

Deleción de timina en posición 2298 en el exón 5 del receptor androgénico como responsable de insensibilidad completa a los andrógenos

L. Soriano Guillén^a, M.^aT. Muñoz Calvo^a, J. Martínez Pérez^a, J. Pozo Román^a, M.^aA. Martín Sobrino^a, I. González Medeiro^b y J. Argente Oliver^a

Secciones de ^aEndocrinología y ^bAnatomía Patológica. Departamento de Pediatría. Hospital Universitario Infantil del Niño Jesús. Universidad Autónoma de Madrid.

(An Esp Pediatr 2002; 56: 347-352)

Antecedentes

El síndrome de insensibilidad a los andrógenos es un trastorno de la diferenciación sexual masculina de herencia ligada al cromosoma X, causada por mutaciones en el gen del receptor androgénico, con variabilidad en el fenotipo.

Objetivo

Estudiar el gen del receptor androgénico de dos pacientes primas hermanas afectadas de insensibilidad completa a los andrógenos.

Pacientes y métodos

Se presentan 2 pacientes que consultan por amenorrea primaria. El fenotipo y los genitales externos eran femeninos. La realización de ecografía pélvica demostró ausencia de útero y de genitales internos femeninos. El cariotipo de ambas pacientes fue 46 XY, por lo que se sometieron a gonadectomía bilateral. El estudio anatomopatológico confirmó que las gónadas eran testículos.

Con la sospecha de insensibilidad a los andrógenos se realizó el estudio molecular del gen del receptor androgénico.

Resultados

Ambas pacientes eran portadoras de una mutación consistente en una deleción de una timina en posición 2298 en el exón 5 del gen del receptor androgénico (codón CCT para la prolina 766). Esta mutación es la responsable del fenotipo de estas pacientes.

Conclusiones

El diagnóstico de confirmación del síndrome insensibilidad a los andrógenos radica en la detección de mutaciones en el gen del receptor androgénico, aunque existe relación escasa entre genotipo y fenotipo. Además, debemos

realizar en niñas familiares de primer grado cariotipo, y estudio del receptor androgénico para la detección de portadoras de mutaciones que no presentan insensibilidad periférica a los andrógenos.

Palabras clave:

Síndrome de insensibilidad a los andrógenos. Gen del receptor androgénico.

DELETION OF THYMINE AT POSITION 2298 IN EXON 5 OF THE ANDROGENIC RECEPTOR GENE CAUSING COMPLETE ANDROGEN INSENSITIVITY SYNDROME

Background

Androgen insensitivity syndrome is an X-linked disorder of male sexual differentiation caused by mutations in the androgen receptor gene and resulting in a wide range of phenotypes.

Objective

To study the androgen receptor gene in two cousins with androgen insensitivity syndrome.

Patients and methods

We present two patients who attended our clinic for primary amenorrhea. The phenotype and external genitalia were female. Pelvic ultrasonography showed the absence of uterus and female internal genitalia. In both patients the karyotype was 46 XY and consequently both patients underwent bilateral gonadectomy. Histological examination confirmed that the gonads were testes. Molecular study of the androgen receptor gene was performed to confirm androgen insensitivity syndrome.

Correspondencia: Dra. M.^aT. Muñoz Calvo.
Sección de Endocrinología. Hospital Universitario Infantil del Niño Jesús.
Avda. Menéndez Pelayo, 65. 28009 Madrid.

Recibido en noviembre de 2001.

Aceptado para su publicación en diciembre de 2001.

Results

Both patients showed a thymine deletion in exon 5 at nucleotide 2298 (codon CCT for proline 766) of the androgen receptor gene, causing their phenotype.

Conclusions

To confirm androgen insensitivity syndrome, the androgen receptor gene should be analyzed for mutations, although the relationship between genotype and phenotype is weak. To detect carriers of the mutation, karyotyping and study of the androgen receptor gene should be performed in girls who are first relatives of the probands.

Key words:

Androgen insensitivity syndrome. Androgen receptor gene.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de resistencia o insensibilidad periférica a los andrógenos (SIPA), también conocido como síndrome de feminización testicular o síndrome de Morris, es la causa más frecuente de pseudohermafroditismo masculino^{1,2}. De herencia ligada al cromosoma X, con una incidencia de 1/20.000-60.000 nacidos varones (cariotipo 46 XY), resulta de una falta de respuesta a los andrógenos por anomalías en el gen que codifica su receptor. Estas anomalías condicionan una resistencia total o parcial a la acción de los andrógenos, traducándose en un amplio espectro clínico de pacientes 46 XY que puede oscilar desde la presentación de un fenotipo completamente femenino, en apariencia normal, en las formas de resistencia completa, a un varón con ginecomastia o infertilidad, en las formas parciales más leves³⁻⁶.

Desde la clonación del receptor androgénico (X_{q11-12})^{7,8}, se han descrito más de 150 mutaciones diferentes⁹, siendo escasa la relación genotipo-fenotipo^{3,4}.

Dada la infrecuencia de este síndrome, su importante repercusión psicosocial y los recientes avances moleculares referentes al receptor androgénico, se analizan 2 pacientes, primas hermanas por rama materna, con un cuadro clínico de resistencia completa a los andrógenos secundaria a una mutación en el receptor de los mismos.

PACIENTES Y MÉTODOS

Paciente 1

Adolescente de 17 años de edad, remitida a nuestra consulta por presentar amenorrea primaria. El inicio del botón mamario se produjo a los 11 años, con desarrollo mamario posterior normal, pubarquia a los 13 años y ausencia de axilarquia.

Entre los antecedentes familiares, el único dato de interés era la existencia de una prima hermana, por rama materna, diagnosticada a los 17 años de síndrome de resistencia completa a los andrógenos.

En los antecedentes personales, destacaba una hernia inguinal derecha intervenida a los 7 meses de vida, de la que no se disponía de información anatomopatológica.

La exploración, al igual que la talla (157 cm, P₁₀₋₂₅), el peso (51,8 kg, P₂₅) y la presión arterial (113/75 mmHg) fueron normales. El fenotipo y los genitales externos eran femeninos, con un desarrollo mamario en estadio V de Tanner, existiendo mínima pubarquia (P₂) y ausencia de vello axilar.

El cariotipo fue 46 XY. El estudio hormonal mostró niveles séricos basales de estradiol de 39 pg/ml (valores normales [VN], 10-440), de testosterona total de 9,6 pg/ml (VN en mujeres: 0,15-0,9; y en varones: 5,6-6,3) y de testosterona libre de 30,9 pg/ml (VN en mujeres: 0,7-3,2; y en varones: 22,5-26). La respuesta de gonadotropinas a la estimulación con GnRH mostró niveles de FSH basal de 3,5 mU/ml y pico de 4 mU/ml; LH basal: 39 mU/ml y pico de 65 mU/ml.

En la ecografía abdominal no se pudo visualizar útero y, en la zona teórica correspondiente a ovarios, se apreciaron dos imágenes fusiformes de 3,9 × 4,4 cm en el lado derecho y de 2,5 × 3 cm en el lado izquierdo.

Con la sospecha clínica de SIPA se realizó laparotomía exploratoria, constatándose la ausencia de útero y de genitales internos femeninos, procediéndose a la extirpación de ambas gónadas. El estudio anatomopatológico confirmó que se trataba de testículos en los que existía una hipoplasia tubular marcada, con ausencia de espermatogonias e hiperplasia adenomatosa de células de Leydig (fig. 1). Tras la intervención quirúrgica se instauró tratamiento sustitutivo con estrógenos conjugados en dosis de 0,6 mg/día vía oral.

El estudio de densitometría ósea de columna lumbar reveló una densidad mineral ósea en L1-L4 de 0,925 g/cm² (Z: -0,82).

Paciente 2

Adolescente de 17 años y 5 meses de edad, prima hermana por rama materna de la paciente anterior, remitida a nuestra consulta desde otro centro hospitalario con el diagnóstico clínico de SIPA. Consultó por amenorrea primaria a los 16 años, habiendo iniciado el desarrollo mamario a los 11 años y el vello pubiano alrededor de los 14 años, sin haber desarrollado vello axilar.

No existían antecedentes familiares de interés salvo los ya expuestos y, al igual que su prima había sido intervenida de hernia inguinal bilateral a los 13 meses de vida. Del mismo modo, no se disponía de información anatomopatológica.

La exploración también había sido normal: talla (169,4 cm, P₉₀₋₉₇), peso (61 kg, P₇₅₋₉₀) y presión arterial (115/60 mmHg). El fenotipo y los genitales externos eran femeninos, con un desarrollo mamario en estadio V de Tanner, pubarquia escasa (P₂) y ausencia de axilarquia.

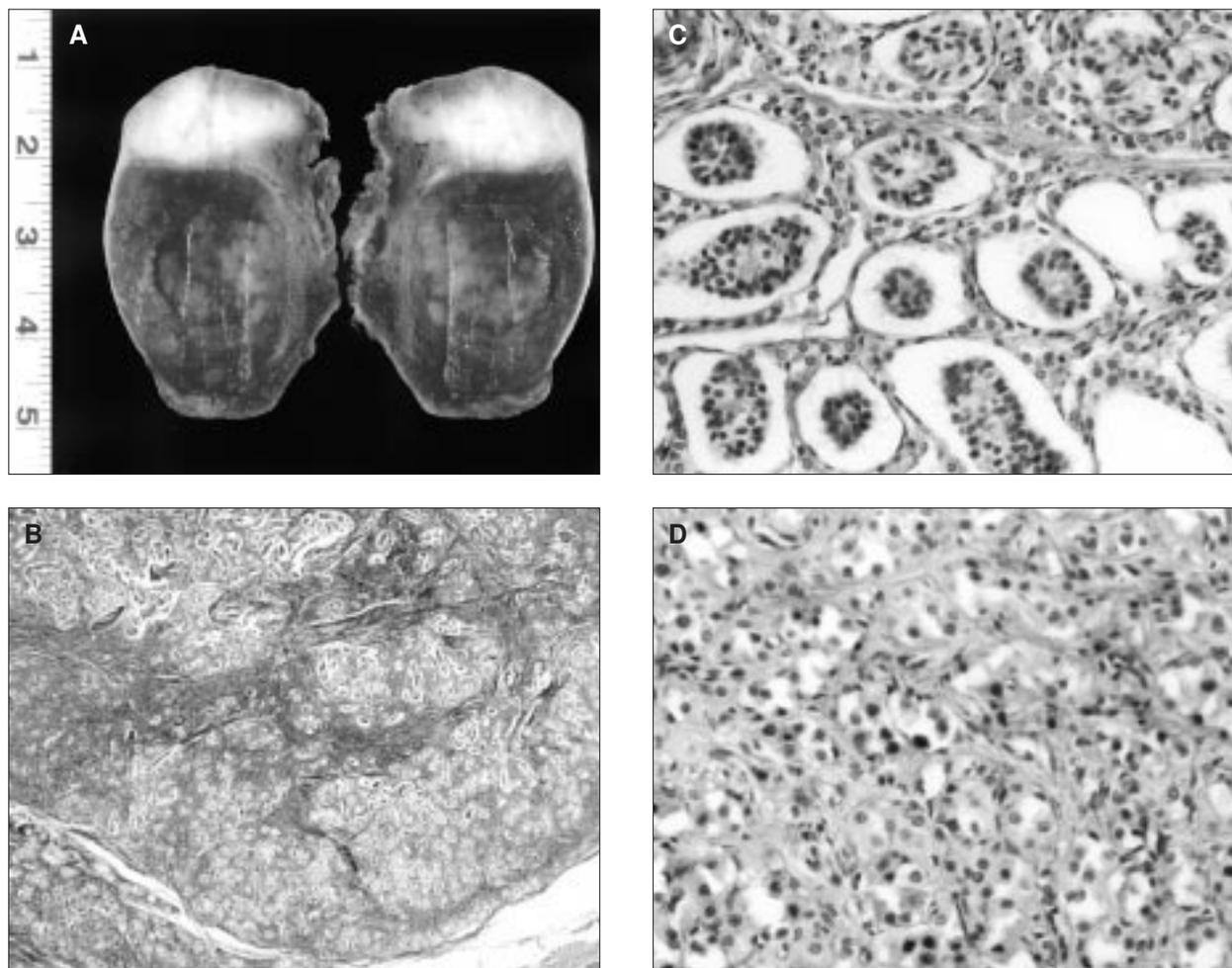


Figura 1. *A) Gónada testicular con albugínea. B) Arquitectura parenquimatosa nodular. C) Hipoplasia tubular marcada con ausencia de espermatozonias. D) Imagen adenomatosa e hiperplasia de células de Leydig.*

El cariotipo era 46 XY. En la ecografía abdominal no se visualizaba útero y, próximo a la entrada de los anillos inguinales, se observaban dos estructuras ovoides, de $4 \times 3,9$ cm en el lado derecho y de $3 \times 2,7$ cm en el lado izquierdo, que parecían corresponder a gónadas. No aportaba estudio hormonal.

Con el diagnóstico de SIPA se había realizado laparotomía y extirpación de ambas gónadas. El estudio anatómopatológico demostró que se trataba de testículos con túbulos con predominio de células de Sertoli, así como con espermatozonias de tipo A, sin espermatogénesis, y con hiperplasia de células de Leydig. Tras la intervención quirúrgica se había instaurado también tratamiento sustitutivo con estrógenos conjugados en dosis de $0,6$ mg/día vía oral.

Al igual que en el paciente 1, se efectuó estudio de densitometría ósea de columna lumbar presentado densidad mineral ósea en L1-L4 de $0,942$ g/cm² (Z: $-0,66$).

Estudio molecular

Tras amplificación del ADN de ambas pacientes mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR), se efec-

tuó estudio mediante SSCP (*single strand conformation polymorphism*). La secuenciación del receptor androgénico¹⁰ permitió la identificación de una mutación consistente en una delección de una timina en posición 2298 en el exón 5 (codón CCT para la prolina). Dicha mutación, presente en ambas pacientes, genera una desviación en el código de lectura desde la posición 767 del receptor androgénico, así como un codón de finalización prematuro en posición 787 (fig. 2). Esta anomalía estructural conlleva repercusión funcional en el receptor de los andrógenos, siendo responsable del fenotipo de estas pacientes.

DISCUSIÓN

Desde que Morris describiera una serie de 82 pacientes con síndrome de feminización testicular¹¹, muchos son los avances endocrinológicos y moleculares que se han producido.

El gen del receptor androgénico se ha localizado, clonado y caracterizado (Xq11-12)^{7,8}. La expresión de este gen produce una proteína de 910-919 aminoácidos, perteneciente a la superfamilia de los factores de transcrip-

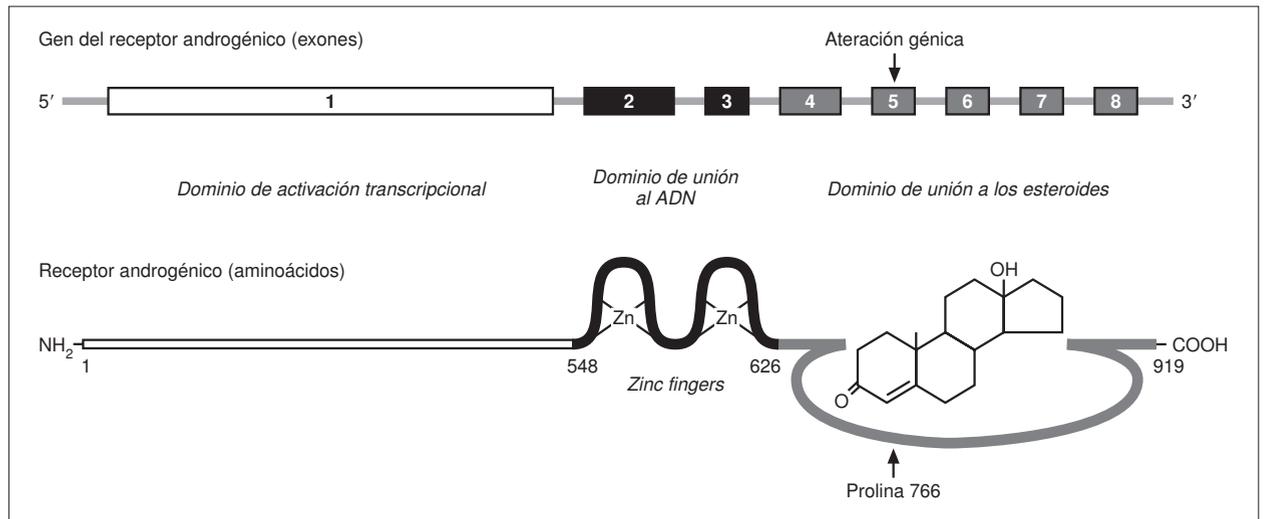


Figura 2. Representación esquemática del receptor androgénico humano. Nótese la mutación en el exón 5 presente en ambas pacientes.

ción nuclear. Consta de tres dominios funcionales (fig. 2): *a)* carboxiterminal (responsable de la unión a los andrógenos, entre los aminoácidos 627-919); *b)* central de unión al ADN (entre los aminoácidos 548-626), y *c)* aminoterminales (entre los aminoácidos 1-537, responsable de activar la transcripción). El exón 1 del gen del receptor androgénico codifica el dominio aminoterminales, los exones 2 y 3 el dominio de unión al ADN, y los exones 4-8 el dominio de unión a los esteroides^{2,12-14}.

Cuando la testosterona o la dihidrotestosterona se unen al receptor, este complejo se traslada al núcleo, donde se produce la dimerización con otro receptor androgénico, uniéndose al ADN en unas secuencias específicas de unión a andrógenos, iniciándose así el proceso de transcripción^{2,14}. En este proceso de transcripción están implicadas otras proteínas coactivadoras como: SRC-1, ARA 70, TIF1 y TIF2^{2,14,15}.

La mayoría de las mutaciones identificadas en el gen del receptor androgénico que condicionan un SIPA se localizan en el dominio de unión a los esteroides. El tipo de mutación más frecuente es la sustitución de aminoácidos, siendo infrecuente las mutaciones estructurales y las deleciones². Esta última situación es el caso de nuestras 2 pacientes, que presentaban una anomalía descrita en la bibliografía únicamente en 2 pacientes como responsable de una insensibilidad completa a los andrógenos en el exón 5, causante de una desviación en el código de lectura y de la aparición en el ARNm de un codón de terminación prematura de la traducción a proteína³. La resultante es una proteína truncada incapaz de unirse adecuadamente a los andrógenos y, por lo tanto, de inducir la expresión de los genes dependientes de andrógenos.

La insensibilidad a los andrógenos (testosterona y dihidrotestosterona), necesarios para el desarrollo normal de los genitales externos e internos masculinos, es la respon-

sable de que los genitales externos se desarrollen en sentido femenino y de que las estructuras derivadas de los conductos de Wolff se encuentren ausentes, hipoplásicas o rudimentarias; mientras que la secreción intrauterina normal de la hormona antimülleriana por las células de Sertoli, es la responsable de la ausencia de útero, trompas y tercio superior de la vagina, que en estas pacientes es más corta de lo normal y termina en un fondo de saco ciego¹⁶.

Las manifestaciones clínicas de las 2 pacientes presentadas son características de una forma completa de SIPA, incluido el hallazgo de antecedentes familiares. Durante el período prepuberal el diagnóstico sólo suele realizarse en el caso de que se diagnostique a un familiar directo o se sospeche la alteración por el hallazgo de la ausencia de útero en una ecografía abdominopélvica realizada por otro motivo. El antecedente de hernia inguinal, presente en las 2 pacientes es frecuente, y es un hallazgo que puede hacer sospechar el diagnóstico. Se estima que la incidencia de SIPA en niñas intervenidas de herniorrafia oscila entre el 1 y el 2%. Por ello, se sugiere la conveniencia de realizar un cariotipo a toda niña intervenida de hernia inguinal^{2,12,16,17}. Después de la época prepuberal, el diagnóstico se realiza habitualmente tras consultar por amenorrea primaria. Son niñas que inician el desarrollo mamario más tarde de lo habitual, presentan un escaso vello pubiano y ausencia de vello axilar. La exploración ginecológica evidencia un fondo de saco vaginal^{2,16}.

La importancia de los esteroides sexuales en la adquisición de la masa ósea, especialmente durante la pubertad y adolescencia, y en su mantenimiento a lo largo de toda la vida es un hecho establecido. En las pacientes con SIPA, dos factores pueden contribuir al deterioro de la masa ósea. En primer lugar, la propia insensibilidad a los andrógenos, ya que además de que existen receptores androgénicos en los osteoblastos que estimulan la neo-

formación ósea, los andrógenos tienen efectos anabolizantes que estimulan el desarrollo muscular, fundamental para la actividad física. En segundo lugar, la repercusión que sobre la masa ósea puede suponer una gonadectomía en edades precoces de la vida, incluso cuando se instaura una adecuada terapia hormonal. Aunque los estudios a este respecto son escasos, nuestras pacientes, a pesar de recibir terapia hormonal sustitutiva después de gonadectomía en la época puberal, presentaban ligera osteopenia en la columna lumbar¹⁸.

En lo que a la degeneración neoplásica se refiere, estudios retrospectivos cifran el riesgo global de neoplasia testicular entre el 6 y el 9%^{19,20}. En general, son tumores de bajo grado de malignidad, que aparecen tras la pubertad; si bien se han descrito dos degeneraciones precoces: carcinoma *in situ* a los 3 meses de vida²¹ y seminoma a los 14 años²². Por ello, se recomienda en el caso de no realizar la gonadectomía precozmente, monitorizar periódicamente el estado de los testes intraabdominales mediante ecografía o resonancia magnética.

Los hallazgos anatomopatológicos más característicos que se observan en las gónadas de estas pacientes son: hiperplasia de las células de Leydig y ausencia de espermatoцитos o células germinales en estadios avanzados de maduración¹⁷, como acontecía en nuestras pacientes.

Los pacientes con SIPA completo suelen ser diagnosticados en la época puberal, siendo el tratamiento la gonadectomía bilateral y la administración de terapia estrogénica sustitutiva. El apoyo psicológico que refuerce el sexo femenino, junto al apoyo familiar y de la pareja, es preceptivo^{2,16,23}. Actualmente es objeto de controversia la realización de gonadectomía prepuberal, debido al escaso número de pacientes con neoplasia gonadal antes de la pubertad, y al riesgo de osteoporosis que plantea una gonadectomía precoz^{2,12,17}.

Por último, dado el patrón hereditario (recesivo ligado al X) del SIPA y que sus manifestaciones clínicas pueden pasar desapercibidas durante muchos años, es importante, cuando se establece este diagnóstico, efectuar la búsqueda de otras posibles niñas afectadas, familiares de primer y segundo grado, mediante la realización de un cariotipo. La detección de mujeres portadoras, mediante estudios moleculares del receptor androgénico, es útil para poder realizar una adecuado consejo genético¹⁴.

Agradecimientos

Los autores desear expresar su agradecimiento a los miembros del laboratorio del Profesor Charles Sultan, Montpellier (Francia), por la realización del estudio molecular de ambas pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Brown TR. Androgen receptor dysfunction in human androgen insensitivity. *Trends Endocrinol Metab* 1995; 6: 170-175.

2. Quigley CA, De Bellis A, Marschke KB, El-Awady MK, Wilson EM, French FS. Androgen receptor defects: Historical, clinical and molecular perspectives. *Endocr Rev* 1995; 16: 271-321.
3. Ahmed SF, Chang A, Dovey L, Hawkins JR, Martin H, Rowland J et al. Phenotypic features, androgen receptor binding, and mutational analysis in 278 clinical cases reported as androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 658-665.
4. Boehmer AL, Brinkmann AO, Nijman RM, Verleun-Mooijman M, Ruiten P, Niermeijer MF et al. Phenotypic variation in a family with partial androgen insensitivity syndrome explained by differences in 5 α dihydrotestosterone availability. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1240-1246.
5. Boehmer ALM, Brüggewirth H, Van Assendelft CV, Otten BJ, Verleun-Mooijman MCT, Niermeijer MF et al. Genotype versus phenotype in families with androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4151-4160.
6. Aiman J, Griffin JE, Gazak JM, Wilson JD, MacDonald PC. Androgen insensitivity as a cause of infertility in otherwise normal men. *N Engl J Med* 1979; 300: 223-227.
7. Lubahn DB, Joseph DR, Sullivan PM, Willard HF, French FS, Wilson EM. Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome. *Science* 1988; 240: 327-330.
8. Chang C, Kokontis J, Liao S. Molecular cloning of human and rat complementary DNA encoding androgen receptors. *Science* 1988; 240: 324-326.
9. Gottlieb B, Beizel LK, Lumbroso R, Pinsky L, Trifiro M. Update of the androgen receptor gene mutations database. *Hum Mutat* 1999; 14: 103-114.
10. Batch JA, Williams DM, Davies HR, Brown BD, Evans BA, Hughes IA et al. Androgen receptor gene mutations identified by SSCP in fourteen subjects with androgen insensitivity. *Hum Mol Genet* 1992; 1: 497-503.
11. Morris JM. The syndrome of testicular feminization in male pseudohermaphroditism. *Am J Obstet Gynecol* 1953; 65: 1192-1211.
12. Evans BA, Hughes IA, Bevan CL, Patterson MN, Gregory LW. Phenotypic diversity in siblings with partial androgen insensitivity syndrome. *Arch Dis Child* 1997; 76: 529-531.
13. Jenster G, Van der Korput HA, Van Vroonhoven C, Van de Kwast TH, Trapman J, Brinkman AO. Domains of the androgen receptor involved in steroid binding, transcriptional activation and subcellular localization. *Mol Endocrinol* 1991; 5: 1396-1414.
14. Warne GL, Zajac JD, MacLean H. Androgen insensitivity syndrome in the era of molecular genetics and the internet: A point of view. *J Ped Endocrinol Metab* 1998; 11: 3-9.
15. Adachi MA, Takayanagi R, Tomura A, Imasaki K, Shigeaki K, Goto K et al. Androgen insensitivity syndrome as a possible coactivator disease. *N Engl J Med* 2000; 343: 856-862.
16. Pastor JA, Gracia R, Rodríguez F. Genitales ambiguos. En: Argente J, Carrascosa A, Gracia R, Rodríguez F, eds. *Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia*, 2ª ed. Madrid: Doyma, 2000; 827-842.
17. Viner RM, Teoh Y, Williams DM, Patterson MN, Hughes IA. Androgen insensitivity syndrome: a survey of diagnostic procedures and management in UK. *Arch Dis Child* 1997; 77: 305-309.
18. Marcus R, Leary D, Schneider DL, Shane E, Favus M, Quigley CA. The contribution of testosterone to skeletal development and maintenance: lessons from the androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1032-1037.

19. Rutgers JL, Scully RE. The androgen insensitivity syndrome: a clinicopathological study of 43 cases. *Int J Gynecol Pathol* 1991; 10: 126-144.
20. Verp M, Simpson J. Abnormal sexual differentiation and neoplasia. *Cancer Genet Cytogenet* 1987; 25: 191-218.
21. Müller J, Skakkebaek N. Testicular carcinoma in situ in children with androgen insensitivity syndrome. *Br Med J* 1984; 288: 1419-1420.
22. Hurt W, Bodurtha JN, MacCall JB, Ali MM. Seminoma in pubertal patient with androgen insensitivity syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 530-531.
23. Slijper FME, Frets PG, Boehmer ALM, Drop SLS, Niermeijer MF. Androgen insensitivity syndrome: Emotional reactions of parents and adult patients to the clinical diagnosis of AIS and it's confirmation by androgen receptor gene mutation analysis. *Horm Res* 2000; 53: 9-15.