



Pseudohermafroditismo masculino por mutación en el gen del receptor de andrógenos. Reporte de un caso

Juan Carlos Zenteno,* Bertha Chávez,** Gloria Queipo,* Susana Kofman-Alfaro*

RESUMEN

Los síndromes de insensibilidad a la acción de los andrógenos son anomalías de la diferenciación sexual que originan una forma de pseudohermafroditismo masculino transmitida con un patrón hereditario recesivo ligado al cromosoma X. El cuadro clínico en los afectados es muy variable y pueden observarse formas completas en las que individuos 46,XY con desarrollo testicular bilateral presentan fenotipo externo femenino y desarrollo mamario puberal; en cambio, en las formas incompletas o parciales de la enfermedad se presentan diversos grados de ambigüedad genital. Las mutaciones en el receptor de andrógenos que impiden la virilización adecuada de los genitales externos e internos en sujetos genéticamente varones son la causa de esta enfermedad. En este trabajo se describen los hallazgos clínicos, hormonales y genéticos en un paciente con pseudohermafroditismo masculino por insensibilidad parcial a los andrógenos y en quien se identificó una mutación en el gen del receptor de andrógenos.

Palabras clave: Pseudohermafroditismo masculino, ambigüedad genital, hipospadias, insensibilidad androgénica, receptor de andrógenos, mutación puntual.

ABSTRACT

Androgen insensitivity is a hereditary form of male pseudohermaphroditism which is transmitted with an X-linked recessive pattern. The clinical picture in affected subjects is highly variable: in the complete forms females external genitalia and mammary gland development can be observed while in partial or incomplete forms, several degrees of genital ambiguity are present. Mutations in the androgen receptor gene, disrupting normal male virilization of the external and internal genitalia, have been demonstrated as the cause of the disease. In this report, we describe the clinical, endocrinological, and genetic findings in a Mexican patient with partial androgen insensitivity syndrome and in whom a mutation in the androgen receptor was identified.

Key words: Male pseudohermaphroditism, genital ambiguity, hypospadias, androgen insensitivity, androgen receptor, point mutation.

INTRODUCCIÓN

En el varón, la diferenciación sexual, la maduración sexual y la gametogénesis están controladas directamente por los andrógenos. El receptor de andrógenos (RA) es una proteína que pertenece a la familia de fac-

tores de transcripción dependientes de ligando y es la responsable de mediar la acción de hormonas androgénicas al interactuar con determinadas secuencias de ADN y estimular la transcripción de genes que promoverán los efectos masculinos específicos.¹ Los síndromes de insensibilidad a los andrógenos son anomalías de la diferenciación sexual que se clasifican dentro de los pseudohermafroditismos masculinos y que se originan por alteraciones moleculares en el gen del RA, (localizado en Xq11-12), que impiden el desarrollo normal de los genitales internos y externos en sujetos genéticamente masculinos.^{2,3} Los pacientes con insensibili-

* Servicio de Genética, Hospital General de México-Facultad de Medicina, UNAM.

** Departamento de Biología de la Reproducción, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán".

dad a andrógenos presentan un cariotipo 46,XY, desarrollo testicular bilateral, niveles séricos de testosterona normales o elevados y virilización deficiente que puede manifestarse clínicamente desde un varón con ginecomastia hasta un fenotipo externo femenino.⁴ La forma completa de insensibilidad a andrógenos, conocida anteriormente como feminización testicular, se caracteriza por fenotipo femenino con desarrollo mamario normal, testículos intraabdominales, vagina en fondo de saco ciego, y ausencia de vello púbico y axilar.⁵ Los sujetos con la forma parcial de la enfermedad pueden presentarse con un fenotipo predominantemente masculino con hipospadias severa o bien con un fenotipo predominantemente femenino con clitoromegalia, genitales ambiguos y ginecomastia de grados variables.^{6,7} Las mutaciones en el RA pueden causar también fenotipos leves como ginecomastia o infertilidad.⁸ Se han identificado más de 200 mutaciones diferentes en el RA en sujetos con varios grados de resistencia androgénica; sin embargo, no existe una correlación genotipo-fenotipo clara y el cuadro clínico puede variar aun en pacientes diferentes que portan la misma mutación en el RA.⁹ Las mutaciones más frecuentes involucran los exones 4 a 8 del gen del RA que afectan el dominio de unión a andrógenos de la proteína.¹⁰ En este trabajo se describen los hallazgos clínicos, hormonales y genéticos en un paciente con pseudohermafroditismo masculino secundario a insensibilidad parcial a la acción de los andrógenos.

PRESENTACIÓN DEL CASO

Paciente de nueve meses de edad, originario de Atlacomulco, Estado de México. Producto de la undécima gestación, a término, sin complicaciones, hijo de padres sanos no consanguíneos. La historia familiar no demostró antecedentes de enfermedades genéticas, malformaciones congénitas o alteraciones del desarrollo sexual. Al nacimiento se observaron genitales ambiguos, por lo que es referido al Servicio de Genética para su estudio. A la exploración física se confirmó ambigüedad genital caracterizada por escroto bifido, pene de 3.5 cm de longitud con hipospadias peno-escrotal (*Figura 1*). En la región inguinal se palparon ambas gónadas de aproximadamente 3 cm³, móviles, de forma ovoide y de consistencia normal; el resto de la exploración física no evidenció otras alteraciones. Un ultrasonido de la región inguino-escrotal confirmó la presencia de ambos testículos en los canales inguinales y con características ecogénicas normales; mientras que la cistografía reveló uretra de características masculinas normales.

Se realizó análisis citogenético con técnica de bandas GTG a partir de linfocitos de sangre periférica en el que se demostró un complemento cromosómico masculino 46,XY sin alteraciones numéricas ni estructurales aparentes. El perfil hormonal basal reveló concentraciones no detectables de testosterona; sin embargo, 48 horas después de una prueba de reserva testicular con 5,000 UI intramusculares de gonadotropina coriónica se detectó una respuesta testicular normal: 3.79 ng/mL de testosterona (valor de referencia 3-10 ng/mL) y 0.236 ng/mL de dehidrotestosterona (valor de referencia 0.25-0.75 ng/mL) con un índice testosterona/dehidrotestosterona de 16 (valor de referencia 12). En conjunto, los resultados indicaron un diagnóstico de pseudohermafroditismo masculino, probablemente secundario a insensibilidad parcial a la acción de los andrógenos.

Métodos

Se extrajo ADN genómico a partir de linfocitos de sangre periférica (2 mL), utilizando una técnica convencional. El ADN obtenido se utilizó como templado para amplificar los 8 exones que conforman el gen del receptor de andrógenos mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y utilizando oligonucleótidos específicos para cada uno de los exones, como fue descrito previamente.^{9,11} La reacción de PCR se realizó en volúmenes de 25 µL que contenían: 500 ng de ADN del paciente, 10 mM Tris-HCl, 1.5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 1.25 µM de cada oligonucleótido y 2.5 µL de ADN Taq polimerasa.



Figura 1. Genitales externos del paciente. Se observa pene pequeño, hipospadias peno-escrotal y escroto bifido.

sa, 4% DMSO y 100 μ M de cada dNTP. Esta mezcla fue sometida a una desnaturalización inicial a 94° C por dos minutos, después a 25 ciclos de desnaturalización a 94° C por 45 segundos, alineamiento entre 56° C y 65° C (dependiendo del exón) por 45 segundos y extensión a 72° C por tres minutos. Para identificar posibles mutaciones en el gen del receptor de andrógenos, se realizó un estudio isotópico de polimorfismo conformacional de cadena sencilla (SSCP, por Single-strand conformational polymorphism): 2 μ L del producto amplificado por PCR fueron marcados con 32 P y diluidos en 30 μ L de buffer de carga (95% de formamida, 20 mM EDTA y 0.05% de azul de bromofenol); las muestras fueron analizadas en un gel de poliacrilamida con un gradiente del 5-8% y comparadas con muestras control. Después de una electroforesis de 200 V durante 16 horas, el gel se secó y fue sometido a autorradiografía durante 4 horas a -70° C.¹² Los productos de PCR que evidenciaron un patrón de corrimiento electroforético anormal fueron purificados y sometidos a secuenciación directa.

RESULTADOS

El análisis del gen del receptor del RA del paciente por medio de SSCP demostró un patrón de migración electroforética anormal en el fragmento correspondiente al exón 3. La secuenciación nucleotídica de este fragmento permitió identificar una mutación puntual (cambio de un solo nucleótido): en el codón 596 se produjo un cambio de guanina hacia adenina (*Figura 2*), lo que resulta en un cambio de aminoácido (alanina a treonina) en la posición 596 de la proteína del RA.

DISCUSIÓN

El síndrome de insensibilidad a la acción de los andrógenos es la causa más frecuente de pseudohermafroditismo masculino. En el paciente descrito en este trabajo, la respuesta normal en términos de testosterona a la prueba de reserva testicular y el índice testosterona/dehidrotestosterona normal permitió descartar defectos en la biosíntesis de testosterona y deficiencia de la enzima 5-alfa-reductasa, respectivamente.¹³ El análisis genético del receptor de andrógenos confirmó la sospecha diagnóstica de insensibilidad parcial a la acción de los andrógenos. Hasta la fecha se han descrito aproximadamente 200 mutaciones diferentes en el gen del receptor de andrógenos en sujetos con diversos grados de insensi-

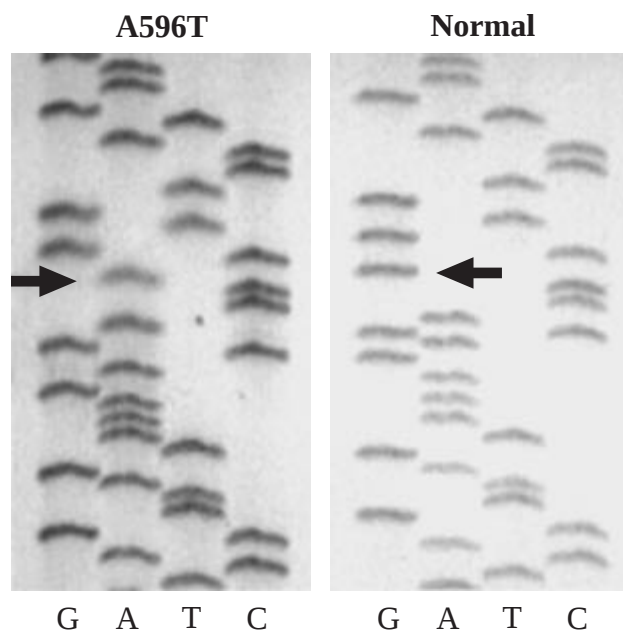


Figura 2. Secuencia parcial de ADN del exón 3 del gen del receptor de andrógenos de un sujeto control (derecha) y del paciente (izquierda). La flecha indica un cambio de G (guanina) a A (adenina) que resulta en una sustitución de treonina en lugar de alanina en el aminoácido 596 de la proteína del receptor (A596T).

bilidad a andrógenos.¹⁴ El gen del RA se localiza en el brazo largo del cromosoma X y la enfermedad tiene un patrón hereditario recesivo ligado al X. En el caso descrito en este trabajo, la ausencia de antecedentes familiares de la enfermedad indica la posibilidad de una mutación de novo en el paciente. Es interesante hacer notar que ciertas mutaciones del receptor han sido identificadas en algunos casos de cáncer prostático, mamario y laríngeo.^{3,10} Sin embargo, no se ha demostrado una correlación genotipo-fenotipo y se han identificado al menos 25 casos en que mutaciones idénticas en el RA se asocian a diferentes grados de insensibilidad androgénica.¹⁴ Los mecanismos implicados en esta variabilidad no se conocen, aunque se ha postulado la participación de variaciones de secuencias de ADN intragénicas, genes modificadores en otros loci y efectos epistáticos.¹⁵ La mutación identificada en nuestro paciente afecta el dominio de unión a ADN de la proteína del RA (codificado por los exones 2 y 3 del gen), alterando específicamente el segundo dedo de zinc de este dominio. Como resultado de esta mutación, la actividad de factor de transcripción está seriamente comprometida y no se producen los productos proteicos necesarios para una virilización adecuada. La muta-

ción A596T identificada en nuestro paciente ya ha sido descrita en al menos tres casos de sujetos que también presentaban un fenotipo compatible con insensibilidad parcial a la acción de los andrógenos.¹⁶⁻¹⁸ Las mutaciones de receptores de andrógenos que alteran aminoácidos localizados en el dominio de unión a ADN de la proteína se asocian a un amplio fenotipo que incluye insensibilidad androgénica completa y parcial.^{3,14} En conclusión, este caso ilustra la importancia de realizar estudios hormonales y genéticos en pacientes con ambigüedad genital.

BIBLIOGRAFÍA

1. Griffin JE, McPhaul MJ, Russell DW, Wilson JD. The androgen resistance syndromes; steroid 5 α -reductase 2 deficiency, testicular feminization, and related disorders. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B (eds). *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 8th ed. Vol III. New York: McGraw-Hill, 2001; 4117-4146.
2. Pinsky L. Androgen resistance due to mutation of the androgen receptor. *Clin Invest Med* 1992; 15: 456-473.
3. Hiort O. The clinical and molecular spectrum of androgen insensitivity syndromes. *Am J Med Genet* 1996; 63: 218-222.
4. Quigley CA, De Bellis A, Marschke K, El-Awadi MK, Wilson EM et al. Androgen Receptor defects: Historical, clinical, and molecular perspectives. *Endocr Rev* 1995; 16: 271-321.
5. Sinnecker GH, Hiort O, Nitsche EM, Holterhus P-M, Kruse K. Functional assesment and clinical classification of androgen sensitivity in patients with mutations of the androgen receptor gene. *Eur J Pediatr* 1997; 156: 7-14.
6. Grino PB, Griffin JE, Cushard WG, Wilson JD. A mutation of the androgen receptor associated with partial androgen resistance, familial gynecomastia, and fertility. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 754-761.
7. Tsukada T. An androgen receptor mutation causing androgen resistance in undervirilized male syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79:1202-1207.
8. Ghadessy FJ. Oligospermic infertility associated with an androgen receptor mutation that disrupts interdomain and coactivator (TIF2) interactions. *J Clin Invest* 1999; 103: 1517-1525.
9. Zenteno JC, Chavez B, Vilchis F, Kofman-Alfaro S. Phenotypic heterogeneity associated with identical mutations in residue 870 of the androgen receptor. *Horm Res* 2002; 57: 90-93.
10. Gottlieb B, Beitel LK, Lumbroso R, Pinsky L, Trifiro M. Update of the androgen receptor gene mutations database. *Human Mutat* 1999; 14: 103-114.
11. Chavez B, Vilchis F, Zenteno JC, Larrea F, Kofman-Alfaro S. Novel molecular defects in the androgen receptor gene of Mexican patients with androgen insensitivity. *Clin Genet* 2001; 59: 185-188.
12. Orita M. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. *Genomics* 1989; 5: 874-879.
13. Hughes IA, Williams DM, Batch JA, Patterson MN. Male pseudohermaphroditism: Clinical management, diagnosis and treatment. *Horm Res* 1992; (suppl 2): 77-81.
14. Gottlieb B, Beitel LK, Trifiro MA. Variable expressivity and mutation databases: The androgen receptor gene mutations database. *Hum Mutat* 2001; 17: 382-388.
15. Wolf U. Identical mutations and phenotypic variation. *Hum Genet* 1997; 100: 305-321.
16. Gast A, Neuschmid-Kaspar F, Flocker H, Cato AC. A single amino acid exchange abolishes dimerization of the androgen receptor and causes Reifenstein syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 1995; 111: 93-98.
17. Holterhus PM, Wiebel J, Sinnecker GH, Bruggenwirth HT, Sippell WG et al. Clinical and molecular spectrum of somatic mosaicism in androgen insensitivity syndrome. *Pediatr Res* 1999; 46: 684-690.
18. Giwercman L, Nikoshkov A, Lindsten K, Bystrom B, Pousette A et al. Response to treatment in patients with partial androgen insensitivity due to mutations in the DNA-binding domain of the androgen receptor. *Horm Res* 2000; 53: 83-88.

Dirección para correspondencia:

Dr. Juan Carlos Zenteno Ruiz
Hospital General de México
Servicio de Genética
Dr. Balmis 148
Col. Doctores
06726, México, D.F.
E-mail: cayguash@yahoo.com