g., talla 49 cm., genitales externos ligeramente hiperpigmentados y con mínima hipertrofia de clítoris (PraderII). 17-OHP: 780 nmol/l. (día 3 de edad), actividad de renina plasmática (ARP): 45,8 ng/ml/h, Na mínimo: 130 mmol/l, K máximo: 6mmol/l. Se inició tratamiento con hidrocortisona, 9-alfa-fluorhidrocortisona y suplementos de ClNa. A los 11 meses de encuesta asintomática, con peso, talla y desarrollo psicomotor normales.

Comentarios: El diagnóstico prenatal de la 21-OHD mediante técnicas de genética molecular es fiable y seguro, permitiendo el tratamiento intraútero del feto femenino afecto. El tratamiento con DXM a la gestante de riesgo debe iniciarse precozmente (antes de 6^a-7^a semana). El fin del tratamiento es evitar la virilización de los genitales externos de la niña afectada, por lo que sólo se mantiene si se trata de un feto femenino afectado. Después del nacimiento se debe confirmar el diagnóstico e iniciar al tratamiento convencional.

34 **DESARROLLO DE ADENOMA SUPRARRENAL COMO COMPLICACION EN EL CURSO DE UNA HSC POR DÉFICIT DE 21-OH**

Gutiérrez P¹, Criado E¹, Aparicio C¹, Jiménez F¹, Antón-Pacheco J², Saez E¹

¹Servicio de Pediatría. ²Servicio de C. Pediátrica Hospital Universitario de Getafe. Madrid.

En la hiperplasia suprarrenal congénita (HSC), por déficit de 21-OH, mal controlada, se puede desarrollar un tumor adrenal, incluso a edades tempranas, por la estimulación mantenida de la ACTH. Con frecuencia estos tumores se corresponden histológicamente, con adenomas benignos.

Comunicamos el caso de una joven de 18a., afectada de HSC por déficit de 21-OH, no pierde sal, que desarrolló una adenoma suprarrenal a la Ec de 15,5a.

Fue diagnosticada y puesto tratamiento con Hidroaltosona a los 6a., a la vez que se le realiza re construcción quirúrgica de los genitales. A los 9,5a., comienza el desarrollo puberal, con menarquia a los 10a., alcanza una T final de 147,5cm. A lo largo de los 9a. siguientes a su diagnóstico, presentó de forma reiterada cifras elevadas de ACTH, 17-OH-P, 17-cetos en orina...; realizó el tratamiento de forma arbitraria durante largos períodos de tiempo.

A los 15,5a, en una ECO suprarrenal de control, que se efectúa por el mal control analítico que presenta, aun realizando correctamente el tratamiento, se visualizan imágenes de calcificación en la suprarrenal Izq., que no habían sido objetivadas en ecos previos. En el TAC y RMN se confirma, la existencia de una masa en la suprarrenal Izq., de 4x3,2 cm con pequeñas calcificaciones en su interior. A los 16a. se le practica adrenalectomía Izq., siendo el diagnóstico anatomopatológico de adenoma funcionante.

Conclusiones: 1. El mal seguimiento del tratamiento, puede llevar al desarrollo de una tumoración suprarrenal, por estimulación mantenida por la ACTH. 2. En el caso de esta paciente, el diagnóstico y tratamiento tardío, pensamos que también contribuyó, al desarrollo del adenoma. 3. La exéresis del tumor, mejoró el control hormonal y clí-

nico de la paciente, y se obvió la posibilidad de malignación (adenocarcinoma).

35 **SINDROME DE DELECCION CONTINUA DE GENES SITUADOS EN LA BANDA 21 DEL BRAZO CORTO DEL CROMOSOMA X. ASOCIACION DE Distrofia MUSCULAR DE DUCHENNE, DÉFICIT DE GLICEROL-KINASA E HIPOPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA EN UN LACTANTE VARON**

Casado de Frías E¹, Ruibal JL¹, Bueno G¹, Pinel G², Reverte F¹
¹Departamento de Pediatría. Hospital Universitario «San Carlos». Madrid.
²Hospital «San Rafael». Madrid.

Introducción. En el momento actual se conoce la situación de algunos de los genes situados en la banda p-21 del cromosoma X, cuya ausencia cuando se produce en un varón, da lugar a diversas enfermedades. Presentamos un niño de 5 meses de edad, con una amplia delección de dicha banda, que le condiciona una distrofia muscular de Duchenne, un déficit del enzima glicerol-kinasa y una hipoplasia suprarrenal congénita.

Paciente. Niño de 5 meses de edad sin antecedente familiares ni personales de interés, cuya historia actual comienza a los 10 días de vida, en que presenta un cuadro de ausencia de ganancia fisiológica de peso, deshidratación moderada, e hipodinamia generalizada. No tenía ni vómitos, ni diarrea, ni otros síntomas relevantes. En la exploración física no existían alteraciones hemodinámicas, tenía un estado de nutrición regular, y una marcada hipotonía generalizada, que era más evidente en el plano axial. No se apreció ni hiperpigmentación, ni macrogenitosomía ni tampoco ambigüedad genital.

En las analíticas complementarias destacaba la presencia de (K entre 5,6 y 8 meq/l), y de natriurias elevadas con pruebas de función renal normales. Se le realizaron determinaciones plasmáticas de diferentes hormonas suprarrenales para valorar su función. Se encontraron unas cifras disminuídas de aldosterona (40 pg/ml. N=120-250) y cortisol (24 ng/ml, N=56-231), junto a elevaciones de renina (1.900 ng/ml. N=35-135) y ACTH (450pg/ml. N=9-52), pero normales de 17-OH-progesterona (2,4 ng/ml N=0,3-3,3). Ello era concordante con un fallo suprarrenal global.

Asimismo presentó cifras elevadas de CPK que oscilaron entre 5.200 y 16.200 U.I./l. (N menor o igual que 179), por lo que se realizó un electromiograma que resultó normal, y una biopsia muscular con ausencia total de distrofina compatible con enfermedad de Duchenne.

Se encontraron además, cifras elevadas de triglicéridos en plasma que oscilaron entre 500 y 650 mg/dl. (n=45-150). Por ello se le determinaron cifras de glicerol en sangre y en orina que resultaron muy elevadas, siendo éstas de 0,48 mmol/l (N=indetectable) y de 14.766 mmol/mol de creatinina (N=0-9). Ello traduce la presencia de un déficit de glicerol-kinasa.

Se realizó un estudio genético que demostró una delección amplia del brazo corto del cromosoma X, que engloba al menos los genes de la enfermedad de Duchenne, del de la glicero-kinasa y del que previene la hipoplasia adrenal congénita.

Ha sido tratado con hidroaltosona a 5 mgrs/m²/día, con fludrocortisona a 0,1 mgrs/día y suplementos de ClNa, normalizándose los niveles de renina y de ACTH. No existe tratamiento efectivo para sus otras dos enfermedades.

SÍNDROME DE DENYS-DRASH (PSEUDOHERMAFRODITISMO MASCULINO) Y NEFROPATÍA: UNA NUEVA MUTACIÓN DEL GEN WT1 EN EL EXON 9

Oliver A, Ezquieta B, Varela JM, Jariego C, Alonso A, Rubio F, González IM, Ferrero M, Soto ED, Martín D MI y Gracia R

S. de Endocrinología, Nefrología y Bioquímica Universidad Autónoma. Hospital «La Paz», Madrid.

El S. de Denys-Drash (DDS) se caracteriza por una situación intersexual con nefropatía, asociado o no a tumor de Wilms (TM). La alteración nefrológica más característica es la esclerosis mesangial difusa. Se han descrito en estos pacientes mutaciones puntuales en el gen supresor WT1 en el cromosoma 11p13. Las mutaciones de cambio de aminoácido en línea germinal, localizadas en la región del gen WT1 que codifica por el dominio de unión a DNA la proteina, son las que se encuentran con más frecuencia en los individuos con DDS.

Presentamos el caso de un varón nacido a término, con un cuadro de criptorquidia, genitales ambiguos con un seno urogenital en estadio III de Prader; y una asociación de artrogriposis por oligoamnios, cardiopatía y nefropatía que en la biopsia mostró una esclerosis mesangial difusa.

El cariotipo es 46 XY, con SRY positivo y en la ecografía se observa la presencia de útero. El estudio hormonal mostró: ACTH: 27 pg/ml, Cortisol 7 mcq/ml, Aldosterona.- 5154 pg/ml y Renina.- 66,4 ng/ml/h.

Se realizó el despistaje de mutaciones mediante SSCP (Polimorfismo conformacional de la cadena sencilla), encontrándose en el análisis del exón 9 un patrón de migración alterada. La posterior secuenciación de dicho fragmento mostró un cambio de G a A en la posición 394 de uno de los alelos WT1. Esta mutación supone un cambio de Arg394 a Gln. Este aminoácido del «zinc finger» III del WT1 se conserva en los dominios II y IV y ha sido encontrado mutado a Trp en la mayor parte de los pacientes con DDS.

El paciente falleció a los 7 meses de vida por una enterocolitis necrotizante, asociada a su insuficiencia renal.

PSEUDOHERMAFRODITISMO MASCULINO (PHM) POR DISGENESIA TESTICULAR (DT), ASOCIADO A SÍNDROME DE DOWN (SD)

Díaz Lázaro J, García Fraile ML, Martín Carballo G, Molina Rodríguez MA, Olivares P, Gracia Bouthelie R

Servicio de Endocrinología Pediátrica. Hospital Infantil «La Paz». Madrid.

El PHM por DT pura (46XY), se debe a un fallo en la «determinación» testicular (DT total), o en la «diferenciación» testicular (DT parcial). El SRY parece ser el inductor de la determinación testicular, pero hay evidencias de que otros genes están también implicados en el desarrollo del testículo, y su alteración podría implicar un fracaso precoz en la diferenciación testicular. La asociación de SD a situación intersexual parece un hecho excepcional.

Caso clínico: Niña de 2 años que consulta por SD y genitales ambiguos. AF: Padre con DAP. AP: Dgco de SD de RN. Intervenido de DAP a los 5 m. Exploración: Peso: P10-25, Talla: P25. BEG. Fenotipo femenino. Aspecto de Down. Soplo sistólico III/IV. Genitales: Hipertrofia de clítoris y engrosamiento de labios mayores. Seno urogenital único (Prader III). P.Complementarias: Sistemáticas s/o, ritmo de cortisol, ACTH, DHEAS, 17-OH-P basales, TSH basal, T4 libre, AC antitiroideos: normales. T. de TRH: pico de 40,05 mcUI/ml. FSH: 15,25 y LH:

0,87 (basales, mUI/ml). T. de HCG: Testosterona basal: 0,28, pico: 10,39 (pg/ml). Cariotipo en sangre periférica y ambas gónadas: 47 XY + 21, con SRY(SSCP) positivo, sin mutaciones detectables. Laparoscopia: No útero. Canal inguinal dcho. permeable, sin deferente, e izdo. cerrado, con deferente. Anat. pat.: GONADA DCHA: Periferia que recuerda a estroma ovárico, y algunos t. seminíferos formados por c. de Sertoli. En la zona central lobulillos de t. seminíferos. Epidídimo y trompa uterina hipoplásicos. GONADA IZDA: T. seminíferos que contienen sólo c. de Sertoli. En intersticio c. de Leydig. Epidídimo hipoplásico.

Conclusiones: Sólo hemos encontrado 3 casos descritos de SD asociado a PHM, todos portadores de mosaicismos, hallándose el cromosoma Y en alguna de las líneas celulares. No hemos encontrado en la literatura, ningún caso de SD asociado a DT pura (cariotipo 47XY + 21, no mosaico). En nuestra paciente, la histología gonadal y la ausencia de mutaciones del SRY apoyan el diagnóstico de «DT pura parcial» asociada a SD.

DÉFICIT DE 5 ALFA REDUCTASA EN 3 CASOS Y EVOLUCION

Nieto Cuartero JA, Audí L, Rollán V, Mías C, Campos C

S. Endocrino-S. Cirugía-S. RIA-S.Genética.

Hospital Niño Jesús de Madrid- H. Vall d'Hebrón Barcelona.

El pseudohermafroditismo masculino, por déficit de 5 alfa reductasa, se acompañó en nuestros 3 casos (edades: 6a. y 10m., 16a. y 19a.) de pene pequeño imperforado (con cuerpos cavernosos bien desarrollados), hipospadias escrotal, y 1 caso criptorquidia unilateral. El test de HGC fue normal en los 3 casos. Y el test de LHRH dió hiperrespuesta en los 3 casos. Los varones de 16a. y 19 a. fueron operados con perforación del pene, y sometidos a tratamiento con Testovirón depot a dosis altas lográndose en ambos casos un pene de 9 cm. perforado. El espermiograma en el caso de 19a. fue normal. Cariotipo 46XY en los 3 casos. La actividad de la 5 alfa reductasa estaba muy disminuida (menor del 10% de los valores normales de control obtenidos en 8 pacientes control sanos) en la piel de pene y escroto (VN: 1026 ± 296 picomoles /100 mgr./proteínas/2h.), y también menor del 10% la actividad de la 5 alfa reductasa en los fibroblastos de piel de pene y escroto (VN 13 pacientes control sanos: 177,7±76,5 picomoles/mgr./proteína/h.). Orientación psicosexual masculina en los 3 casos. No se ha podido determinar en orina el cociente entre metabolitos androgénicos 5 alfa y 5 beta reducidos y cuantificarlos como indicador bioquímico actual del déficit de 5 alfa reductasa por el momento. La talla en los 3 casos es normal y en los casos de 16 y 19a. a pesar de la talla media baja de los padres, la talla actual es superior a la talla genética.

Conclusiones: 1. La buena evolución con el tratamiento en los casos de mayor edad. 2. Orientación psicosexual masculina sin problemas en los 3.

SÍNDROME DE SWYER CON GONADOBLASTOMA UNILATERAL Y RETRASO DE CRECIMIENTO TRATADO CON rhGH Y ESTROGENOS: 3,5 AÑOS DE EVOLUCION

Cuatrecasas JM¹, Llauradó C¹, Cuatrecasas-Cambra G¹, Vergés A²

¹U. Endocrinología y C.E.F.E.R. ²C.M.TEKNON. Barcelona.

La evolución auxológica y ginecológica de un caso de S. Swyer (gónadas en cintilla bilaterales, estructuras müllerianas internas, sin

ambigüedad genital externa, fenotipo completamente femenino y cariotipo XY) con gonadoblastoma unilateral y talla baja, es analizado a los 3,5 años de haberlo tratado con rhGH (post extirpación del gonadoblastoma) y haber aplicado terapia estrogénica sustitutiva.

Caso clínico: M.C.R., Niña de 12a., Talla: 134cm. (-2,66 DE), con extremidades inferiores cortas. EO: 10,5 (G&P) y S1 P2 A1 (Tanner), (test de ejercicio + propranolol, GH: 0,69/6,2 ng/ml; test de clonidina, GH: 0,5/1,26 ng/ml; Tiroxina: 8ug/dl; IGF-I: 86,7 ng/ml; FSH: 60,9 U/I; LH: 10,7 U/I; E2: 5,0 pg/ml; Testo: 0,1 ng/ml; DHA: 4,5ng/ml; DHAs: 2,1 ug/ml; HbA1c: 4,8%; cariotipo 46XY), que en la laparoscopia mostró un útero hipoplásico con trompas normales y vagina normal con uretra que arrancaba de la pared vaginal. La cintilla izda. (15x14 mm) dilatada 1 cm. La cintilla dcha. (16x13 mm) sin dilatación. En la biopsia se observaron restos wolfianos en la cintilla dcha. sin células hiliares o de Leydig. En la cintilla izda. se evidenció un gonadoblastoma, forma pura, a partir de células germinales y de la granulosa o de Sertoli inmaduras. Se intervino a la paciente con extirpación del gonadoblastoma y de las cintillas gonadales y se inició terapia con rhGH 28 U/s durante el 1er. año de tratamiento pasando posteriormente a 32 u/s en el año y medio siguiente. A los 14,5 años de edad se interrumpió la rhGH. Se añadió EE (5 ug/día), a los 11a. de edad ósea, durante 6 meses, para seguir con 10 ug/día durante 6 meses más hasta su feminización completa. Actualmente recibe terapia secuencial con EE (35 ug) + levonorgestrel (150 ug/día). Su talla al 1er. año de tratamiento fue de 144,5 cm (-2,46 DE) (EC: 13; EO: 11, G&P); (S1 P2 A1, Tanner). En este período recibió exclusivamente rhGH. Al 2º año de tratamiento con rhGH + EE su talla era de 150,5 cm. (-1,76 DE) (EC: 14; EO: 13, G&P). Al finalizar la rhGH (EC: 14,5, EO: 14, G&P) su talla era de 152,5 cm (-1,52 DE). Su pubertad en este momento era de S3, P4, A3, (Tanner). Actualmente después de 1 año sin rhGH (EC: 15,5, EO: 15, G&P) y con terapia secuencial, su talla es de 154 cm (-1,30 DE); (S4, P4, A3, Tanner), (FSH: 0,5 U/I; LH: 0,5 U/I; E2: 20 ng/ml; Testo: 0,2 ng/ml; DHA: 3,06 ng/ml; DHAs: 0,97 ug/ml; Tiroxina: 9,4 ug/dl; IGF-I: 330 ng/ml; HbA1c: 4,2%).

Los niveles de LDH (marcador de los disgerminomas ováricos: Gynecol. Oncol.:1992, Mar: 44(3); p281-283) se han mantenido normales cada año LDH: 266,0 U/I el 1er. año, 234,0 U/I valor actual (rango normal: 200-400 U/I). Las ecografías ováricas anuales no han evidenciado ninguna proliferación tisular y las menstruaciones son regulares.

Comentario: En nuestra opinión, el tratamiento con rhGH y sustitución estrogénica en una disgenesia gonadal XY con talla baja y gonadoblastoma operado, mejora la talla, normaliza la pubertad y no posee efectos proliferativos sobre los tejidos remanentes.

40

DISFUNCION OVARICA EN LA GALACTOSEMIA

Mediavilla M¹, Martínez M¹, Alija MJ¹, Baldellou A², Gonzalvo N³, Mayayo E¹

¹Unidad de Endocrinología pediátrica Hospital Infantil «Miguel Servet». ²Unidad de Metabolismo H. Infantil «Miguel Servet». Zaragoza. ³Unidad de Endocrinología Pediátrica Hospital «S. Jorge» Huesca.

Introducción: La galactosemia, enfermedad con una frecuencia de 1/40000, es el único error congénito del metabolismo conocido que tiene un efecto directo sobre la función gonadal. Se ha estimado una frecuencia de fallo ovárico en aproximadamente el 80% de las mujeres que padecen galactosemia; por el contrario los varones tienen un riesgo relativamente bajo de disfunción gonadal. El fallo ovárico se expresa como hipogonadismo hipergonadotropo. El origen del defecto es

desconocido, aunque se ha relacionado con el efecto tóxico de la galactosa y sus metabolitos sobre el ovario. Existe controversia sobre si este trastorno es de origen pre o postnatal.

Casuística

	Diagnóstico galactosemia		Estudio Endocrinológico				
	Edad DCO	Activ. enzimática	Edad DCO	Estadio puberal	Test LH-RH (mU/ml)	17βE2 (pgr/ml)	ECO
PAC.1	13 días	indetectable	9 ⁹ / ₁₂ a.	M1 Ax I-II Pub II	LH _B 1,55 M19,19 FSH _B 16,1	15,5	ovario dcho. 2,9x1,5 ovario izdo. 2,8x1,6
PAC.2	RN	indetectable	3 ³ / ₁₂ a.	infantil	LH _B 0,03 M7,88 FSH _B 13,52	11,9	ovario dcho. 1,9x1 ovario izdo.
PAC.3	5 días	<0,8 U/gr Hb (v.n.>18)	5 ⁵ / ₁₂ a.	infantil	LH _B 3,86 M10,34 FSH _B 10,18	11,1	ovario dcho. 1,5x1,5 ovario izdo
PAC.4	23 días	0%	2/12 m.	infantil	LH _B 0,18 M28,27 FSH _B 21,15 M131,33	11,9	

LH_B: basal LH_M: máxima FSH_B: basal FSH_M: máxima.

Comentario: Dada la gran frecuencia de fallo ovárico en la galactosemia, es preciso estudiar sistemáticamente la función gonadal en este grupo de pacientes. La disfunción ovárica se manifiesta de forma precoz y en la infancia, y la vista del caso n°4 probablemente se origina ya prenatal.

41

CRECIMIENTO PUBERAL Y TALLA FINAL EN NIÑAS CON DIABETES INSULINO-DEPENDIENTE

Roldán MB¹, Escobar-Morreale HF², Moreno JC¹, Alonso M¹, Barrio R¹

¹Unidad de Endocrinología Pediátrica y ²S. Endocrinología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Los datos sobre afectación de talla en las pacientes diabéticas son controvertidos, señalándose el mal control metabólico y el tiempo de evolución de la enfermedad como posibles factores implicados.

Objetivo. Analizar el crecimiento, estirón puberal y talla final en niñas diagnosticadas de diabetes mellitus insulino-dependiente (DMID) en la época prepuberal.

Métodos. Controlamos el crecimiento desde el diagnóstico a talla final en 17 niñas con DMID. Nueve recibieron tratamiento convencional y ocho intensificado. Valoramos la talla (desviaciones típicas -DT- de Tanner) al diagnóstico, al inicio de la pubertad (definido como S₂), en la menarquia y la talla final (definida como crecimiento menor a 0,5 cm/año), y calculamos la HbA1c media en los períodos pre* y puberal.

Resultados: Se expresan en media±DT.

	Edad (años)	Talla(DT)	Ins (u/kg/d)	HbA1c (%)
Diagnóstico	7,5±2,4	0,31±0,71	0,9±0,3*	8,4±2,2*
S ₂	10,8±0,8	0,09±1,02		
Menarquia	13,1±1,0	-0,05±1,14	1,0±0,3	7,9±1,3
Talla final	15,3±0,5	-0.18±0,77		

La duración media de la DMID hasta talla final fue de $7,8 \pm 2,3$ años, la talla final alcanzada 161 ± 4 cm. y la duración de la pubertad $4,5 \pm 0,9$ años. La ganancia total de talla durante la pubertad (talla final-talla en S_2) fue de 20 ± 4 cm.

La evolución de la talla (expresada en DT) mostró una tendencia no significativa a la reducción con respecto a la talla al diagnóstico y en la menarquia (ANOVA para medidas repetidas: λ Wilks:0,57 F:3,45 $P < 0,05$, seguido de t-test pareado t: 1,79 $P < 0,10$), diferencia que se hizo significativa al alcanzar la talla final (t-test pareado t:3,42 $P < 0,005$). La reducción de la talla final (DT) no varió en función del tipo de tratamiento, ni correlacionó con el grado de control metabólico.

Conclusiones. La talla (DT) final en las pacientes diabéticas está disminuida respecto a su talla (DT) al diagnóstico, independientemente del tipo de tratamiento y del control metabólico.

42

ASOCIACION DE ENFERMEDAD CELIACA Y DIABETES INSULIN-DEPENDIENTE EN NUESTRO MEDIO

Pascual JM¹, Bartolomé M¹, Hoyos C¹, Calvo C¹, Arranz E²,
Hermoso F¹, Blanco A¹

¹Dpto. de Pediatría. Hospital Universitario. ²Laboratorio Pediatría Facultad Medicina. Valladolid.

Resumen: La enfermedad celiaca (EC) es una intolerancia al gluten que provoca una lesión severa de la mucosa yeyunal. La incidencia en Europa oscila alrededor de 1/1000-1/1500 recién nacidos vivos.

Se ha observado una asociación entre EC y diabetes insulín-dependiente (DID) que ha sido explicada como una predisposición genética común; ambas enfermedades comparten ciertos antígenos de histocompatibilidad. La prevalencia de EC en niños diabéticos es de aproximadamente 3-3,5%, y esta prevalencia se incrementa cuando la DID se inicia en edades tempranas de la vida.

En este trabajo estudiamos los casos de EC entre los niños diabéticos atendidos en la sección de Endocrinología Infantil de nuestro Hospital y analizamos que cumple la prevalencia que recoge la literatura actual (3 casos de 98 estudiados), haciendo especial hincapié en las características epidemiológicas (predominio femenino, la DID se inicia a edades más tempranas y suele precede a la EC), genéticas (HLA - DQ2: el haplotipo DQ2 constituido por los alelos [DQA1*0501, DQB1*0201]), clínicas (ferropenia rebelde y alteración del ritmo de crecimiento) y repercusión que tiene la EC sobre el control del metabolismo hidrocarbonado, antes y después de la dieta sin gluten.

Siguiendo la sistemática diagnóstica que se recoge en la literatura sueca, abogamos por el despistaje de EC en todo paciente diabético mediante la determinación de anticuerpos antiendomiso (AEm-Ig A) y/o estudio genético.

43

DIABETES MELLITUS SECUNDARIA A HEMOCROMATOSIS Y OTRAS ALTERACIONES ENDOCRINOLOGICAS SECUNDARIAS A TALASEMIA MAYOR

Bartolomé ML, Hermoso F, Blanco A, Valbuena C
Dpto. Pediatría. Hospital Universitario de Valladolid.

Introducción: La Talasemia mayor o β -talasemia homocigota es la forma más grave de los síndromes talasémicos. Se diagnostica en los primeros meses de vida. Las alteraciones sistémicas secuentes a la hi-

poxia crónica y al acúmulo férrico, pueden abocar a la muerte en los primeros años de la vida.

Caso clínico: Se presenta una paciente de 15 años de edad afectada de talasemia mayor, diagnosticada a los 4 meses de vida. Se analiza su evolución reseñando especialmente su crecimiento y desarrollo y el inicio de una diabetes mellitus secundaria a hemocromatosis.

Desde el diagnóstico recibió una transfusión mensual de concentrado de hematíes (cantidades medias aproximadas de 150-300 cc/Kg/año). Simultáneamente recibió corticoterapia para evitar reacción transfusional. Valores de ferritina persistentemente elevados pese a que antes del hierro en bomba de perfusión.

Esplenectomía a los 5 años de edad. Cuadro septicémico a los 9a por *Yersinia enterocolitica*. Hepatopatía y cardiopatía crónicas secundarias a hemocromatosis.

Alteración de las pruebas funcionales hipofisarias (dinámica de GH con ornitina y prueba de estímulo con LHRH), a los 5a.

Ritmo de crecimiento uniforme con talla final de 150,5 cm, para un patrón parental de 148,5. Inicio de caracteres sexuales a los 12 a, con menarquia a los 14 a.

A los 12a, presenta glucemias basales elevadas, con HbA1c normal y Ac antiislotos negativos. A los 14a. inicia sintomatología clínica de diabetes, con resultados patológicos en las pruebas de funcionalismo pancreático (SIVG:1+3 min = $51,9 \mu\text{U/dL}$; SOG: $\geq 200 \text{ mg/dL}$ en 2 determinaciones). HbA1c de 7%.

Comentarios: Debido a la mayor supervivencia de los pacientes afectados de talasemia mayor se han podido comprobar las alteraciones sistémicas, especialmente a nivel del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal y pancreático, secundarias a hemocromatosis.

44

ANALISIS COMBINADO DE ANTICUERPOS EN DIABETES TIPO I

Bilbao JR, Calvo B, Urrutia I, Busturia MA, Castaño L

Unidad de Investigación, Sección de Endocrinología Pediátrica, Laboratorio de Hormonas Hospital de Cruces, Barakaldo-Bizkaia.

Introducción: La autoinmunidad frente a la célula beta pancreática es característica de la diabetes mellitus tipo I (DMID), y diversos autoanticuerpos se han implicado en esta respuesta inmune. Tradicionalmente, los anticuerpos anti-islole (ICA) se han utilizado como marcadores para el diagnóstico precoz. Recientemente, se han descrito ensayos para la detección anticuerpos que reconocen otras moléculas pancreáticas, como la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD) y una Tirosina fosforilasa (IA-2), útiles en la predicción de DMID.

Objetivo: Definir los parámetros inmunológicos a utilizar en el diagnóstico precoz de DMID, en función de sus características de sensibilidad y especificidad.

Material y Métodos: Se analizaron 43 sujetos al inicio clínico de DMID, así como 101 individuos sanos sin antecedentes de la enfermedad. La presencia de autoanticuerpos anti-GAD y anti-IA-2 se determinó por radioinmunoensayo (valores normales: $<0,08$ GAD-index y $<0,07$ IA-2-index, respectivamente) y los ICA se analizaron por inmunofluorescencia directa sobre cortes de páncreas humano del grupo 0 (valor normal: < 10 UJDF). La sensibilidad se define como el porcentaje de diabéticos positivos para el (los) ensayo(s), y la especificidad como la proporción de sujetos normales negativo(s).

Resultados: Los resultados de sensibilidad/especificidad se resumen en la tabla:

	ICA y/o		ICA y/o		GAD y/o		Alguno
	ICA	GAD	IA-2	GAD	IA-2	IA-2	
Sensibilidad	72,1%	67,4%	59,5%	86%	81,4%	81,4%	88,4%
Especificidad	90%	100%	95%	90%	86%	95%	86%

Por otro lado, los diabéticos tipo I tienen uno, dos o los tres anticuerpos en el 17%, 31% y 49% de los casos, respectivamente.

Conclusiones: 1. Individualmente, los ICA presentan la mayor sensibilidad; no obstante, su reducida especificidad podría limitar su utilización. 2. En las combinaciones, la mayor sensibilidad se alcanza utilizando todos los ensayos, aunque el análisis de anti-GAD y anti-IA-2 presenta una mejor especificidad, con una sensibilidad aceptable. 3. Los parámetros inmunológicos a utilizar en el diagnóstico precoz estarán en función del objetivo (seguimiento o inclusión en alguna terapia experimental), que hará primar la sensibilidad o la especificidad.

45

SÍNDROME DE WERNER Y DIABETES INSULINORRESISTENTE

Romero I, Bastero R, López Bermejo A, Gallego ME, Sánchez del Pozo J, Barrionuevo JL, Lledó G

Dpto. de Pediatría. Sección de Endocrinología y Nutrición Pediátrica. Hospital 12 de Octubre. Madrid.

Introducción: El síndrome de Werner es un cuadro progeroide cuyas manifestaciones suelen comenzar en la segunda década de la vida, con signos físicos de envejecimiento precoz, en el que se han descrito entre otros hallazgos aterosclerosis, mayor incidencia de neoplasias, osteoporosis, y diabetes mellitus tipo II.

Caso clínico: Niña de 13 años diagnosticada de síndrome de Werner, que presenta en dos determinaciones rutinarias hiperglucemia con glucosuria y cetonuria. Dieta normal. Refiere polidipsia y poliuria sin otra sintomatología.

Antecedentes personales: RNT. PAEG. Desarrollo pondero-estatural y psicomotor normal. Adelgazamiento de miembros y trastornos tróficos de la piel desde los 7 años. A los 10 años cambio en la tonalidad de la voz y aparición de canas. Fatiga y calambres musculares con el ejercicio y el frío. Hiperlipidemia tipo IIb (hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia) con afectación hepática consistente en hipertransaminasemia y hallazgos ecográficos compatibles con esteatosis hepática. Miopía izq. e hipermetropía y astigmatismo drchos.

Antecedentes familiares: Padres y hermana de 20 años sanos. Hermano de 25 años con síndrome de Werner. Canicie precoz en ambas ramas familiares y diabetes mellitus tipo I en primos paternos.

Exploración física: Peso: 46Kg. (M,+1DS). Talla 151,5 cm (M,-1DS). PC: 51 cm (-2,-3 DS). IMC 20%. Buen estado general. Obesidad troncular con hábito lipodistrófico y escaso desarrollo muscular. Piel: lesiones acantósicas e hiperpigmentadas en cuello, zonas esclerodermiformes en codos y rodillas, y lesiones angiomasas en muslos. Microbraquicefalia. ACP, abdomen, y neurológico normal. Genitales femeninos: estadio II-III de Tanner. Ap. locomotor: cúbitus valgus y limitación leve a la extensión de ambos codos.

Pruebas complementarias: Gasometría normal. Hemograma: normal. Bioquímica sérica: glucosa 145 mg/dl., GOT: 50 UI/L, GPT: 70UI/L. Colesterol total: 251 mg/dl. Triglicéridos: 348 mg/dl. HDL: 29 mg/dl. LDL: 127 mg/dl. ApoA: 179 mg/dl. ApoB: 184 mg/dl. LPA: <4. sistemático de orina: dens>1,030, glucosa 5 gr/L, cuerpos cetónicos+++; resto normal. HbA1C: 7,8 %. Determinación de insulínemia

97,5 microU/ml, con glucemia de 123 mgr./dl. Péptido C: 8 ngr/ml. Anticuerpos antiisloté negativos. Estudio HLA y receptores de insulina: pendiente. Rx de mano izq: edad ósea compatible con edad cronológica observándose osteopenia marcada en los huesos de la mano. Densitometría ósea de la región lumbar normal.

Evolución: Mejoría de perfiles glucémicos con tratamiento dietético (leve restricción de hidratos de carbono), aunque con tendencia a glucemias en límites altos y glucosuria sin cetonuria.

Juicio diagnóstico: Síndrome de Werner. Diabetes no insulín-dependiente con hiperinulinismo. Hiperlipidemia tipo IIb.

Comentario: La diabetes mellitus tipo II es un hallazgo poco frecuente en la infancia, pero en ocasiones se asocia a enfermedades genéticas raras como el síndrome de Cockayne, el de Werner, o el de Prader-Willi. Presentamos un caso de trastorno del metabolismo de los carbohidratos cuya patogenia puede residir en la secreción de insulina defectuosa o una alteración en el receptor de la insulina (pendiente de completar estudio).

46

PSICOTERAPIA DE APOYO EN UN GRUPO DE DIABÉTICOS ADOLESCENTES

Castells I¹, Pérez C¹, Fabregá C¹, Rivera-MY¹, Lucas A¹, Bel J², Tarragó R³

¹Servicio de Endocrinología. ²Servicio de Pediatría. Hospital «Germans Trias i Pujol». ³Fundación Eulàlia Torras de Boà, Badalona. Barcelona.

Objetivos: Estudiar el impacto individual y familiar que ocasiona la diabetes y evaluar el efecto que produce la psicoterapia de apoyo (PA) sobre el nivel de bienestar, ansiedad y control metabólico, en un grupo de diabéticos adolescentes, con dificultad para conseguir estabilidad en la enfermedad.

Material y métodos: Realización de sesiones de PA en dos grupos, uno con 6 pacientes diabéticos adolescentes (DA) de 15-16 años de edad con un tiempo de evolución media de su diabetes de 5 años (4-6 años) y otro con los padres (p) de los mismos. Las sesiones las han dirigido dos psicoterapeutas, una enfermera educadora y un diabetólogo, y supervisadas por un psiquiatra infantil. La frecuencia era de una hora semanal, durante todo un curso escolar, en las aulas de educación diabetológica. Al inicio y fin de las sesiones, los pacientes fueron evaluados de su control metabólico con determinación de la HbA1C y del nivel de ansiedad con el test de Achenbach. Posteriormente se hizo un análisis de las notas tomadas.

Resultados. Finalizado el curso, se ha observado en todos los DA una disminución del nivel de ansiedad. La HbA1C ha disminuido en todos los DA, registrándose una media de disminución de 1,2% (0,4-1,7) que se mantiene 3-6 meses después del fin de las sesiones. La HbA1c media al inicio y fin del trabajo, fue de 9,7% (6,4-13,5) y 8,5% (4,7-12,2) respectivamente. Se han observado cambios en el comportamiento individual de todos los participantes. La diabetes refuerza el miedo de los p de dejar empezar al hijo adolescente una etapa más independiente. La actitud más habitual en los p es de gran preocupación hacia la enfermedad y de sobreprotección hacia los hijos. También aparecen sentimientos de culpabilidad por la enfermedad del hijo, así como de celos entre los diferentes miembros de la familia. La diabetes tiene un papel tan importante en las relaciones familiares, que los p muestran dificultad para discernir cuando los problemas de sus hijos se deben a la enfermedad y cuando son consecuencia del período en que viven. En el momento del diagnóstico y los primeros años, los p

tienen dificultades en poder expresar los sentimientos que la enfermedad les provoca. El adolescente vive su diabetes como un elemento doloroso que agrade a su autoestima.

Conclusiones: La PA puede ayudar a mejorar el nivel de ansiedad y bienestar en DA. Como consecuencia el control metabólico puede mejorar. La observación de como vive el adolescente su enfermedad, ayuda a entender como mecanismos de defensa, conductas habituales como la aparente indiferencia hacia su enfermedad. En los p esta experiencia les ha permitido redescubrir la diabetes de sus hijos. También ha servido para discernir mejor entre las dificultades que la diabetes provoca y las propias de la adolescencia.

47

TIROIDITIS DE HASHIMOTO: HIPOTIROIDISMO COMPENSADO VS NO COMPENSADO. DATOS DIAGNOSTICOS, TERAPÉUTICOS Y EVOLUTIVOS

Valle A, Mayayo E, Labarta JI, Soria J, Garín AL, Fernández A
U. Endocrinología Pediátrica. H. Infantil «Miguel Servet». Zaragoza.

Objetivo: Evaluar las diferencias diagnósticas, terapéuticas y evolutivas entre el hipotiroidismo compensado (T4 normal, TSH alta) y no compensado (T4 baja, TSH alta) producido por tiroiditis de Hashimoto.

Pacientes y métodos: 26 pacientes: Grupo 1 (compensado): 9 niñas y 3 niños, edad 8,9±2,7 a. Grupo 2 (no compensado): 14 niñas, edad 10,7±2,5 a. T3 (ng/100ml); T4 (ng/100ml); FT4 (pg/100ml); TSH (μU/ml); Ac antitiroideos (U/ml); RIA. Parámetros evolutivos: Dosis anual LT4 (μg/kg/día), niveles séricos promedio de T3, T4, FT4, TSH, Ac antitiroideos. Talla, peso, edad ósea (G-P), Veloc. de crecimiento, talla para la talla diana (TH): en SDS con respecto a Centro Andrea Prader hasta los 11a. y E. Zurich>11 a. Período de observación: 6 años.

Resultados: (X±DS): Diagnóstico: T3: G-I 158,7±33,0; G-II 90,6±57,0 (p<0,01). T4: G-I 6,5±1,8; G-II 1,8±1,5 (p<0,001). FT4: G-I 9,1±1,3 (n=3); G-II 3,8±2,33 (n=4). TSH: G-I 15,8±11,1; G-II 89,1±68,9 (p<0,01). Ac antimicrosomales: G-I 4812±4338; G-II 8336±9370. Ac antitiroglobulina: G-I 642,2±1456,2; G-II 250,1±449,2. Talla: G-I 0,7±1,2; G-II -0,09±1,2. Talla para TH: G-I 1,8±0,9; G-II 0,9±1,1. Peso: G-I: 0,4±1,7; G-II: 0,5±1,0. Edad ósea: G-I -0,6±0,4; G-II 0,5±1,0. Evolución: Dosis L-T4: G-I entre 1,4±0,3 (1ªa.) y 1,9±0,8 (2ªa.); G-II entre 2,1±0,2 (6ªa.) y 2,5±0,6 (3ªa.); mayor dosis en G-II durante primer año (p<0,05). T3: G-I entre 119,7±24,8 (6ªa.) y 149,5 (1ªa.); G-II entre 109,5±24,2 (6ªa.) y 122,2±10,5 (2ªa.); menor T3 en G-II el año 1º y 2º (p<0,05). T4: G-I entre 7,2±0,8 (6ªa.) y 8,9±1,5 (3ªa.); G-II entre 6,9±1,9 (1ªa.) y 9,9±3,4 (4ªa.); mayor T4 en G-II el año 5º (p<0,05). FT4: G-I entre 12,1±3,3 (6ªa.) y 16,9±4,0 (3ªa.); G-II entre 11,3±4,2 (1ªa.) y 17,7±2,7 (5ªa.). TSH: G-I entre 2,1±2,0 (3ªa.) y 6,7±3,5 (1ªa.); G-II entre 0,9±0,6 (6ªa.) y 29,9±29,7 (1ªa.); mayor TSH en G-II el año 1º (p<0,05). Ac antiM y antiTG: N.S. Talla: G-I entre 0,5±1,0 (2ªa.) y 0,7±1,3 (4ªa.); G-II entre -0,2±0,1 (1ªa.) y -0,6±1,0 (6ªa.); mayor talla en G-II durante los primeros 3 años (p<0,05). Talla para TH: G-I entre 1,3±1,0 (6ªa.) y 1,7±1,1 (1ªa.); G-II entre 0,6±0,8 (2ªa.) y 0,8±0,7 (4ªa.); mayor en G-II los primeros 2 años (p<0,05). E.O.: G-I entre -0,1±1,1 (1ªa.) y 0,7±2,2 (6ªa.); G-II entre -0,4±1,6 (1ªa.) y 0,9±0,7 (6ªa.). Vel. crecimiento: G-I entre -0,5±0,4 (5ªa.) y 0,1±1,1 (6ªa.); G-II entre -0,3±1,1 (2ªa.) y -0,1±0,8 (4ªa.). Reevaluación diagnóstica: G-I 8 casos, 5 permanentes y 3 transitorios; G-II, 5 casos, los 5 permanentes.

Conclusiones: El hipotiroidismo no compensado con respecto al

compensado tiene mayor severidad analítica, precisa de dosis de L-T4 iniciales mayores, es menos frecuentemente transitorio y los niños que lo padecen pueden tener un crecimiento somático inferior, aunque en ambas situaciones el tratamiento sustitutivo garantiza un crecimiento y desarrollo físico normal.

48

HORMONAS TIROIDEAS Y PREMATURIDAD

Riqué S, Almar J, Potau N, Ruíz-Cuevas P, Peguero G, Carrascosa A
Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebrón. Barcelona.

La introducción del «screening» neonatal ha contribuido al conocimiento de la función tiroidea del recién nacido (RN). La existencia de una inmadurez hipotálamo-hipófiso-tiroidea y la carencia del soporte materno durante la última etapa de la gestación podrían condicionar en el RN prematuro una cierta insuficiencia tiroidea. Se estudiaron 45 RN prematuros de edades gestacionales (EG) inferiores a 37 semanas. Se determinaron la TSH, T4, T41, T3 y T3r, en sangre de cordón, a la hora, a las 24 horas, a los 7 y 14 días y a los 2 y 4 meses de vida. El valor máximo de TSH se obtuvo a la hora de vida (42,2±4,0 mIU/L) y los valores máximos de T4 y T3 a las 24 horas de vida (14,5±0,8 ug/dl y 1,65±0,48 ng/ml respectivamente). El perfil de la T4L se correlacionó con la T4T, obteniéndose una correlación estadísticamente significativa (r=0,73, p<0,001). Los picos postnatales de TSH y de T4T se correlacionaron positivamente con la EG (r=0,66, p<0,01 y r=0,588, p<0,01 respectivamente). Los valores de T3 en el cordón umbilical fueron muy bajos y se duplicaron a la hora y a las 24 horas de vida, (0,77±0,57; 1,63±0,77 y 1,66±0,61 ng/ml respectivamente). Por el contrario, los niveles de T3r fueron muy elevados en sangre del cordón (336,8±85,7 ng/dl) y descendieron progresivamente hasta normalizarse a los 4 meses de vida (48,5±14,6 ng/dl). El cociente T3/T4T fué de 9,17±4,46 en sangre del cordón y aumentó progresivamente hasta un valor de 21,09±5,2 a los dos meses de vida. Aunque como grupo el perfil tiroideo obtenido es similar al de los RN a término, existe un 25,6% de niños a la primera semana y un 22,2% de niños a la tercera semana que presentaron valores por debajo del límite inferior de la normalidad. El estudio evolutivo de su desarrollo psicomotor, mediante tests durativos podrá quizás poner de manifiesto la necesidad de una terapéutica sustitutiva durante los primeros meses de vida en estos niños.

49

ESTUDIO DE LA FUNCION HIPOTALAMICO-HIPOFISO-TIROIDEA EN UN GRUPO DE NIÑOS DE TALLA BAJA

Jaen Amate F, Lechuga Campoy JL, Sánchez Salguero CA, Merino López J, Hernández N

Servicio de Pediatría. Hosp. Univ. «Puerta de Mar». Cádiz.

Justificación: En el protocolo de estudio de niños con talla baja se incluye la valoración del perfil tiroideo. Nos propusimos en un amplio grupo de niños de talla baja valorar la reserva y liberación de TSH para detectar la frecuencia de hipotiroidismo subclínico en los déficits de talla comparándola con otra patología.

Material y métodos: Se estudiaron un total de 185 niños cuya condición básica inicial de inclusión era tener una talla inferior a 2 S.D. de la media. A todos los pacientes incluidos en este trabajo se le realizó perfil tiroideo y test de THR.

La TSH se determinó mediante ELSA 2-TSH con anticuerpos mo-

noclonales. Se consideraron normales los valores de TSH situados entre 0,2-4,5 mu/ml y el pico máximo de respuesta hasta +18,7 mu/ml.

Resultados y discusión: Encontramos 14 casos de hipotiroidismo subclínico que corresponde a un 7,6% del total de los niños de talla baja estudiados en los cuales hubo un coeficiente de correlación de $R=0,02$ con la talla heredada. Igualmente hubo un coeficiente de correlación de $R=0,01$ entre TSH basal y Delta TSH y un coeficiente de correlación negativo $R=0,57$ entre Delta TSH y T4.

Papendieck en un grupo de 54 niños de talla normal, la respuesta a TRH era de $TSA=10,8\pm 4,26$ S.D. y la obtenida por nosotros era de $16,85\pm 9,16$ S.D. en un $P < 0,004$ en el Test de la T de Student con clara significación positiva expresando como en el grupo de talla baja existe alguna forma de hipofunción tiroidea.

Shaff en 1993 entre 6884 trabajadores sanos encuentra 23 hipotiroidismos subclínicos lo que representa un 0,33%.

Coyro 1994 en 38 obesos mórbidos encuentra 13 hipotiroidismos subclínicos, lo que representa un 29,23%.

Conclusiones: Es útil la realización del test de TRH en los casos en que se encuentren una TSH basal elevada, como valoración de la reserva de tirotropina. Existe diferencia con significación estadística en la respuesta a TRH entre los niños normales y los niños con talla baja. La frecuencia de hipotiroidismo subclínico es muy superior al encontrado en la población sana, similar al encontrado en trastornos neuropsiquiátricos menores e inferior a los publicados en obesidades mórbidas, depresiones mayores e hipopituitarismo.

50

RESISTENCIA PITUITARIA A HORMONAS TIROIDEAS (RPHT). TRATAMIENTO CON TRIYODOTIROACÉTICO (TRIAAC)

Albisu M, Vicens-Calvet E, N. Potau, Gussinyer E, Carrascosa A
Hospital Valle de Hebrón. Barcelona.

Introducción: TRIAC un análogo de T3 que liga los receptores hipofisarios con mayor afinidad que la T3, se ha utilizado en el tratamiento del síndrome (RPGT), en el que la hipófisis es más resistente que los tejidos periféricos a la acción de la hormona tiroidea.

Paciente: Varón. A los nueve años tras episodio de taquicardia se cataloga de Enf. de Graves (T4: 17mcg %, TSH: 20 mu/ml). Recibe tratamiento con antitiroideos. Aumenta el tamaño del bocio. A los once años, se remite a nuestro hospital para tiroidectomía. Gammagrafía: bocio, hipercaptante. Acs. Antitiroideos: neg. Scanner cerebral: Hipófisis normal. TSH: 40; T4: 16 mcg%. Diagnóstico: Síndrome de RPHT. Se practica tiroidectomía subtotal por síntomas compresivos.

Evolución: Se inicia tratamiento con L-tiroxina a dosis crecientes persistiendo TSH elevadas con síntomas de hipertiroidismo (taquicardia, pérdida de peso). Se trata con TRIAC consiguiendo con la dosis de 1gr/día, eutiroidismo periférico y TSH frenada.

Conclusión: TRIAC es una terapéutica eficaz en RPHT.

51

VARON XX DIAGNOSTICADO EN EL PERIODO NEONATAL

Martín Delgado MI, González Ipiña M, Sotto Esteban D, Martín Carballo G, Gracia Bouthelie R
Servicio de Endocrinología Infantil. Hospital La Paz. Madrid.

Introducción: Presentamos el caso de un varón XX, diagnosticado en el período neonatal, con SRY negativo.

Caso clínico: Paciente de tres días de edad con genitales ambiguos. Antecedentes familiares y perinatales sin interés, sin historia de ingesta de fármacos durante el embarazo. Exploración general normal, presentaba unos genitales con una situación intersexual (Prader III), labios escrotalizados con gónadas en su interior, clítoris peneiforme y orificio urogenital único.

En las exploraciones complementarias presentaba unos sistemáticos de sangre y orina normales, ACTH basal 159 pg/ml, testosterona basal 840 pg/ml, 17 OH progesterona basal 0,9 pg/ml. Cariotipo 46XX, con cromatina sexual positiva (realizado en dos ocasiones). No se visualizaron ni útero ni anejos en la ecografía abdominal, cistografía miccional ni en la laparotomía exploradora. La ecografía suprarrenal y RX de tórax fueron normales.

A los nueve meses se realiza cirugía correctora (clitoroplastia) y gonadectomía bilateral. AP: Testículos con disgenesia tubular, albúgena fina, sin observarse células de Leyding.

Control analítico postcirugía: Testosterona 80 pg/ml, 17 OH progesterona basal 0,2 ng/ml, Cortisol 7mcg/dl, ACTH 24 pg/ml, SDHEA 11 mcg/dl.

El estudio de amplificación de cromosoma Y, así como el gen SRY, fueron negativos. Actualmente se están realizando estudios genéticos para localizar mutaciones en autosomas y cromosoma X que expliquen esta situación intersexual.

Conclusión: En ocasiones aun en ausencia del gen SRY, es posible la diferenciación testicular. Esto puede ser debido a la existencia de otros genes localizados en autosomas o en el cromosoma X.

52

DETECCION DE SECUENCIAS ESPECIFICAS DEL CROMOSOMA Y EN SINDROME DE TURNER (ST): SRY Y SECUENCIAS CENTROMERICAS

Ezquieta B, Varela JM, Jariego C, Oliver A, Molina A, González M, Gracia R

Svicio. de Bioquímica y Svicio. de Endocrinología Pediátrica. Hospital «La Paz». Madrid.

El riesgo de desarrollo de gonadoblastoma se asocia con la existencia de células con cromosoma Y, lo que hace importante descartar estos micromosaicismos. Las técnicas moleculares permiten una gran sensibilidad y se están aplicando para la detección del gen específico del cromosoma Y (SRY). Se ha analizado sangre periférica de 26 casos de ST, en 9 de ellos se analizó también una muestra de biopsia gonadal. Diversos autores (Kocova et al. (1993) Lancet 342, 140-143, Binder et al. (1995) J. Clin Endoc. Metab. 80, 3532-6), y también nuestro grupo, han detectado positividad para estas secuencias con una frecuencia no despreciable aunque variable (4-10%). Se desconoce el riesgo de desarrollo de gonadoblastoma asociado a estas secuencias, aunque sí está más establecido en el caso de la región centromérica del Y, en la que se especula que se encontraría el locus responsable. Por ello, es estas pacientes han sido analizadas también secuencias DYZ3, resultando todas ellas negativas, como ha sido escrito por otros autores (Binder et al. (1995) J. Clin Endoc. Metab. 80, 3532-6). Una paciente negativa para SRY en linfocitos periféricos y en gonada resultó positiva para la secuencia cetromérica. En esta paciente, que se encuentra en estudio, se analizó también una secuencia de la región heterocromática en el brazo largo, que también resultó negativa.

DETECCION DE FRAGMENTOS CROMOSOMICOS EN EL SINDROME DE TURNER

Barreiro J¹, Aneiros C¹, Ares J¹, Fernández R², Pásaro E², Pombo M¹

¹U. de Endocrinología y Crecimiento. Dpto. de Pediatría. Santiago de Compostela. Universidad de Santiago. ²Area de Psicobiología. Facultad de Humanidades. Universidad de la Coruña.

Introducción: en el síndrome de Turner (ST), con las nuevas técnicas de citogenética molecular se puede observar un incremento en el porcentaje de mosaicismo, que se atribuye a la presencia de una 2ª línea celular con un pequeño fragmento, bien del cromosoma X o del Y. Es importante averiguar en estos casos el origen de ese fragmento, ya que la existencia de restos de cromosoma Y, concretamente en la región centromérica, determina un mayor riesgo de gonadoblastoma.

Objetivos: determinar el grado de mosaicismo y el origen cromosómico de fragmentos de material genético para detectar restos de cromosoma Y en niñas diagnosticadas de ST.

Material y métodos: se han estudiado 19 niñas diagnosticadas de ST mediante estudio citogenético en linfocitos de sangre periférica (bandas G), con posterior confirmación mediante Hibridación in situ Fluorescente (FISH) y a continuación se procedió mediante PCR (reacción en Cadena de Polimerasa) a la búsqueda de una cromosoma Y o fragmento del mismo, a partir de ADN extraído de sangre periférica, para el análisis de las secuencias alfa-centroméricas de los cromosomas X e Y, y para el gen SRY, con tres parejas de cebadores.

Resultados: de las 19 pacientes con ST estudiadas, 12 (63,1%) mostraron diferencias con respecto a su cariotipo inicial. Las pacientes no mosaico eran 9 (47,3%) y tras FISH se redujeron a 2 (10,5%). Se observó una mayor complejidad del mosaicismo debido a la aparición de nuevas líneas celulares (mosaicos 57,8%, triple mosaico 21% y múltiple 5,2%). En 3 pacientes se detectaron fragmentos cromosómicos y uno provenía del cromosoma Y (45,X/46,X, del (X)(q12)). La incidencia de aparición del cromosoma Y o un fragmento del mismo fue de un 5,3%.

Conclusiones: el mosaicismo en el ST es mucho más común de lo que se creía inicialmente. Es necesario aplicar en el ST las técnicas citogenéticas moleculares para la detección de mosaicismo oculto y la identificación de pequeños fragmentos cromosómicos.

SINDROME 48,XXYY. ESTUDIO EVOLUTIVO, CLINICO, AUXOLOGICO Y HORMONAL DE DOS PACIENTES

Velasco R, Antich J, Polidura A, Lopezosa MP, Ferrer A, Rodríguez Hierro F

Unitat integrada Hospital Clínic-Hospital Sant Joan de Deu. Barcelona.

Se presentan dos pacientes: el primero, tiene ahora 15,2 años, se ha estudiado desde los 12,0 años y es portador de un mosaicismo 48,XXYY/47,XY; el segundo, tiene en la actualidad 17,8 años, se ha seguido desde los 8,2 años, y su cariotipo corresponde a una poliomía regular 48,XXYY. De ambos pacientes se hace un estudio evolutivo de sus rasgos dismórficos, crecimiento y alteraciones óseas, mentales y hormonales.

En el póster se expondrán fotos de los dos pacientes de: (1) facies, cuerpo entero y genitales; (2) Cariotipo de alta resolución; (3) Curvas del crecimiento espontáneo; (4) Radiografías de esqueleto; y (5) Resultados en distintas edades de la exploración funcional del eje hipofiso-gonadal. Podrán contemplarse los rasgos dismórficos, las alteraciones cromosó-

micas, la desproporción corporal, el hipogenitalismo, las malformaciones ósea y la anómala reactividad del eje hipofiso-gonadal.

La rareza de esta patología justifica su difusión porque únicamente uniendo la experiencia de diversos autores se podrá mejorar su conocimiento.

AGENESIA TIROIDEA Y 48 XXXY

Glez. Herrero M, Oyagüez P, Mtez. Sopena MJ

Hospital Universitaria. Departamento de Pediatría. Valladolid.

El síndrome de Klinefelter se diagnostica en pocas ocasiones antes de la pubertad. Sus características principales son: talla alta, hipogonadismo hipergonadotropo, atrofia testicular progresiva y afectación psicointelectiva. La alteración cromosómica más frecuente es la 47XXY, aunque se observan otras gonosomopatías del X.

Aportamos el caso de un recién nacido a término, que en el screening neonatal presenta elevación de TSH, con posterior hallazgo de agenesia tiroidea en la gammagrafía con Tc. Un cariotipo bandeado, practicado así mismo en período neonatal por dismorfía facial, corregida en la evolución, obtiene el resultado de 48XXXY. A los 12 meses de edad inicia hipotrofia testicular progresiva. El estudio del eje hipofiso-gonadal muestra respuesta baja de LH en el test de LHRH, realizado a los 3a.5m. En valoración psicointelectiva (Escala Minnesota), realizada en el mismo intervalo, se obtiene un C.I. verbal de 84 y manipulativo de 101. El niño sigue programa de estimulación.

Comentarios: El interés del caso reside en las peculiares asociaciones observadas. El diagnóstico se ha practicado en una edad precoz, por lo que la actuación sobre la afectación psicointelectiva, más frecuente en las formas 48 XXXY, se ha iniciado con prontitud. La asociación de agenesia tiroidea es posible, al igual que en otras cromosomopatías, aunque no hemos encontrado casos previos en la literatura. En efecto, la disfunción tiroidea común del Klinefelter se ajusta habitualmente a patología autoinmune. Por otra parte, el hipogonadismo hipogonadotropo, descrito con anterioridad por otros autores, es un hecho excepcional, aún no explicado; no obstante la edad del paciente requerirá ulteriores exploraciones. Reseñamos finalmente que la involución testicular tiene un comienzo más precoz en los cariotipos 48 XXXY.

SINDROME DE KLINEFELTER: DESARROLLO INTELECTUAL EN NIÑOS DETECTADO POR SCREENING NEONATAL. ESTUDIO PRELIMINAR

Marco M¹, Puga B², Mayayo E¹, Alija MJ¹, Labarta JL¹, Fernández A¹

¹Unidad de Endocrinología Pediátrica. Hospital Infantil «Miguel Servet» Zaragoza. ²«Centro Andrea Prader». DGA. Zaragoza.

El síndrome de Klinefelter es la causa más frecuente de hipogonadismo masculino (1/1000 varones en el screening neonatal). Estos pacientes presentan retraso maduracional, alteraciones en la sociabilidad, y disminución del rendimiento escolar. El objetivo de este estudio es evaluar el coeficiente de desarrollo (CD) coeficiente intelectual (CI), total y en sus distintas áreas, en niños detectados por screening para poder establecer medidas terapéuticas precozmente. **Material y Métodos:** Se han controlado 23 niños detectados por screening neonatal sistemático (masa de Barr +) y se han realizado 58 test de CD/CI en un corte longitudinal-trasversal: Test de Brunet-Lezine (BL): 3m (n:1), 12m (n:1), 18m (n:5), 24m (n:6), test de Mc Cartny (MC): 3a

(n:7), 4a (n:7), 5a (n:6), 6a (n:5), y test de Wisc (W): 7a (n:3), 8a (n:3), 9a (n:3), 10a (n:4), 11a (n:3), 12a (n:3), 13a (n:1). Los resultados se expresan en desviación estándar score (SDS) (Estándares del Centro Andrea Prader. DGA).

Resultados: (X+DS) (años) (SDS valor máximo: Vmáx.; SDS valor mínimo: Vmín.). BL. CD total entre $-0,6\pm 0,6$ y $-1,7\pm 1,1$; Vmáx: $+0,1$ y Vmín: $-3,9$. Areas parciales: postural entre $-0,3$ a $-1,5$; Vmáx: $0,2$ y Vmín: $-3,5$; oculomotriz: entre $-0,0\pm 0,5$ y $-1,0$; Vmáx: $0,5$ y Vmín: $-1,3$; lenguaje: entre $-1,4$ y $-3,1$; Vmáx: $-0,6$ y Vmín: $-5,0$; sociabilidad: entre $0,9$ y $-2,1$; Vmáx: $1,6$ y Vmín: $-2,9$. MC: CI total: entre $-0,9\pm 0,7$ y $-1,4\pm 0,8$; Vmáx: $0,6$ y Vmín: $-2,5$. Areas parciales: verbal: entre $-0,8\pm 0,5$ y $-1,3\pm 1,1$; Vmáx: $0,1$ y Vmín: -3 ; perceptivo manipulativo: entre $-0,6\pm 0,4$ y $-1,0\pm 1,3$; Vmáx: $0,6$ y Vmín: $-2,8$; numérico: entre $-0,4\pm 0,9$ y $-1,5\pm 0,7$; Vmáx: $1,3$ y Vmín: $-2,4$; memoria: $-0,3\pm 1$ y $-1,2\pm 0,6$; Vmáx: $1,4$ y Vmín: $-2,6$; motricidad: entre $-0,5\pm 1,3$ y $1,4\pm 0,9$; Vmáx: $1,2$ y Vmín: $-2,6$. W. CI total: entre $-0,8\pm 0,5$ a $-1,9\pm 0,6$; Vmáx: $-0,2$ y Vmín: $-2,6$. Areas parciales: verbal: entre $-0,7$ y $-1,9\pm 0,6$; Vmáx: $0,5$ y Vmín: $-2,6$; manipulativo: entre $-0,3\pm 0,1$ y $-1,5$; Vmáx: $0,2$ y Vmín: $1,9$.

Comentarios: Aunque el tamaño de la muestra no permite extraer conclusiones válidas bajo el punto de vista estadístico, en este estudio preliminar se puede apreciar, que el CD total de los pacientes afectados de Sd. de Klinefelter suele estar por debajo de la media de la población normal, aunque comprendido en un amplio rango que abarca desde la normalidad a ser claramente patológico (<2 SDS). Con respecto a las áreas parciales suele afectarse en mayor medida al área verbal aunque también pueden estarlo otras áreas: Se aconseja el estudio sistemático del CD/CI en los pacientes con Sd. de Klinefelter y de sus peculiaridades psicológicas en aras a las labores preventivas pertinentes.

58

SINDROME DE NOONAN: UNA VARIANTE DE LA NORMALIDAD

Lechuga Campoy JL¹, Sánchez Salguero CA¹, Guitart Martínez M², Fernández García JM³

¹Servicio de Pediatría. Hosp. Univ. «Puerta del Mar», ²Servicio de Pediatría. Hosp. Univ. San Cecilio. ³Cádiz. ³Granada.

Justificación: Es síndrome de Noonan es un cuadro que se define fundamentalmente por una clínica de talla baja, pterigium colli y alteraciones craneofaciales. Presentamos en esta ocasión tres pacientes con síndrome de Noonan que ha desarrollado una estatura normal respecto a su percentil de edad y talla genética.

Casos clínicos:

	Caso 1	Caso 2	Caso 3
Edad	14 años y 11 meses	14 años y 5 meses	17 años
Perc.talla	168 cm (90-97)	162,2 cm (90)	165,6 cm (10)
Hallazgos clínicos	Pterigium colli Cabello implantación baja Orejas bajas y posteriores Cifoescoliosis	Pterigium colli Cabello implantación baja Cifoescoliosis Cúbito valgo	Pterigium colli Orejas bajas y rotadas Cabello implantación baja Cifoescoliosis
Hallazgos cardiológicos	CIV	Miocardiopatía hipertrófica no obstructiva	Estenosis pulmonar
Hallazgos endocrinos	Hipogonadismo hipergonadotrópico	Normal	Hipogonadismo hipergonadotrópico

Resultados: A todos los pacientes con sospecha de síndrome de Noonan se realizan ecografías de órganos internos, estudios complementarios, ORL, oftalmológico, neurológico y test de coagulación así como estudio hormonal: eje GH- IGFI, gonadotropinas, perfil tiroideo y Ac antitiroideos. Cariotipo y estudio de la maduración ósea.

Discusión: Nuestros casos representan una variante respecto al fenotipo propio del síndrome de Noonan, como es la talla normal, presente en aproximadamente un 10% de los casos. Dos de ellos hipogonadismo hipergonadotropo y en otro caso se asociaban alteraciones de la inmunidad humoral y bronquiectasias.

59

ANOMALIAS DE LA DIFERENCIACION SEXUAL EN TRES MUJERES. DOS DEBIDAS A DISGENESIAS GONADALES XY Y UNA A UN SINDROME DE RESISTENCIA A LOS ANDROGENOS

Ruibal JL, Bueno G, Piñero E, Reverte F, Casado E

Unidad de Endocrinología Pediátrica. Hospital Clínico Universitario San Carlos. Madrid.

Introducción. La diferenciación y determinación del sexo es un proceso secuencial que comporta de manera sucesiva el establecimiento de una dotación cromosómica XX o XY, que transforma la gónada primitiva en ovarios o testículos; y la regulación activa si la gónada es masculina, de la diferenciación de los genitales internos y externos. El objetivo final es conseguir individuos dismórficos sexualmente hablando. Se presentan tres pacientes con trastornos en la diferenciación sexual; las dos primeras son disgenesias gonadales XY con presentaciones clínicas diferentes, y la tercera un síndrome de resistencia a los andrógenos.

1ª Paciente: Mujer de 17 años que nació con genitales ambiguos consistentes en hipertrofia de clítoris y vagina hipoplásica. No presentó episodios de deshidratación. Su cariotipo resultó ser XY. Sus genitales internos estaban formados por un útero y una trompa derecha hipoplásica, y una trompa izquierda normal. Sus gónadas, no se encontraron ni con ecografías ni con R.M., ni siquiera en una laparotomía exploradora. Durante la pubertad presentó una ausencia de caracteres sexuales secundarios con amenorrea primaria, junto a un patrón de hipogonadismo hipergonadotropo. A los 10 años se le realizó una reconstrucción de sus genitales externos y en la actualidad recibe tratamiento sustitutivo con estrógenos y progestágenos.

2ª Paciente: Mujer de 18 años con antecedentes de displasia ectodérmica que consultó a los 14 por talla alta y amenorrea primaria aunque sus genitales externos eran de aspecto normal y tenía una telarquia 3-4. Su patrón hormonal era de hipogonadismo hipergonadotrópico. Su cariotipo resultó ser XY. Sus genitales internos consistían en un útero hipoplásico y unas trompas normales. Mediante una laparotomía, se encontraron unas gónadas que consistían en unas cintillas sin folículos que se extirparon. Su tratamiento consistió en sustitución hormonal con estrógenos y progesterona. Su talla definitiva ha sido de 188 cms.

3ª Paciente: Mujer de 17 años que consultó a los 2 por genitales externos ambiguos, que consistían en hipertrofia de clítoris e hipoplasia de vagina. Además presentaba hernias y tumoraciones inguinales que resultaron ser testículos que se extirparon posteriormente. Su cariotipo fue XY. Sus genitales internos mostraron ausencia de útero y de trompas. Tras una prueba con HCG, se obtuvieron unas cifras basales y tras estímulo de testosterona y dihidrotestosterona de 11 y 97, y de 5 y 11 ngs/ml respectivamente, lo que traducía una función normal de la 5 alfa reductasa. Al llegar a la pubertad presentó un patrón

de hipogonadismo hipergonadotropo y ausencia de caracteres sexuales con amenorrea primaria. Se realizó reconstrucción de sus genitales externos y tratamiento hormonal con estrógenos.

60

**NEUOBLASTOMA BILATERAL NEONATAL Y ENDOCRINOPATIA
AUTOINMUNE FAMILIAR**

Chueca M¹, Oyarzábal M¹, Molina J², Sagaseta M², Iceta A¹, Sola A¹

¹Endocrinología y ²Oncología Pediátrica. Hospital Virgen del Camino.
Pamplona.

Caso clínico: Recién nacido varón que presenta Neuroblastoma bilateral de aparición sincrónica (de excepcional frecuencia) en el contexto de una historia familiar de patología autoinmune. La madre había recibido tratamiento por esterilidad primaria durante 8 años. El abuelo materno padece enfermedad de Addison. A los 8 días de vida

se interviene de masa abdominal compatible con Neuroblastoma; dos meses después se diagnostica Neuroblastoma “in situ” en la otra suprarrenal que se extirpa, iniciando tratamiento sustitutivo con Hidrocortisona y 9-alfa-fluor hidrocortisona.

De forma casual detectamos bocio en la madre que está asintomática. El estudio de la función tiroidea es: T4: 2,8 mcg/dL, FT4: 0,2 ng/dL, TSH: 157 microUI/mL, Anticuerpos antitiroglobulina y anti-peroxidasa: positivos. La ecografía tiroidea es compatible con tiroiditis. La función suprarrenal es normal y los anticuerpos anticápsula suprarrenal son negativos.

Comentarios: 1. Destacamos la asociación entre tumores simpáticos, excepcionalmente bilaterales y tan precoces, con patología autoinmune endocrinológica en la familia materna (no diagnosticada hasta el momento actual en la madre).

2. Sugerimos, si el importante Hipotiroidismo materno desconocido podría haber influido en la época temprana de la gestación sobre la embriogénesis de la cresta neural.